



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**“Efecto del nado forzado sobre la actividad motora espontánea de la  
rata con lesión perinatal inducida con NMDA”**

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:  
BIOL. ALFONSO RAFAEL ARRAZOLA CORTÉS

**TUTORES PRINCIPALES**

DRA. THALÍA HARMONY BAILLET  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, CAMPUS JURQUILLA

DRA. GINA LORENA QUIRARTE  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, CAMPUS JURQUILLA

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR**

DR. JORGE LARRIVA SAHD  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA, CAMPUS JURQUILLA

DRA. ARACELI ESPINOSA-JEFFREY  
INTELLECTUAL AND DEVELOPMENTAL DISABILITIES RESEARCH CENTER  
SEMEL INSTITUTE UCLA

CAMPUS UNAM JURQUILLA, QUERÉTARO, QRO., MÉXICO OCTUBRE DEL 2016



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.

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Instituto de Neurobiología**

Los miembros del Comité Tutor certificamos que la tesis elaborada por: Alfonso Rafael Arrazola Cortés, cuyo título es: “Efecto del nado forzado sobre la actividad motora espontánea de la rata con lesión perinatal inducida con NMDA” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente

Dr. Hugo Sánchez Castillo

Secretaria

Dra. Thalía Harmony Baillet

Vocal

Dra. Eneida Porras Katz

Suplente

Dra. Araceli Espinosa-Jeffrey

Suplente

Dr. Pavel Ernesto Rueda Orozco

Aprobado por el Comité Académico  
Coordinador del Programa  
Dra Maricela Luna Muñoz

## Resumen

La leukomalacia periventricular en humanos es una lesión cerebral que se origina durante el periodo prenatal y se observa en los recién nacidos prematuros. Las causas pueden ser por eventos en los cuales puede presentarse muerte celular por excitotoxicidad. Las células más susceptibles a esta lesión son del linaje de los oligodendrocitos, que al ser las células formadoras de mielina en el sistema nervioso central, la lesión afecta principalmente la mielina, llegando a producir parálisis cerebral, alteraciones sensoriales y cognitivas. En el humano se ha observado que si se inicia tempranamente un método neurohabilitatorio que consiste fundamentalmente de un entrenamiento intensivo en una serie de ejercicios que desencadenan secuencias de movimientos, es posible disminuir o aun evitar las secuelas. Sin embargo se desconoce cuales son los mecanismos que pudieran explicar esto. Por esta razón en esta tesis se utilizó un modelo animal experimental que reproducen lo observado en el humano. Como objetivo realizo una valoración conductual del efecto del ejercicio intenso mediante el nado forzado del día 7 al 30 posnatal en ratas con lesión excitotóxica del cuerpo calloso el día 5 posnatal. Se comparó la actividad motora espontánea en campo abierto los días 25, 30 y 40 postnatales. Las ratas con lesión y sin ejercicio presentaron mayor actividad motora espontánea los días 25, 30 y 40 postnatales. Las ratas con lesión y nado forzado el día 25 presentaron menor actividad motora que el grupo con lesión y sin ejercicio y los días 30 y 40 presentaron una conducta similar a la de los grupos íntegros y con vehículo tanto con como sin ejercicio. Estos resultados muestran que el modelo experimental utilizado guarda semejanza desde el punto de vista conductual con los humanos, por lo que será posible utilizarlo para explicar los mecanismos involucrados en el efecto de la lesión y la recuperación funcional con el ejercicio estudiando los cambios estructurales y funcionales.

## **Agradecimientos**

A la Dra. Thalía Harmony, por darme un poco de su paciencia, dedicación, tiempo para guiarme y apoyarme en la realización de este trabajo; gracias por su forma tan atenta y cariñosa de ayudarme a mejorar mi trabajo, además de darme su confianza para tener la oportunidad de esforzarme en mi trabajo y estudios para contribuir con un granito de arena a su gran trabajo con los bebés que sufren de lesiones cerebrales.

A la Dra. Gina Quirarte, por abrirme las puertas en su gran familia académica, por darme su confianza y apoyo para seguir adelante esforzándome al máximo y seguir soñando con una carrera científica, por su dedicación y tiempo para guiarme en un área distinta a sus proyectos, además por su atención, cariño personal que me otorgo más allá que un alumno más.

A mi comité tutor:

A la Dra. Araceli Espinosa-Jeffrey, por acompañarme mucho antes de mi maestría, siendo mi mentora desde el 18 de Marzo del 2009, enseñándome este camino de la ciencia, dándome un poco de su gran conocimiento, por enseñarme el valor e importancia de trabajar duro y delicadamente para realizar un buen proyecto sin perder el tiempo, por como siempre me ha dicho “Hay alguien esperando nuestro trabajo”.

Al Dr. Jorge Larriva, por su tiempo para escucharme y su paciencia para corregirme, enseñándome la disciplina necesaria para continuar con este camino, por ser un crítico objetivo y ayudarme a esforzarme para mejorar mi formación y trabajo.

Al Dr. Rogelio Arellano, por su interés y asistir a todos mis seminarios desde el inicio de mi maestría, apoyarme con su conocimiento y su trabajo para poder sacar adelante este proyecto que espero aun no finalice.

Por su apoyo y asesoría académica:

Al Dr. Roberto Prado, por ponerse la cachucha de revisor y con su gran experiencia ayudarme a formar este proyecto, por atenderme en su oficina a pesar de no ser su alumno adscrito y ser más de una manera un mentor en mi formación.

A la Dra. Thalía Fernández, por abrirme la puerta en su grupo y ser un como un alumno en su laboratorio otorgándome un espacio sin el cual no hubiera podido leer artículos, analizar diseños y conceptos, e inclusive concretar este proyecto, además le agradezco por darme la confianza de acercarme y ayudarme en un ámbito personal.

A la Dra. Sofía Díaz, por abrir un espacio para ensayar en varias ocasiones mis presentaciones, por permitirme en más de una ocasión utilizar su microscopio, por sus consejos académicos y profesionales, además de abrirme las puertas en su familia académica y personal.

A la Dra. Wendy Portillo, por haberme apoyado en mis intentos de comenzar a implementar nuestro modelo animal.

Por su apoyo y asesoría técnica:

A Norma Serafín, por ayudarme con mis materiales, con mis animales, mis imágenes, con mis escritos y aconsejarme en todo el proceso de este trabajo.

A la Dra. Cristina Medina, por ayudarme cuando lo necesite para montar mis pruebas conductuales, además de su ayuda técnica y profesional para el trabajo en el área de histología.

A la M. en C. Azucena Aguilar por ayudarme con su experiencia y consejos para procesar mis tejidos histológicos y por ese gran calidez en su persona.

A la Unidad de Microscopía, por su apoyo para llevar a cabo los procesos histológicos y el uso del microscopio en este proyecto, en especial a Nydia Hernández y a Lourdes Palma por su ayuda, en los procesos técnicos, consejos

profesionales y su cálida compañía en las horas que pase en la unidad de microscopía.

A la Unidad de Análisis Conductual, en especial a la Dra. Deysi Gasca por su apoyo para el uso de las áreas para llevar acabo mi trabajo con los animales, por sus consejos profesionales y su ayuda con los animales experimentales.

Al Bioterio, por facilitarnos el uso de las ratas en este proyecto además del uso de sus áreas de quirófano y albergue para los animales, en especial al Dr. Martín, a la Dra. Alejandra y a Fernando por apoyarme desde el comienzo de la planeación de este proyecto, así como, la atención para la crianza y cuidados de mis ratas neonatas y sus madres.

A la Unidad de Enseñanza, por llevar a cabo su labor y trabajo para ayudarme a concretar mi formación, en especial a la M. en C. Leonor Casanova por el trato tan humano y cálido que nos otorga a pesar de todas sus responsabilidades y obligaciones, por recibirme siempre con una sonrisa ayudándome a solucionar más de un problema o requisito administrativo, y a la secretaria Guadalupe Amador por de igual forma siempre recibirme con una sonrisa y amabilidad, ayudándome a completar el proceso de la maestría con su trabajo nada sencillo.

A la Unidad de Videoconferencia, en especial a la Lic. Lourdes Lara por permitirme el tomar mis clases y materias en la maestría, por su ayuda para llevar acabo semestre tras semestre mis exámenes tutorales y por poder llevar acabo mi examen de grado, sin su ayuda no hubiera sido posible.

A la Unidad de Computo, por su asistencia y ayuda técnica para poder hacer uso de la red universitaria y acceder a un mundo de conocimiento desde el INB.

A la Unidad de Neurodesarrollo, por abrirme las puertas a una gran familia, por mostrarme y otorgarme más de un conocimiento en sus seminarios y por compartir ese deseo de comprometerme con su misión en la sociedad, sin sus áreas no hubiera sido posible el llevar acabo parte importante en el desarrollo de este proyecto, en especial agradezco a Teresa Álvarez por su ayuda y atención para

facilitar mi trabajo con la Dra. Thalía, a la Dra. Josefina Ricardo por su atención y dedicación en enseñarme más de un conocimiento, al Dr. Rogelio Cruz por su interés y participación en es este proyecto.

A la Biblioteca del campus Juriquilla, por permitirme el uso de sus instalaciones, facilitarme la uso de la información de calidad internacional y permitirme el acceso a las mejores revistas científicas.

Al personal de Intendencia porque si su trabajo no pudiéramos llevar acabo nuestro trabajo en el laboratorio ni podríamos tener uso de las áreas del INB y al personal de Seguridad, por su constante labor que nos permite sentirnos en un ambiente agradable y seguro dentro del campus.

A mi esposa Martha, por ser mi primer apoyo frente a toda problemática, por ser mi compañera y colega para discutir cada paso en el proyecto, cada renglón escrito, cada artículo estudiado, por ser mi motivo de seguir luchando y prepararme más para no quedarme estancado, por ser mi admiración de las cualidades que no poseo y ayudarme con lo que más sabe, en ocasiones con lo que no conoce tanto, por abrazarme después de una derrota o después de una victoria, por criticar mis errores y mis aciertos para darme cuenta que no están completos. Por ser esa amistad que cuando se van los demás ella ahí está, por escucharme ensayar un millar de veces y ayudarme a mejorar. También por ayudarme a olvidar el trabajo por un momento y retomarlo con más pasión. Por estar ahí cuando llegan las perdidas y comprenderme en mis peores momentos, gracias ayudarme a seguir levantándome para seguir trabajando y soñando.

A mi madre Laura Cortés por ser mi apollo tantos años, por discusiones y debates que me formo otra manera de pensar, por su amor, comprensión y apoyo para perseguir un sueño, por darme las mejores herramientas con los mejores valores. Por alentarme y sacarme adelante desde pequeño y su esfuerzo de llevarme a ese lugar que ahora me hace soñar para continuar.

A mi padre Jorge Arrazola†, por sus bases y enseñanzas que me continua otorgando, por plantar una semilla de superación, por esas palabras que me evocan



cuando más las necesito para enfrentar mis mas grandes miedos y mis mas grandes retos.

Al Dr. Alfredo Feria y a la Dra. Yaneth Gutiérrez, por que sin su enseñanza y apoyo no hubiera llegado hasta aquí, por que sus métodos y valores que trato de transmitirlos para que lleguen más allá de mi persona.

A mi amiga Erika Orta, por estar conmigo ya 8 años, y darme esos consejos y otorgarme ese cariño que después de tanto tiempo se acerca a un cariño fraternal.

A mis amigos próximos doctores en ciencia Paola y Alexander que me han ayudado y conocen todo mi esfuerzo y trabajo, por tantas veces que me han escuchado, ayudándome con sus observaciones y críticas para corregir mis errores, por haberme enseñado e instruido a trabajar la conducta con los animales, por ese tiempo de labor y otros de diversión que me han otorgado, gracias por ser esos hermanos mayores académicos.

A mis amigos de la maestría, Min, América, Víctor, Maricarmen, por ser parte del equipo más odiado y pasar los momentos más estresantes y angustiosos con una sonrisa y buen humor, por ser esas personas en las que deposite toda mi confianza para realizar un excelente trabajo en la maestría y por su amistad mas allá de un programa.

A mis compañeros de maestría Karen, Nela, Samuel, Chema, Cesar, Kechu, Jaime, Vicente, Antonio, Giovanna, Edna, Dina, Mayra, Chucho, Melani, por su amistad y compañerismo, por esas horas de estudio, de trabajo en más de un equipo, por las críticas y las enseñanzas.

A mis compañeros del laboratorio de la Dra. Thalita, Susy, Sonia, Catalina, Sergio, Mauricio, Benito, Milen, por incluirme en su equipo a pesar de ser su compañero directo me hicieron sentir en un ambiente de cariño y apoyo.

A mis amigos de reuniones casuales, Zeus, Luis, Laura, Israel, Isaac, Karina, Ernesto, Karlita, John, Alelí, Rafa, Raúl, Carlos, Miriam, Dany, Alan y Lupita por que más de una vez discutimos un buen artículo y otras veces simples banalidades.

A mis amigos Biólogos de la U de G, Juan-Carlos, Licha, Ociel, Miguel, Sergio, Marisol, Diego, Miguel (Malote), Juan-Órnelas, Ramsés, Germán, Prisilla, Ana, Yesica, Diana, Fernanda, Liliana, Michelle, Sofía, que sin ellos no hubiera soñado con lograr esta meta y llegar hasta aquí.

A mis compañeros de laboratorio B-04, Cris Siller, Jazmín, Rogelio, Clío, Marisol, y todos los demás que están y han pasado por el laboratorio.

A los coordinadores de mis materias, Dr. Francisco, Dr. Reyes, Dr. Peña, Dr. Pasaye, Dra. Macotela, Dr. Varela y Dr. Riesgo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgarme la beca 621147 y por sus financiamientos en los proyectos 218556-166772.L, 251634 y 130524.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM IN202414) por su financiamiento.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

A mi fiel amiga perruna Nazky† que no solo en este periodo, me acompañó con tantas frustraciones, madrugadas y desveladas, por estar a mi lado sin importar el día, la hora, la época o la razón, por darme una razón más por trabajar y recibirme siempre con una gran alegría, animándome y motivándome para seguir adelante, por sus abrazos a su manera y su gran amor que demostró. Por que a pesar de su dolor nunca me abandono en casi 9 años y me acompañó a terminar esta maestría y dejo su huellita en mi corazón.

A las ratas del bioterio y demás animales experimentales, que sin su existencia nuestro trabajo y avances no un fueran posibles seguir respondiendo los enigmas que nos permiten vivir y mejorar.

Dedico el siguiente trabajo:

A todos los padres de los bebés que fueron, están y serán atendidos en la Unidad de Neurdesarrollo, por su entrega y sacrificio para sacar adelante a sus hijos, por ese amor tan grande y ese esfuerzo para sacar adelante a sus hijos y lograr darles una vida de calidad, llena de amor.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
Patologías en neonatos prematuros: Lesión en la sustancia blanca .....	1
Desarrollo del sistema nervioso central .....	3
Desarrollo de oligodendrocitos.....	4
Leucomalacia periventricular una patología en el desarrollo de la mielina .....	8
Etiología de la leucomalacia periventricular .....	10
Lesión de los oligodendrocitos en la leucomalacia periventricular .....	13
Receptores de glutamato en el linaje celular de OL.....	15
Excitotoxicidad: Sobre activación de los receptores a glutamato .....	17
ANTECEDENTES .....	19
Modelos animales de lesión en la sustancia blanca: Lipopolisacáridos, hipoxia- isquemia y excitotoxicidad.....	19
Movimientos complejos elementales: tratamiento no invasivo.....	22
Efectos de la actividad motora: Potencialidad del ejercicio como tratamiento en eventos de lesión .....	24
El nado forzado como un ejercicio aeróbico .....	29
Evaluación de la lesión por excitotoxicidad en modelos murinos .....	30
JUSTIFICACIÓN .....	31
HIPÓTESIS .....	32
OBJETIVO GENERAL.....	32
OBJETIVOS PARTICULARES.....	32
MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
Sujetos .....	33
Cirugía estereotáxica .....	33
Lesión por excitotoxicidad, administración de NMDA .....	34
Inducción de actividad motora mediante el nado forzado .....	34
Actividad motora espontánea en campo abierto .....	35
Sacrificio.....	35
Diseño experimental.....	35
Análisis estadístico.....	36
RESULTADOS .....	37
Actividad motora espontánea.....	37
Distancia total recorrida.....	37

P25.....	37
P30.....	41
P40.....	44
Actividad vertical .....	46
P25.....	46
P30.....	48
P40.....	50
DISCUSIÓN.....	53
Mecanismos que pudieran explicar la hiperactividad a partir de una lesión cerebral. .....	53
Mecanismos plásticos que pudieran explicar la disminución de la hiperactividad por el ejercicio. ....	55
CONCLUSIÓN.....	59
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	60

## **INTRODUCCIÓN**

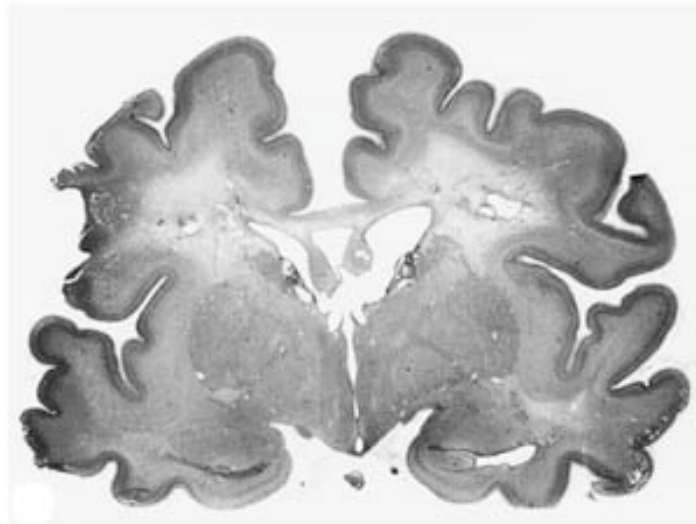
### **Patologías en neonatos prematuros: Lesión en la sustancia blanca**

La organización mundial de la salud (OMS) los clasifica en: neonatos que nacen antes de la semana 37 de gestación y/o con un peso menor a 2,500 gr (Pérez Zamudio, López Terrones, & Rodríguez Barboza, 2013). Al año nacen alrededor de 13 millones de bebés prematuros, la mayoría en países de economía emergente (Deng, 2010; Pérez Zamudio et al., 2013), según el “Fondo Internacional de Emergencia de las Naciones Unidas para la Infancia” (UNICEF, por sus siglas en inglés). En México durante el 2007 se presentaron 167,040 y en el 2013 se presentaron 202,680 nacimientos con bajo peso o neonatos prematuros. Estos neonatos prematuros suelen presentar más de alguna complicación médica. Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en México durante el 2013 se presentaron 3202 casos de nacimientos prematuros con problemas respiratorios e hipoxia, y 611 casos de bebés prematuros que presentaron infecciones perinatales. Gracias a las mejoras en los cuidados intensivos neonatales ha aumentado la expectativa de vida de bebés prematuros y de bajo peso al nacer (Deng, 2010). Sin embargo, los neonatos prematuros que sobreviven son extremadamente vulnerables a lesiones cerebrales. Según Deng (2010), a nivel mundial, de 11, 700,000 neonatos prematuros el 10% presentan parálisis cerebral y un 50% desarrollan un déficit motor y/o cognitivo (Cabañas & Pellicer, 2002; Clowry et al., 2014).

Las lesiones perinatales traen consigo una variedad de disfunciones motoras, perceptuales, trastornos cognitivos y discapacidades menores que afectan áreas conductuales (Hagberg, Peebles, & Mallard, 2002). Mucha de la atención se ha enfocado en la capacidad para el reconocimiento de las lesiones en la sustancia blanca cerebral neonatal. La lesión por excitotoxicidad es una de ellas y se presenta en patologías con pérdida de sustancia blanca y gris en el sistema nervioso central (SNC). En la Unidad de Investigación de Neurodesarrollo del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México se valoran a los bebés prematuros de manera multidisciplinaria, utilizando estudios de

neurofisiología, neuroimagen, neuropsicología y clínica neuropediátrica (Porras-Kattz & Harmony, 2007; Harmony et al., 2016). El principal diagnóstico que destaca es la anomalía de la sustancia blanca, principalmente la reducción de mielinización en el cuerpo calloso y el incremento del tamaño ventricular (Figura 1) que se presenta en el 68% de los bebés prematuros (Back & Rivkees, 2004).

En la actualidad ya se han identificado los factores de riesgo que se presentan durante el proceso embrionario y en el parto que derivan en la lesión de la materia blanca cerebral en los bebés prematuros como: la caída de la presión arterial sistémica neonatal, la hipoxia-isquemia, enfermedades cardíacas o pulmonares, la asfixia respiratoria o asfixia grave al nacer, la bradicardia, el retraso del crecimiento intrauterino, la preclampsia y las infecciones materno-fetales (Back & Rivkees, 2004; Rezaie & Dean, 2002; Webber, van Blitterswijk, & Chandran, 2009). En especial se ha documentado el desencadenamiento de la LPV en aquellos factores de riesgo que presentan anoxia (Banker & Larroche, 1962), lesionando estructuras involucradas en el aprendizaje, la memoria y en la actividad motora.



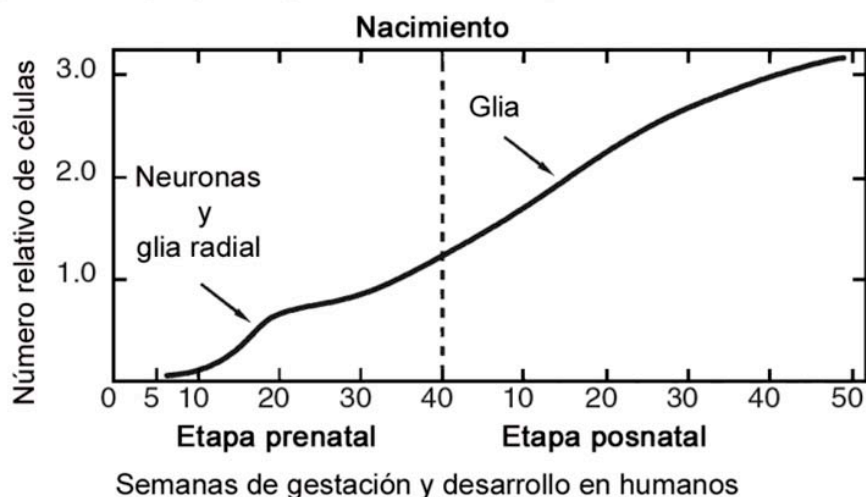
**Figura 1. Corte coronal del cerebro de un bebé prematuro con lesiones focales y difusas.**

Debido a un paro respiratorio de generaron lesiones provocando una leucomalacia periventricular, el tejido cerebral presenta lesiones difusas en los ángulos externos de los ventrículos y lesiones focales con necrosis quística profunda de Volpe (2008b).

## Desarrollo del sistema nervioso central

Las neuronas y las células gliales se derivan de las zonas periventriculares y subventriculares, durante el desarrollo embrionario se distinguen dos fases de diferenciación. La primera fase se produce aproximadamente de la semana 8 a la 16 de gestación, en este periodo se genera la glía radial la cual da apoyo y sostén fundamental para la migración neuronal (Volpe, 2008c). Las formaciones neuronales se producen hasta después de la semana 16 de gestación, la corteza cerebral humana tiene su asignación completa de las neuronas entre las semanas 20 y 24 de gestación. Cabe destacar que la presencia de la microglía en el SNC comienza entre las semanas 16 y 22 de gestación, localizándose una mayor concentración en regiones de sustancia blanca y en el cerebro anterior (Figura 3) (Rowitch & Kriegstein, 2010; Volpe, 2008c).

La segunda fase de diferenciación celular se produce a partir de la semana 20 de gestación y se desarrolla hasta el primer año pos-natal, a este periodo se le atribuye la proliferación de progenitores gliales y de algunas neuronas a partir de la zona subventricular (Baumann & Pham-Dinh, 2001; Volpe, 2008c). Además durante el periodo de las semanas 23 a 32 de gestación la sustancia blanca se caracteriza por encontrarse poco vascularizada (Deng, 2010; Volpe, 2008c).



**Figura 2. Asignación celular del sistema nervioso central.**

El inicio comienza con la asignación de la glía radial y de neuronas entre las semanas 8 y 16 de gestación, completando la asignación de la semana 20 a la 24 de gestación. A partir de la semana 20 se presenta un incremento en la población celular debido a la proliferación y diferenciación de astrocitos y oligodendrocitos, estos últimos continúan su desarrollo durante etapas posnatales. Modificado de Volpe (2008c).



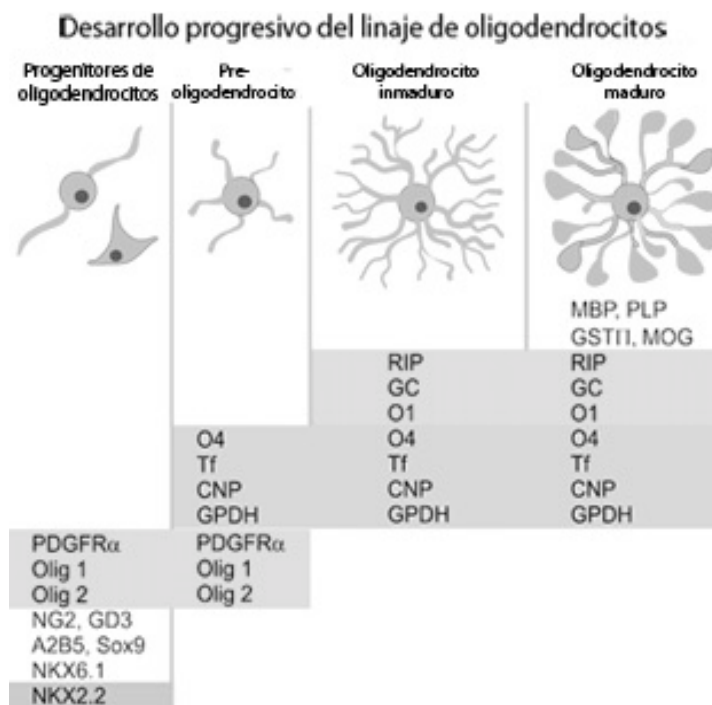
## **Desarrollo de oligodendrocitos**

Los oligodendrocitos (OL's) fueron descritos por primera vez por Pio Río Hortega describió en 1921 y en 1922 (Río-Hortega, 1921; Río-Hortega, 1922). El desarrollo de los OL's es a partir de células progenitoras y pasan por distintos estados fenotípicos que se caracterizan por cambios morfológicos y la expresión de marcadores específicos en los distintos estadios de maduración (Deng, 2010). En los humanos, el proceso de diferenciación de los linajes de OL's comienza en la semana 23 de gestación a partir de las células neuroepiteliales de la zona periventricular (Baumann & Pham-Dinh, 2001). Los OL's son células que tienen como papel la formación de vainas de mielina en los axones del SNC y es fundamental para la agrupación de canales de sodio en los nodo de Ranvier durante la axogénesis, además de participar en el desarrollo del calibre axonal (Baumann & Pham-Dinh, 2001; Espinosa-Jeffrey et al., 2013).

Esta primera etapa es importante, debido a que la primera migración y maduración determinará los sitios de mielinización, el recambio en la madurez no tiene capacidad de formar mielina en axones desnudos y no posee la misma compactación de la vaina de mielina en los axones neuronales, afectando a la transmisión de potenciales de acción (Young et al., 2013). Las etapas de maduración de OL's presentan una morfología progresiva de mayor complejidad (Back & Rivkees, 2004), en la cual se han reportado tres estados de maduración de los OL's que son: 1) Pre-oligodendrocitos (Pre-OL's), se encuentran presentes durante la semana 18 de gestación tanto en la materia blanca como en la corteza del SNC y su morfología no es diferencial 2) oligodendrocitos inmaduros (OL's inmaduros), son identificados por presentar una morfología multipolar (Back et al., 2001), se caracterizan por presentarse durante las semanas 18 a la 27 de gestación, es una importante etapa en la que se presenta un mayor número de Pre-OL (Craig et al., 2003) y 3) La maduración de OL's se da una vez terminada la migración debido a que los OL's maduros no tiene la capacidad para migrar (Baumann & Pham-Dinh, 2001). Los OL's inmaduros se originan a partir la semana 30 de gestación y coinciden con la localización de las vainas de mielina en la sustancia blanca periventricular (Back et al., 2001), es a partir de este periodo y hasta la semana 40 que comienza una ola de diferenciación acompañada de un

aumento de OL's inmaduros y el inicio de la mielinización por los OL's maduros (Craig et al., 2003).

La participación de las neuronas durante la migración de los progenitores de OL's es a partir de moléculas de la matriz extra celular que desempeñan un papel instructivo en la migración y de manera simultánea los progenitores de OL's utilizan metaloproteinasas como la MMP-9 para regular y facilitar la extensión de sus procesos y encontrar su destino celular (Baumann & Pham-Dinh, 2001). También la "panglía", descrita como la interacción de los OL's con los astrocitos mediante las uniones gap entre ambos tipos celulares es importante para el desarrollo eficiente de la mielina (Tress et al., 2012).



**Figura 3. Esquema descriptivo del desarrollo del linaje de oligodendrocitos (OL).**

Los OL sufren cambios morfológicos de manera secuencial a medida de su desarrollo. Una vez comprometidas las células progenitoras adquieren características inherentes de un OL funcional. Se enlistan los marcadores específicos para cada etapa distinta del desarrollo del OL utilizados con mayor frecuencia para identificar las distintas etapas. Modificado de Espinosa-Jeffrey, Wakeman, Kim, Snyder, y de Vellis (2009).

Durante el desarrollo de los OL's se presentan distintos marcadores, se caracterizan por sintetizarse en distintos estadios fenotípicos como en la proliferación de pre-OL's, la migración de OL's inmaduros y la maduración de OL's, en cada una de las etapas fenotípicas se sintetizan proteínas transmembranales específicas, las cuales son implementadas para identificar los distintos estados de maduración y desarrollo (Figura 3) (Baumann & Pham-Dinh, 2001; Espinosa-Jeffrey et al., 2009). Los lóbulos cerebrales comienzan a desarrollar mielina en áreas motoras, áreas sensoriales y el cuerpo calloso (CC), posteriormente se desarrollan extendiéndose alrededor de las regiones exteriores (Downes & Mullins, 2014; Wood, Beyer, & Cappon, 2003).

**Tabla 1. Desarrollo de la mielina en las diferentes estructuras cerebrales de la rata.**

Se muestra los periodos de desarrollo de la mielina de la rata en los días posnatales en las distintas estructuras cerebrales. Símbolo (-) representa ausencia de mielina, símbolo (+) representa proceso de mielinización y el símbolo (++++) representa mielinización de la estructura cerebral. Modificada de Downes y Mullins (2014).

Días de desarrollo posnatal de la rata	4/5	7/8	10	14/15	17	24	34	37	44
Núcleo reticular gigantocelular	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Núcleo olivar	-	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Tracto olivo-cerebeloso	-	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Núcleo trigeminal	-	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Cuerpo trapezoide	-	++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Núcleo pontino	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Caudado-putamen	-	-	-	+	+	++++	++++	++++	++++
Globo pálido	-	-	-	+	+	++++	++++	++++	++++
Cápsula interna	-	-	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
Cápsula externa	-	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++
Estría terminal	-	+	+	++	+++	++++	++++	++++	++++
Tracto óptico	-	+	+	++	++	++++	++++	++++	++++
Cuerpo calloso	-	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++
Núcleos talámicos	-	+	++	++	+++	+++	++++	++++	++++
Comisura anterior	-	-	-	++	++	+++	++++	++++	++++
Pallidum ventral	-	-	-	+	+	+++	+++	++++	++++
Tracto olfatorio lateral	-	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++
Núcleo habenuar	-	-	-	++	++	+++	++++	++++	++++
Fórnix	-	-	+	++	+++	+++	+++	++++	++++
Tracto mamilario	-	-	-	+	+	++	+++	++++	++++

En los murinos (Tabla 1) se ha descrito la presencia de los pre-OL's en gran densidad durante el día 2 posnatal, la maduración y la diferenciación ocurren hasta el día 7 posnatal en el cual hay un incremento en la población de OL inmaduros en la capsula externa, el CC y en el mesencéfalo (Downes & Mullins, 2014), además en el día 6 posnatal (P6) el *genu* del CC (región anterior) presenta un incremento en la

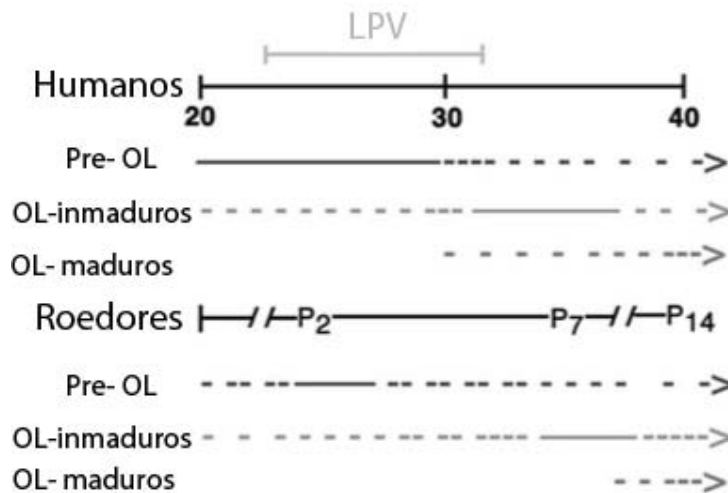
densidad de astrocitos, seguida por la región del *splenium* (posterior del CC) y con menor densidad en la región media (centro del CC) (Reyes-Haro, Mora-Loyola, Soria-Ortiz, & García-Colunga, 2013).

En el día 14 posnatal se presenta una expresión de mayor densidad de marcadores dirigidos a la mielina de OL's maduros con un aumento en la densidad de la mielina en el CC, en el tracto olfatorio lateral, los núcleos basales y los núcleos talámicos (Tabla 1) (Downes & Mullins, 2014), similar al desarrollo presente en las zonas periventriculares de humanos neonatos a término (Back & Rivkees, 2004; Craig et al., 2003), además en la rata entre los días 10 y 25 posnatales se presenta una lateralización de la densidad de la mielina con mayor concentración en el *splenium* (Gravel, Sasseville, & Hawkes, 1990).

En el CC desde el día 6 al día 30 posnatal, la densidad de astrocitos incrementa 9.21% en el *splenium*, 6.8% en el *genu* y un 4.6% en la región media (Reyes-Haro et al., 2013). En el día 37 posnatal el fornix por su paso por el hipotálamo y el tracto mamilotalámico terminan de desarrollar OL's maduros y formar vainas de mielina en las fibras nerviosas desarrollando por completo el sistema límbico (Downes & Mullins, 2014). El periodo de alta susceptibilidad para las lesiones en sustancia blanca presente en murinos comienza en el día 2 hasta el día 7 posnatal, semejante a la ventana de riesgo en humanos anteriormente descrita (Figura 4) (Craig et al., 2003).

El desarrollo de los humanos y los murinos difiere en los siguientes rasgos: 1) En los humanos la mielinización parietal está acompañada de una alta persistencia en la extensión de la población de los Pre-OL's comprendiendo la etapa importante hasta el nacimiento (Back & Rivkees, 2004; Craig et al., 2003), en los murinos la mayoría de los pre-OL's se diferencian en OL's inmaduros inmediatamente antes de la mielinogénesis. 2) En los humanos los numerosos OL's inmaduros están presentes antes del nacimiento y en los murinos el aumento ocurre hasta la primera semana posnatal (Back et al., 2001). Debido a las similitudes ya se ha descrito la correlación que se presenta en el desarrollo de los OL's en la etapa del día 5 posnatal en murinos y la ventana vulnerable de la semana 23 de gestación que se

presenta en bebés humanos diagnosticados con LPV (Back & Rivkees, 2004; Craig et al., 2003).



**Figura 4. Comparación del desarrollo de OL's entre humanos y roedores.**

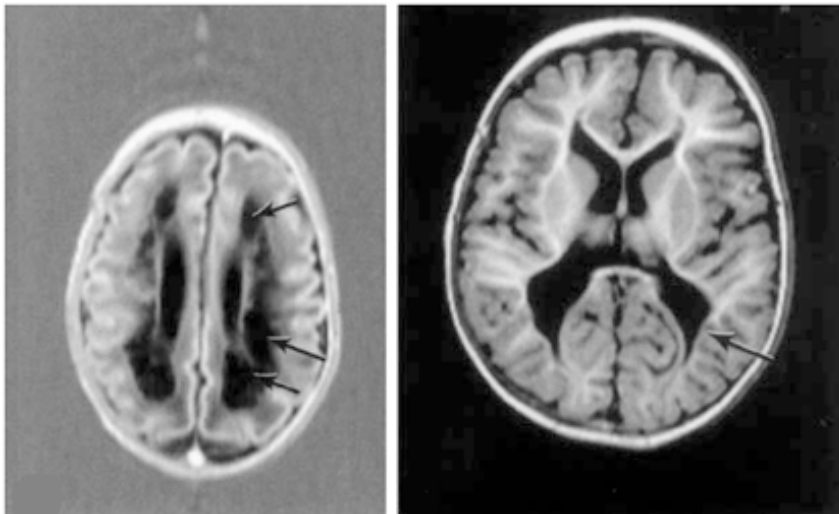
En el diagrama se comparan las características más destacadas de los humanos y roedores en los periodos de desarrollo de los linajes de oligodendrocitos. En humanos se presenta el periodo correspondiente a la semana de gestación 20 a la 40, en roedores se presenta los días 2 (P2), 7 (P7) y 14 (P14). Las líneas continuas indican el período de desarrollo de la población de los distintos precursores de oligodendrocitos y las líneas punteadas indican las etapas de menor constitución en el desarrollo. Modificado de Craig et al. (2003).

### **Leucomalacia periventricular una patología en el desarrollo de la mielina**

La etiología en humanos de la lesión en sustancia blanca de neonatos prematuros es probable que sea multifactorial debido a que es observada después de la presencia de infecciones bacterianas maternas, inflamación del SNC (Deng, 2010) o en la hipoxia-isquemia (Back & Rivkees, 2004). La leucomalacia periventricular fue descrita por primera vez por Rudolf Virchow en 1867 y en la actualidad las distintas descripciones no difieren tanto, el describió en niños recién nacidos una patología a la cual denominó "encefalomielitis cognitiva". De manera macroscópica observó degeneración dentro de la sustancia blanca periventricular. Hasta ese momento se desconocía la población celular afectada (Rezaie & Dean, 2002). En muchos de los casos se reporta la presencia de anoxia (falta de oxígeno en los tejidos) con o sin atelectasia (colapso de una fracción ó total del pulmón), la LPV no es una patología progresiva sin embargo se comienza a evidenciar con distintos signos clínicos los cuales se expresan en algunos bebés prematuros que sobreviven, el primer mes pueden presentar letargo e inactividad motora, llanto

débil, succión deficiente y una respuesta incompleta al reflejo de sobresalto (reflejo de Moro) (Banker & Larroche, 1962; Raybaud, Ahmad, Rastegar, Shroff, & Al Nassar, 2013; Volpe, 2008b).

En los análisis de la LPV se presentan a nivel macroscópico cambios estructurales difusos en los cerebros de neonatos prematuros, no se presentan evidencias de lesiones en la superficie del SNC (Volpe, Kinney, Jensen, & Rosenberg, 2011), pero se registran lesiones en las zonas externas vasculares penetrantes que suministran a la sustancia blanca (Figura 6), además las venas de regiones de la zona subventricular son extremadamente delgadas incapaces de soportar grandes presiones durante largos periodos (Back & Rivkees, 2004; Leviton & Gilles, 1984).

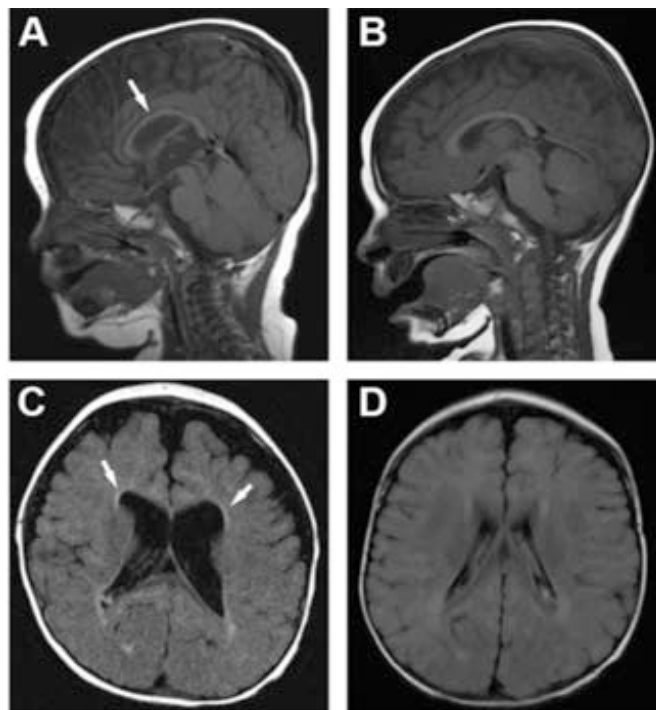


**Figura 5. Imágenes de cerebro: comparación entre un neonato prematuro y uno a término.**

En la imagen de la izquierda se muestra desde un plano axial el cerebro de un bebé de 32 semanas poco después del nacimiento, las flechas muestran formación de quistes en la región periventricular. En la imagen de la derecha se muestra el desarrollo del mismo bebé a los 15 meses y se observa una dilatación ventricular irregular, la flecha muestra poco desarrollo de la mielina. Modificado de Blumenthal (2004).

En todos los casos se describen lesiones nodulares blancas en la parte anterior al asta dentro de la zona subcallosa, la parte fronto-occipital, en la corona radiata, en los fascículos longitudinales superiores, en los estratos sagitales externos e internos de los ventrículos laterales (Banker & Larroche, 1962; Raybaud et al., 2013). Las lesiones difusas se observan como el incremento de zonas pálidas (manchas

blancas) presentes de manera bilateral pero asimétricas con lesiones nodulares que consisten en tejido coagulado rodeado con frecuencia de zonas con aumento de vascularización, siendo la sustancia blanca de tono oscuro y de consistencia suave. En la descripción de las lesiones severas se describen cicatrices blancas que se mezclan con el tejido pálido circundante (Back & Rivkees, 2004; Banker & Larroche, 1962).



**Figura 6. Imágenes de cerebros: comparación de la lesión en sustancia blanca.**

Imágenes de resonancia magnética en A (sagital) y C (axial) en un bebé de 12 meses de edad que nació en la semana 24 de gestación; se puede observar disminución de la mielina y el aumento irregular de los ventrículos laterales. En B y D se muestra un sujeto de la misma edad que nació a término. Modificado de Elitt y Rosenberg (2014).

### **Etiología de la leucomalacia periventricular**

Los análisis histopatológicos en necropsias de neonatos prematuros demuestran las primeras afecciones de la LPV en las regiones descritas anteriormente. A las 3 horas después de la presencia de apnea se ha evidenciado la presencia de una necrosis por coagulación (Banker & Larroche, 1962) con pérdida de la arquitectura y la homogeneidad del tejido (Figura 7) (Elitt & Rosenberg, 2014). En su periferia se encontraron inflamaciones varicosas donde se presenta proliferación y actividad de la microglía que rodea las zonas coaguladas de la lesión en la sustancia blanca en zona subventricular, la acción de la microglía llega a extenderse hasta más de 8

horas después de la lesión. En este periodo se ha implicado la liberación de citoquinas pro-inflamatorias de parte de la microglía con la muerte neuronal y glía (Banker & Larroche, 1962; Deng, 2010).

A las 12 horas aparecen lesiones destructivas con formación quística (Cabañas & Pellicer, 2002), se incrementa la presencia de los astrocitos reactivos que se mezclan con la microglía en la periferia de las lesiones (Banker & Larroche, 1962; Deng, 2010). De esta manera se presentan lesiones focales necróticas que ocurren en regiones cercanas a la zona periventricular adyacente al ventrículo lateral que implica a todos los elementos celulares en especial a la muerte de las células gliales presentes. Este tipo de cambios persiste durante una semana (Back & Rivkees, 2004; Cabañas & Pellicer, 2002).

En la lesión difusa igualmente hay un aumento de astrocitos hipertróficos en respuesta a la agresión (Figura 8) (Gibson & Clowry, 2003; Volpe, 2001). Cinco días después de la lesión se presentan macrófagos en racimos en las profundidades de los surcos correlacionando los cambios con el tiempo de las lesiones, en la 2ª semana se encuentra una mayor actividad de macrófagos de manera prominente, una disminución de la actividad glial, un incremento de vasos sanguíneos en las zonas con lesiones y una degeneración subcortical en los surcos profundos (Banker & Larroche, 1962). Con frecuencia en la LPV la pared medial ventricular se encuentra intacta, pero desaparece el epéndimo de la pared lateral ventricular del cuerno occipital adyacente, además en la fase más crónica de la enfermedad se presenta una gliosis subependimaria a lo largo de la pared del ventrículo (Banker & Larroche, 1962; Supramaniam et al., 2013).

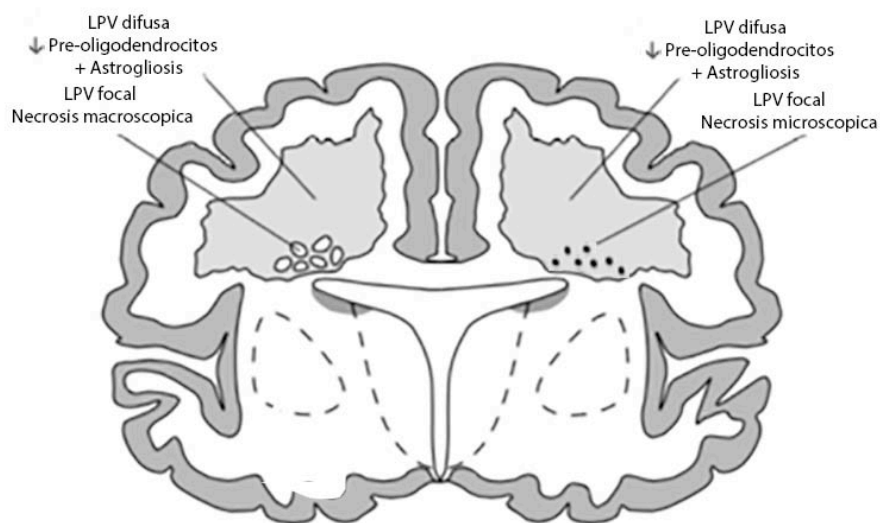
La materia gris también presenta cambios en las capas inferiores de la corteza cerebral, en el subiculum hipocampal, en los núcleos del puente, núcleo dentado y la capa de células de Purkinje del cerebelo. Se reporta que estas estructuras cerebrales presentan leve pérdida de células nerviosas y presencia de gliosis (Figura 7) (Banker & Larroche, 1962; Supramaniam et al., 2013).

Se ha observado en niños que mueren en etapas agudas de la enfermedad que las neuronas sufren una desaparición del citoplasma y la aglutinación de los materiales



nucleares dentro de la célula, parte del material nuclear parece estar extruido, mientras que se identifican otras células con divisiones en fragmentos irregulares y de aspecto sólido y cumplen los criterios de cariorrexis (aumento del volumen del núcleo y dispersión de la cromatina) además de clasmotodendrosis de astrocitos (hinchazón citoplasmática y vacuolización de astrocitos) (Banker & Larroche, 1962; Volpe et al., 2011).

En bebés que viven hasta 13 meses de edad posnatal, se presenta un incremento de astrocitos en el tálamo y los núcleos basales se presentan más pequeños de lo normal sin presentar estado de marmoratus (aspecto jaspeado a simple vista), además de una hipomielinización en el desarrollo de la materia blanca en el CC y en otras regiones subcorticales (Banker & Larroche, 1962; Volpe et al., 2011).



**Figura 7. Diferentes componentes de la lesión de la sustancia blanca.**

En el esquema se muestran diferentes componentes de la lesión de la sustancia blanca, del lado izquierdo se muestra una lesión severa con focos macroscópicos de necrosis evolucionando en la formación de quistes, a la derecha se muestra una lesión menos severa con lesiones focales necróticas más pequeñas que evolucionan a cicatrices gliales, en ambos casos se generan lesiones difusas por la muerte de células progenitoras de oligodendrocitos (pre-oligodendrocitos) y un incremento de astrogliosis. Modificado de Volpe (2001).

## **Lesión de los oligodendrocitos en la leucomalacia periventricular**

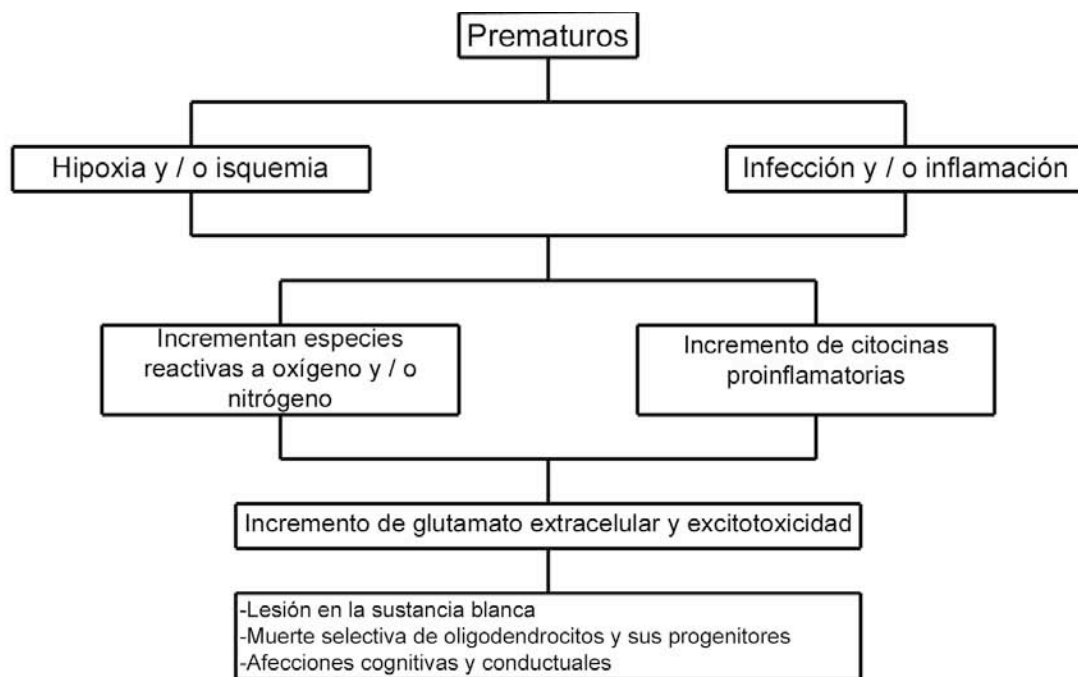
En la década de los 90`s Volpe (1997) mencionó que la hipoxia-isquémica y otros factores de riesgo pueden derivar en la muerte selectiva de células progenitoras de oligodendrocitos por su susceptibilidad entre la semana 23 a la 32 de gestación (Back & Rivkees, 2004; Back & Volpe, 1997). El metabolismo energético del cerebro joven es inferior al del adulto, ya que es menos capaz de utilizar la glucosa y da un rendimiento más reducido de energía (Banker & Larroche, 1962). Ante el decaimiento de los niveles de oxígeno por la hipoxia-isquemia ocurre una deficiencia en las rutas metabólicas con decremento en los niveles de adenosín-trifosfato (ATP) (Deng, 2010), debido a la falta de oxígeno se abole la ruta oxidativa del ATP dejando como única vía de síntesis de ATP a la glicolisis. Los niveles bajos de ATP desencadenan una falla en los transportadores de glutamato dependientes de ATP, afectando a la recaptura de glutamato en el espacio extra celular, los transportadores activos de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> dependientes de ATP se ven alterados y funcionan de manera inversa, liberando concentraciones de glutamato al espacio extracelular (Volpe, 2008a).

Además, la falta de síntesis de enzimas antioxidantes para regular el estrés oxidativo incrementa los niveles de radicales libres en el SNC. El linaje de OL´s tiene una pobre actividad de la enzima glutatión peroxidasa que es sintetizada por la cistina y tiene como característica proteger a las células de los hidroperóxidos endógenos incrementados en el estrés oxidativo (Deng, 2010). Las especies reactivas al oxígeno activan a proteasas, lipasas y nucleasas que desencadenan los procesos de apoptosis y necrosis de células del SNC, afectando en gran escala a los progenitores de OL´s (Rezaie & Dean, 2002; Volpe, 2001).

Los progenitores de OL´s son muy susceptibles a las agresiones mencionadas de la hipoxia-isquemia que derivan en excitotoxicidad por glutamato (Espinosa-Jeffrey et al., 2013; Volpe, 2008a). El glutamato es uno de los principales neurotransmisores excitatorios del SNC que no solo se presenta en las neuronas, también es sintetizado por las células gliales a partir de piruvato y del lactato, es utilizado como un gliotransmisor (Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). Es mediador de diferentes respuestas celulares mediante la interacción con los receptores de glutamato

(McDonald, Silverstein, & Johnston, 1988). La alta concentración de glutamato intracelular en las células del SNC es liberado al espacio extracelular después de la muerte por apoptosis o necrosis (Volpe, 2008a). El deterioro de los transportadores de glutamato de los astrocitos derivado de la hipoxia-isquemia o por la microglía activa que contribuye con la liberación de glutamato por la reversión antiporter (inversión de la dirección de los transportadores) de la cistina, liberando vesículas del glutamato y citoquinas al espacio extracelular (Deng, 2010; Rossi, Oshima, & Attwell, 2000).

Una vez que se afecta la recaptura del glutamato extracelular por los astrocitos se incrementan los niveles de glutamato en el espacio extracelular (Deng, 2010). Además, se presenta un aumento en las concentraciones de glutamato en el líquido cerebroespinal (Hagberg et al., 1993).



**Figura 8. Factores de riesgo asociados a la lesión de la sustancia blanca.**

Los neonatos prematuros son muy susceptibles a los eventos de hipoxia-isquemia o a las inflamaciones por infecciones sistémicas, estos factores de riesgo derivan en estrés oxidativo o incremento de citoquinas pro inflamatorias ocasionando muerte celular en el SNC y derivando en excitotoxicidad por el incremento de los niveles de glutamato en el espacio extracelular, al cual son muy susceptibles las células progenitoras del linaje de oligodendrocitos ocasionando las lesiones en la sustancia blanca del SNC produciendo parálisis cerebral y déficits conductuales y cognitivos. Modificado de Deng, 2010.

Las altas concentraciones de glutamato extracelular pueden inducir a la salida de la cistina conduciendo a la depleción intracelular de glutatión y a la muerte celular por estrés oxidativo (Deng, 2010). La liberación de citoquinas y el estrés oxidativo pueden alterar también la homeostasis de glutamato y sus transportadores en OL's y astrocitos. En eventos de hipoxia-isquemia o inflamatorios el glutamato difundido activa receptores ionotrópicos incrementando las concentraciones de  $Ca^{+2}$  intracelular (Deng, 2010; Volpe, 2008a). De esta manera la lesión contribuye a la degradación de las líneas de progenitores de OL (Back & Rivkees, 2004; Rezaie & Dean, 2002). La posterior hipomielinización en la LPV puede tener pérdida focal de OL's o la interrupción difusa de la mielinización (Figura 9) (Salter & Fern, 2005; Wong, 2006).

### **Receptores de glutamato en el linaje celular de OL**

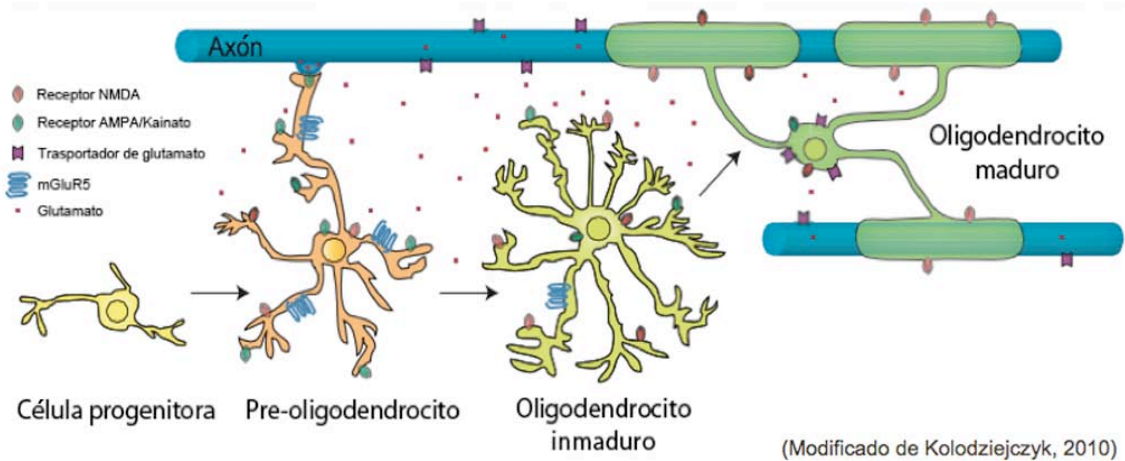
Durante el desarrollo, se ha demostrado que los progenitores de OL's expresan distintos receptores ionotrópicos y metabotrópicos (Manning et al., 2008). Los diferentes receptores que expresan son ionotrópicos o canales catiónicos de glutamato. La clasificación de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos se catalogan en 3 tipos; receptor a ácido  $\alpha$  -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico o AMPA (rAMPA), receptor a 2-carboxi-4-isopropenil-3-pirrolidinil o Kainato (rKA) y receptor N-metil-D-aspartato o NMDA (rNMDA) (Bleakman et al., 2007).

Las composiciones de las sub-unidades determinan las propiedades funcionales de los receptores. Los rAMPA y rKA son predominantemente permeables a  $Na^{+}$  y  $K^{+}$  pero pueden tener cierta permeabilidad a  $Ca^{+2}$  (Mayer, 2005; Mayer & Armstrong, 2004; Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). Los rNMDA son tetrámeros que forman un complejo de canal altamente permeables a  $Ca^{+2}$  y se expresa a partir de siete genes que dan lugar a siete subunidades ( $GLU_{N1}$ ,  $GLU_{N2A}$ ,  $GLU_{N2B}$ ,  $GLU_{N2C}$ ,  $GLU_{N2D}$ ,  $GLU_{N3A}$ , y  $GLU_{N3B}$ ) (Espinosa-Jeffrey et al., 2013; Fields, 2010). Cada subunidad de rNMDA se encuentra conformada por un extremo N-terminal con tres segmentos transmembranales. Entre el primer y el segundo segmento transmembranal se presenta una forma de bucle con revestimiento intramembranal; es aquí donde se forma el sitio de unión del agonista. Otro gran bucle extracelular

entre el segundo y tercer segmentos corresponde al último segmento C-terminal pequeño intracelular. El glutamato se une a la subunidad  $GLU_{N2A}$  y el coagonista glicina a la subunidad  $GLU_{N1}$  y ambas subunidades forman una misma unidad funcional en las estructuras tetraméricas (Bleakman et al., 2007; Verkhratsky & Kirchhoff, 2007).

Durante el desarrollo se encuentra una mayor expresión de la subunidad  $GLU_{N2B}$  y en los adultos una mayor expresión de  $GLU_{N2A}$ ; la subunidad NR1 que le confiere su funcionalidad y el centro de la estructura se encuentra conformada por un bloque de  $Mg^{+2}$  que crea una dependencia a una despolarización para su apertura (Bleakman et al., 2007; Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). En estudios realizados con microscopía electrónica en el nervio óptico, fibras del cerebelo y CC, se ha revelado la presencia de las sub unidades NR1, NR2 y NR3 presentes en las vainas de mielina (Matute, 2006).

La activación de rNMDA, rAMPA y rKA está involucrada en la regulación del crecimiento de neuritas, la formación de sinapsis, la muerte celular, la eliminación selectiva de los procesos neurales y la organización funcional de los sistemas nerviosos (Volpe, 2001). Cuando se activan los receptores por glutamato, los rAMPA son sometidos a una insensibilización rápida, los rKA se insensibilizan más lento y los rNMDA casi no muestran una insensibilización (Fields, 2010; Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). La expresión de los receptores inotrópicos a glutamato está regulada durante el desarrollo; en OL's maduros los rNMDA están presentes en mayor porcentaje en los procesos, mientras que los rAMPA/rKA están presentes en mayor concentración en el soma celular (Figura 9) (Deng, 2010; Kolodziejczyk et al., 2010). Anteriormente se creía que la activación de rAMPA/rKA era la responsable de la lesión hipoxia-isquemia en los linajes de OL's pero cada vez existen más pruebas que implican la participación de los rNMDA (Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). Los linajes de OL's presentan en mayor densidad la sub unidad  $GLU_{N3}$  y  $GLU_{N2C}$  de los rNMDA, la sub unidad  $GLU_{N3}$  tiene la particularidad de tener menos sensibilidad al bloque de  $Mg^{+2}$  incrementando la susceptibilidad ante una excitotoxicidad (Verkhratsky & Kirchhoff, 2007).



**Figura 9. Ejemplifica la expresión y distribución de receptores a glutamato en OL's.**

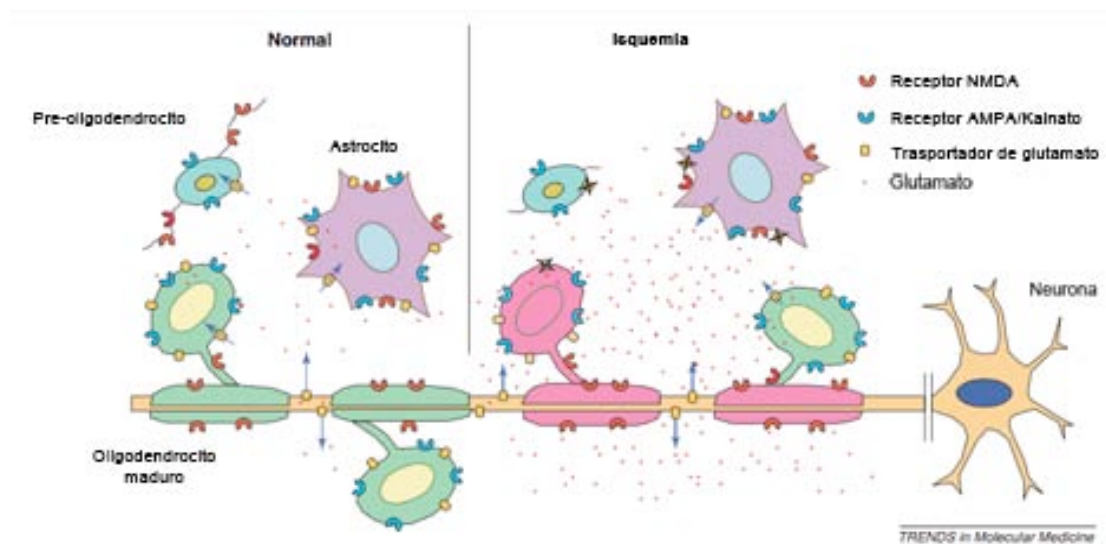
Esquema que ejemplifica la expresión y distribución de receptores a glutamato metabotrópicos, receptores ionotrópicos N-metil-D-aspartato (NMDA) y receptor ionotrópicos ácido-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico/Kainato durante el proceso de desarrollo de los oligodendrocitos desde las células progenitoras, pre-oligodendrocitos, oligodendrocitos inmaduro los el oligodendrocitos maduros formadores de las vainas de mielina modificado de Kolodziejczyk, Saab, Nave, y Attwell (2010).

### **Excitotoxicidad: Sobre activación de los receptores a glutamato**

La excitotoxicidad fue descrita por primera vez por Olney (1969) como la sobre activación de receptores ionotrópicos a glutamato y la afluencia excesiva de  $Ca^{+2}$  al espacio intracelular (Verkhratsky & Kirchhoff, 2007). La excitotoxicidad es a menudo un evento patológico mediado por la excesiva activación de receptores de glutamato presentes durante la hipoxia-isquémica (Portera-Cailliau, Price, & Martin, 1997). Los rAMPA y rNMDA exponen a los progenitores de OL's a la excitotoxicidad debido a su vulnerabilidad (McDonald et al., 1988; Salter & Fern, 2005; Volpe, 2008a; Wong, 2006). También las inflamaciones o infecciones pueden causar de manera indirecta los eventos anteriormente mencionados que derivan en el daño de los progenitores de OL's, debido al espacio reducido de la estructura celular de los OL's, la permeabilidad al  $Ca^{+2}$  y a la baja resistencia al estrés oxidativo (Deng, 2010; Manning et al., 2008).

El incremento en los niveles excitotóxicos ocurre en el interior del soma de los OL's y neuronas, con la pérdida de procesos celulares, produciendo la lesión en la

sustancia blanca (Karadottir, Cavelier, Bergersen, & Attwell, 2005; Salter & Fern, 2005; Wong, 2006). Los tipos de muerte celular excitotóxica dependen de la intensidad de la activación de receptores a glutamato, implicando distintas fases temporalmente de necrosis y apoptosis, basadas en la fisiología mitocondrial por la pérdida de potencial de membrana y la liberación de mas iones de  $Ca^{+2}$  al citoplasma (Figura 11) (Hansen, Ikonomidou, Bittigau, Hansen, & Hansen, 2001; Matute et al., 2001).



**Figura 10. Diagrama de un evento de excitotoxicidad y sus afecciones a los OL's.**

Excitotoxicidad de oligodendrocitos por los receptores NMDA. En el diagrama de la izquierda se muestra la expresión de transportadores de glutamato, receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y de receptores  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA/Kainato) en las membranas de neuronas, astrocitos con oligodendrocitos maduros y pre-oligodendrocitos, además de su interacción con el glutamato en el medio extracelular e intracelular. En condiciones normales el glutamato es absorbido por los transportadores para evitar la sobre activación de los receptores NMDA y AMPA/Kainato y daño por excitotoxicidad. Ante un evento isquémico el incremento de glutamato por la inversión de sus transportadores o por un estrés oxidativo puede inducir debido a la distribución de los receptores a glutamato, una excitotoxicidad en el linaje celular de los oligodendrocitos ocasionando disturbios en el desarrollo de la mielina. Modificado de Matute (2006).

Además, el incremento del factor de necrosis tumoral por parte de la microglía potencializa la excitotoxicidad (Deng, 2010). Se ha demostrado la presencia de rNMDA en los procesos de los OL's maduros en las regiones del CC y en la corona radiata, generando un patrón de un grupo de fibras con alta densidad de rNMDA en sus vainas de mielina que se extiende por el CC (Zhang, Liu, Fox, & Xiong, 2013).

De este modo se conduce a la pérdida de la mielina y por medio de la comunicación por exosomas, los OL's influyen en la atracción de microglía activa incrementando la lesión (Peferoen, Kipp, van der Valk, van Noort, & Amor, 2014), dando lugar a la parálisis cerebral (Kolodziejczyk, Hamilton, Wade, Karadottir, & Attwell, 2009), y a la discapacidad intelectual (Espinosa-Jeffrey et al., 2013), convirtiéndose los OL's en un blanco para tratar las lesiones en la LPV (Fields, 2010).

## **ANTECEDENTES**

### **Modelos animales de lesión en la sustancia blanca: Lipopolisacáridos, hipoxia-isquemia y excitotoxicidad**

Los modelos animales para desarrollar lesiones en la sustancia blanca han sido diversos, pero todos parten de los factores de riesgo que ocasionan una excitotoxicidad como se ha descrito con anterioridad. Estos modelos han sido utilizados para describir distintos elementos de la patología. En los murinos las etapas de desarrollo que tienen correlación con el periodo de desarrollo fetal humano donde el SNC inmaduro es susceptible a desarrollar lesiones en la sustancia blanca y la sustancia gris (Deng, 2010). En estos se ha implementado la inyección de lipopolisacáridos (LPS), la inducción de hipoxia o isquemia y las lesiones excitotóxicas.

Los LPS son inyectados en el embrión de rata o de ratón en etapa prenatal entre los días 17 y 21 de gestación en este modelo se activan directamente el sistema inmunológico mediante los receptores "Toll-like" (por su nombre en inglés) de las células inmunitarias y promoviendo la producción de citoquinas pro-inflamatorias, además pueden inducir una acidosis láctica, hipoglucemia, hipoperfusión y TNF- $\alpha$  (Bell & Hallenbeck, 2002; Kim, Shin, Cho, & Kim, 2014). En dosis altas puede producir la caída de la presión arterial hasta un 50% (hipotensión) y en dosis bajas solo produce la caída de la presión arterial un 20-30% suficiente para lesiones en la sustancia blanca y gris, sin embargo no todos los efectos pueden ser adecuadamente (Hagberg et al., 2002).



En rata y ratón también se ha utilizado satisfactoriamente la inducción de hipoxia-isquemia entre los días 7 y 9 posnatal, se ha observado que afecta tanto a la sustancia gris como a la blanca, la manera que se ha implementado el modelo es por la ligadura de las arterias carótidas de manera unilateral o bilateral, además de la privación de oxígeno de manera general (Fontaine et al., 2008). En estos modelos se ha observado la susceptibilidad de los progenitores de OL's en las zonas subventriculares (Back & Rivkees, 2004). En la rata entre las distintas modificaciones, la ligadura de la carótida por una hora en el día 7 posnatal lesiona de manera selectiva a los pre-OL's y ocasiona una deficiencia en el desarrollo de la mielina. Una ligadura de manera bilateral en el día 5 posnatal ocasiona lesión en la sustancia blanca y sustancia gris de la región subcortical, este tipo de modelo deriva en incremento de los radicales libres, muerte por apoptosis celular y en el incremento del glutamato en el espacio extracelular ocasionando una excitotoxicidad (Ahmad, Saleem, Ahmad, & Dore, 2006; Hagberg et al., 2002; Hagberg et al., 1993).

Algunos estudios en ratones en etapas perinatales con hipoxia describen que durante su desarrollo presentan pérdida de sustancia blanca ocasionando una ventrículo megalia unilateral y una disminución de la fimbria fornix, el hipocampo y el cuerpo calloso (Stone et al., 2008). En estos trabajos el hipocampo, el globo pálido y la corteza medio frontal presentan una alta capacidad de almacenar concentraciones de calcio mediadas por los rNMDA (Bernal, Saura, Ojuel, & Mahy, 2000).

Las lesiones por excitotoxicidad parten del mismo principio ya descrito, debido a que en el desarrollo de los murinos en el día posnatal 5 (P5) se observan muchos elementos celulares y moleculares como la presencia de receptores ionotrópicos a glutamato y sus transportadores en los OL's que les confieren la vulnerabilidad a las lesiones por excitotoxicidad (Deng, 2010). Por medio de la administración de agonistas a rAMPA y rNMDA en ratones se inducen las lesiones en la sustancia blanca de manera focal similar a la LPV quística necrótica reportadas en la lesión cerebral humana durante la etapa perinatal (Back & Rivkees, 2004).

En los cerebros de animales adultos in vivo se ha implementado la excitotoxicidad y se ha demostrado la fragmentación del ADN inter-núcleo-somal-apoptótica y la presencia de necrosis (Portera-Cailliau et al., 1997), por medio de la administración

de agonistas a receptores inotrópicos como el ácido-N-metil-D-aspartato (NMDA) que se considera el agonista prototípico para el rNMDA (Bleakman et al., 2007). La presencia de agonistas a rNMDA y rAMPA son capaces de inhibir la proliferación de los OL's y de astrocitos *in vitro* e *in vivo* (Espinosa-Jeffrey et al., 2013; Hagberg et al., 2002; Volpe, 2008c). Se ha descrito que ante el proceso de excitotoxicidad por parte del NMDA se presenta una acumulación de  $Ca^{+2}$  en cantidades elevadas dentro de las células nerviosas, presentando un incremento del tamaño del aparato de Golgi y en algunas mitocondrias, produciendo un aglutinamiento de la cromatina del núcleo que deriva en la turgencia del citoplasma desencadenando la necrosis celular (Meldrum & Garthwaite, 1990).

En modelos de ratones adultos, la administración de NMDA directo al estriado del SNC a una concentración de 25 nmol presentan afecciones difusas en las zona periventricular (Ahmad et al., 2006; Hansen et al., 2001). De la misma manera la administración de 5 µg de NMDA en el CC (Espinosa-Jeffrey et al., 2013), en la región subcortical de la corteza sensorial y corteza motora provocan lesiones muy similares a las lesiones difusas en la sustancia blanca subcortical y periventricular, similar a la de parálisis cerebral espástica que se presentan en humanos (Clowry et al., 2014; Espinosa-Jeffrey et al., 2013). En modelos de rata con pesos entre 12 y 18 gramos en etapa posnatal se han utilizado las concentraciones de 25 nmol y 20 nmol diluida en 0.5 µl de solución fisiológica que producen una lesión difusa (McDonald, Roeser, Silverstein, & Johnston, 1989; van Lookeren Campagne, Lucassen, Vermeulen, & Balázs, 1995; Veldhuis et al., 2003). Otros grupos han implementado el modelo por ácido iboténico, administrando un volumen de 2.5 µg/2 µl en el CC (Chen, Dimambro, & Clowry, 2008; Gibson, & Clowry, 2003).

En estudios de difusión ponderada de resonancia magnética se ha observado que la administración de NMDA en los valores mencionados, tiene una difusión de hasta 2 mm de manera radial (Hagberg et al., 2002; McDonald et al., 1988; Veldhuis et al., 2003). En el estriado se presentan cambios como: degeneraciones de los cuerpos neurales y cambios de los núcleos picnóticos neuronales (retracción del núcleo con condensación de la cromatina), incremento de la luz ventricular, con presencia de gliosis en el sitio de inyección (Hagberg et al., 2002; McDonald et al., 1988; Veldhuis et al., 2003).

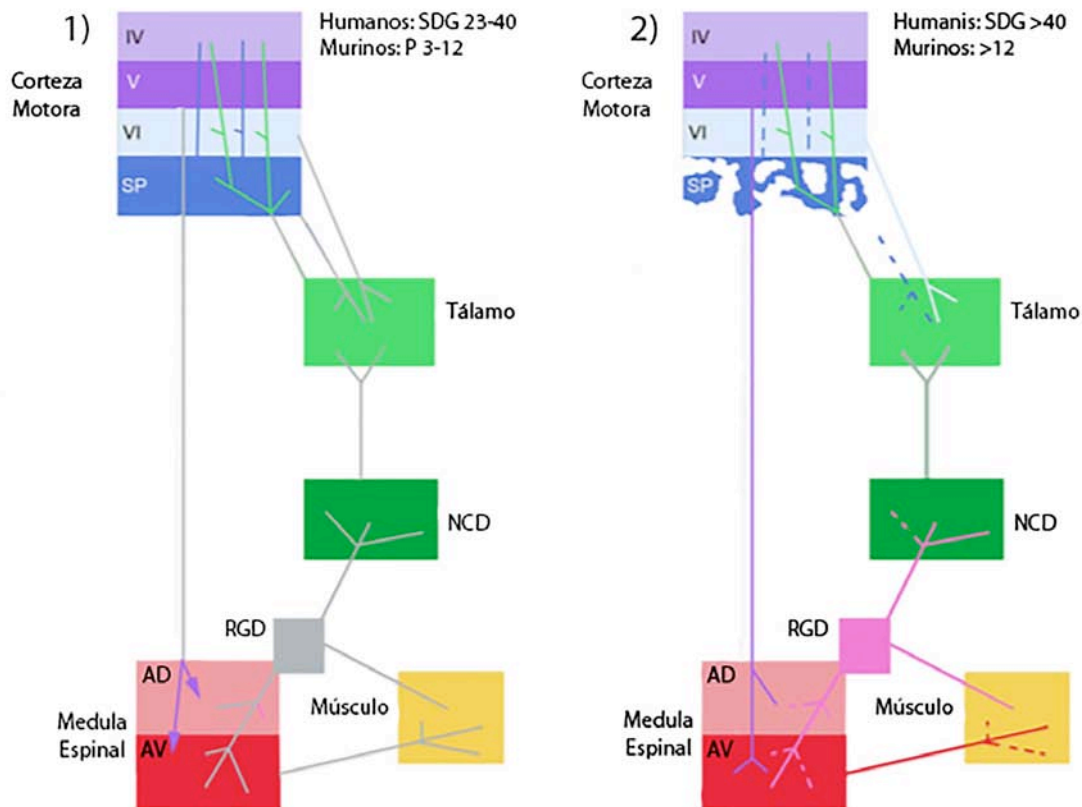
Un día después de la inyección aumenta el número de neuronas necróticas en las regiones periventriculares, los axones que conforman al CC no se ven afectados. Cinco días después de la inyección no se presenta afección en el hemisferio contralateral, la fisura cerebral longitudinal se desplaza al hemisferio lesionado debido a la pérdida celular (Veldhuis et al., 2003; Verheul et al., 1993). A las 6 horas se presenta el incremento de la interleucina como la interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) que se correlaciona con la activación de la microglía en la región de la inyección de NMDA (Hagan, Poole, Bristow, Tilders, & Silverstein, 1996). Además la microglía expresa el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), el cual debido a la activación de la microglía participa en el deterioro de los OL's (Matute, Rosselli, Ardila, & Ostrosky-Solís, 2008), este deterioro de los OL's afecta las funciones córtico-espinales de forma similar a la LPV humana (Cabañas & Pellicer, 2002; Fields, 2010; Gibson & Clowry, 2003; McDonald et al., 1988; Volpe, 2001). Se ha demostrado que en cultivos celulares donde se desarrollan astrocitos, microglía activa y OL's, la expresión de TNF- $\alpha$  y de la IL- 1 $\beta$  deriva en la muerte de los OL's (Takahashi, Giuliani, Power, Imai, & Yong, 2003).

En ratas Wistar adultas de 3 a 4 meses y de 22 a 24 meses de edad se ha demostrado el incremento de la expresión de interleucinas IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  por parte de los atrocitos ante la inyección de 20 nmol de NMDA en el estriatum (Campuzano, Castillo-Ruiz, Acarin, Castellano, & Gonzalez, 2009). La vulnerabilidad en ratas neonatas es alta durante las primeras dos semanas de vida, posteriormente comienza a disminuir la sensibilidad a la lesión mediada por NMDA (Veldhuis et al., 2003).

### **Movimientos complejos elementales: tratamiento no invasivo**

El desarrollo del SNC de los bebés humanos se refleja en la madurez conductual por ejemplo de los movimientos complejos elementales (MCE) que consisten en posturas y secuencias de distintos movimientos que se presentan en neonatos a término y prematuros. Los MCE dependen de estructuras cerebrales como el núcleo lenticular, el globo pallidum y el putamen (Porrás-Kattz & Harmony, 2007). Para Katona, la característica más importante es la activación de la formación reticular, el tálamo (núcleo ventral y posterior), los núcleos basales (caudado, putamen y globo

pálido) y la corteza cerebral, estas estructuras son vías de información propioceptiva proveniente de la medula espinal proyectando vías al tálamo y al cerebelo (Mandujano, Sánchez-Pérez, & Muñoz-Ledo, 2009). A partir de los relevos sinápticos en el tálamo se proyecta información a la corteza cerebral y a los núcleos basales, formando el circuito de retroalimentación: núcleos basales-tálamo-corteza (Figura 2) (Barrera, 2010; Clowry et al., 2014).



**Figura 11. Comparación del desarrollo del sistema corticoespinal en humanos y murinos.**

1) Proyecciones talámicas aferentes en proceso de mielinización que inervan la capa IV de la corteza motora al mismo tiempo que las fibras corticoespinales inervan la médula espinal; en humanos en la semana de gestación 23 a la 40 (SDG 23-40) y en murinos en el día posnatal 3 al 12 (P3-P12). 2) Conexiones corticoespinales y las proyecciones aferentes del músculo llegan a la médula espinal y los núcleos de la columna dorsal; proyecciones mielinizadas de los tractos corticoespinales presentes en humanos a la semana 40 de gestación o nacido a término, y en murinos posterior al día 12 de desarrollo. Capas de la corteza motora IV, V, VI, subplaca o subplato (SP), Tálamo, Núcleos de la columna dorsal (NCD), ganglios de la raíz dorsal (RGD), Asta dorsal (AD), Asta ventral (AV) y Músculos. Las flechas representan el crecimiento de los axones, las líneas discontinuas representan la retracción de las terminales de los axones. Las proyecciones de color gris no han cambiado en la etapa de la figura. Modificado de Clowry, Basuodan, y Chan (2014).

## **Efectos de la actividad motora: Potencialidad del ejercicio como tratamiento en eventos de lesión**

La actividad motora se refiere a cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que tienen un gasto energético, el ejercicio es un subconjunto de la actividad física y se define como el movimiento corporal repetitivo (Arida, Scorza, da Silva, Cysneiros, & Cavalheiro, 2011). Los estudios en murinos han demostrado que el ejercicio motor tiene un efecto directo en el SNC, bajo una variedad de condiciones; mejora el aprendizaje y la memoria, contrarresta el deterioro mental en el envejecimiento y en patologías con daño cerebral (Llorens-Martin, Torres-Aleman, & Trejo, 2008). El desarrollo de múltiples estudios consideran a la actividad motora moderada como un tratamiento para las lesiones cerebrales traumáticas (Griesbach, Hovda, Molteni, Wu, & Gomez-Pinilla, 2004). Se ha descrito que ante el ejercicio incrementa la demanda del flujo sanguíneo y disminuyen los niveles de especies reactivas al oxígeno (Molteni et al., 2004a). Además durante el ejercicio se expresan neurotrofinas (NT) como el factor de crecimiento nervioso (FCN) y el factor neurotrófico derivado del cerebro (“BDNF” por su abreviatura en inglés), los receptores a NT, el receptor p75<sup>NTR</sup> de la familia tirosina quinasa y el receptor del factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  por sus siglas en inglés) y una serie de interleucinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) además de aumentar la actividad de los captadores de radicales libres (Fig. 11) (Ang & Gomez-Pinilla, 2007).

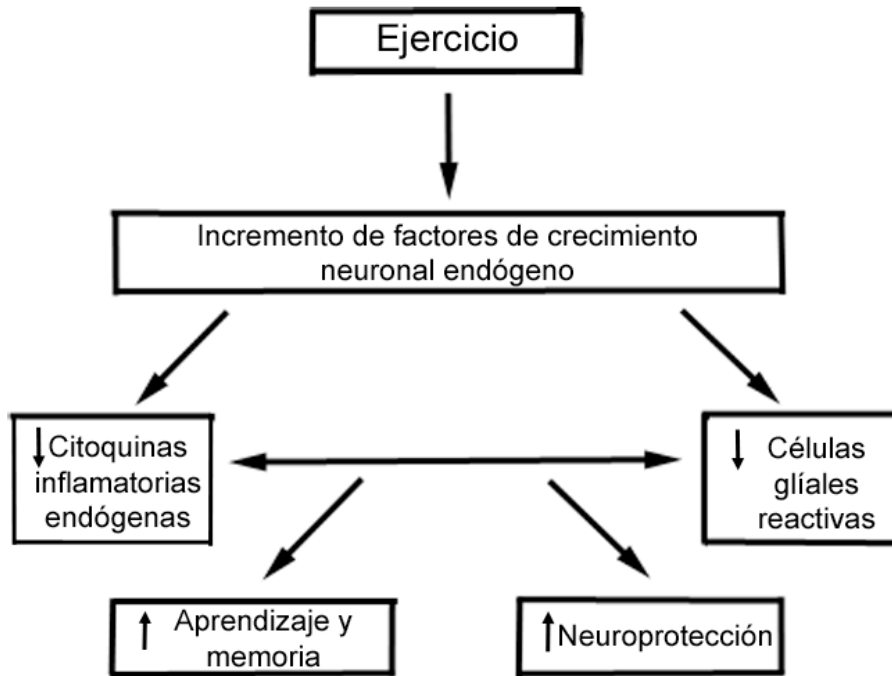
Varias estrategias de ejercicios motores han sido implementadas, por ejemplo se sabe que los ejercicios de caminata en ratas tienen un efecto en la disminución de deficiencias motoras y sensoriales de la médula espinal lesionada (Ying, Roy, Edgerton, & Gómez-Pinilla, 2003). En el CC se ha observado con la actividad motora una disminución de la astrogliosis y la hipomielinización provocada por la inyección sistémica de lipopolisacáridos (Kim et al., 2014). Al facilitarles una actividad motora voluntaria a ratones adultos se ha observado en su médula espinal que al realizar ejercicio durante 7 días se influye en la neurogénesis de la médula dorsal y en la proliferación de linajes de OL's, prologando este efecto hasta los 24 días de actividad recorriendo una distancia de 3 kilómetros diarios, la actividad motora produce un incremento en el número de células progenitoras de OL's

(Kriyakiarana et al., 2010). Kriyakiarana et al. (2010) demostraron que la actividad motora del ejercicio en ratones adultos estimula a las células madre del canal endimario activando su migración y su diferenciación en OL's, además se observó con esta misma estimulación la generación de astrocitos.

Ying et al. (2003), demostraron que la actividad motora voluntaria en la rueda de carrera de 3 a 7 días en ratas de 3 meses, incrementa la expresión de neurotrofina 3 (NT-3) y de su receptor tirosina quinasa C (TrkC) en la sustancia gelatinosa de la asta dorsal de la medula espinal en la sección lumbar, este incremento también lo observaron en el músculo *soleus* de las extremidades inferiores. Los resultados son relevantes debido a que la expresión de NT-3 desempeña un papel crítico en el desarrollo y reparación de circuitos neuronales después de las lesiones de la médula espinal (Ying et al., 2003).

Posteriormente se demostró el efecto de la actividad motora voluntaria de 3 a 7 días sobre los ganglios de la raíz dorsal, donde mostraron un aumento en el crecimiento de neuritas, encontraron además que la longitud de las neuritas *in vitro* extraídas a partir de animales ejercitados tienen correlación con la distancia recorrida (Molteni, Zheng, Ying, Gómez-Pinilla, & Twiss, 2004b). Además se presenta una regeneración axonal después de una lesión por aplastamiento del nervio *in vivo* y un incremento de la expresión de BDNF, NT-3, sinapsina-1 y GAP43 (Hutchinson, Gomez-Pinilla, Crowe, Ying, & Basso, 2004; Molteni et al., 2004b).

En ratas adolescentes el ejercicio forzado y el voluntario incrementan los niveles de BDNF y del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF por sus siglas en inglés) en el hipocampo (Uysal et al., 2015). Se ha descrito en la rata que con la actividad motora se expresa la proteína de AMP-cíclico (AMPC) en respuesta de la unión del factor de transcripción CREB y la actividad por la vía de la proteína quinasa (MAP-K) facilitando la fosforilación de CREB y de la sinapsina-1 (Shen, Tong, Balazs, & Cotman, 2001). Cabe destacar que la expresión de BDNF es a partir de factor de transcripción CREB (Finkbeiner et al., 1997).



**Figura 12. Efecto del ejercicio en el SNC**

Se ejemplifican las vías de los mecanismos que favorecen el ejercicio forzado y como el incremento del factor de crecimiento nervioso (FCN) endógeno y del receptor  $p75^{\text{NTR}}$ , la disminución de células gliales reactivas y de citoquinas pro-inflamatorias endógenas incrementan la neuroprotección y favorecen los mecanismos del aprendizaje y la memoria. Modificado de Ang y Gomez-Pinilla (2007).

Griesbach et al. (2004) plantearon la existencia de una ventana de tiempo para la inducción de una actividad motora después de la lesión cerebral en la cual se incrementa la expresión de BDNF en CA3 del hipocampo. A este proceso de síntesis de BDNF se le ha dado seguimiento por medio de la proteína fluorescente verde (GFP por sus siglas en inglés), y se ha descrito su colocalización con la sinapsina-1 presináptica y en la proteína posináptica PSD95 de neuronas hipocámpales y corticales donde concluyen que la liberación del BDNF está mediada por la sinapsina-1 en la actividad sináptica (Ang & Gomez-Pinilla, 2007). También esta ventana de efecto se ha descrito en la actividad de caminata forzada prolongada de 2 hasta 6 horas reflejando que el efecto del estrés disminuye la proliferación celular (Lee et al., 2013).

De la misma manera se ha observado el efecto del incremento del BDNF por parte del ejercicio moderado sobre los OL's de ratas adultas, presentando una disminución de la expresión de glicoproteínas asociadas a mielina (MAG, por sus

siglas en inglés), la cual se caracteriza por inhibir el crecimiento de neuritas sin afectar la expresión de la proteína básica de mielina (MBP, por sus siglas en inglés) (Ghiani, Ying, Vellis, & Gomez-Pinilla, 2007).

El ejercicio también influye en los factores neurotróficos durante los procesos de inflamación, debido a la baja afinidad por parte de los factores neurotróficos y de algunas citoquinas antiinflamatorias a los receptores  $p75^{NTR}$ . Estos receptores participan en la inhibición del mayor complejo de histocompatibilidad (MHC por sus siglas en inglés) por parte de la microglía (Ang & Gomez-Pinilla, 2007), los cuales han sido estudiados en eventos de lesión de hipoxia unilateral de ratas adultas en la región de la banda horizontal de Broca (Ang, Wong, Moochhala, & Ng, 2003). En esta misma región se estudió el efecto del ejercicio forzado, observando un incremento en las poblaciones de neuronas colinérgicas del septum medial relacionadas con la mejoría en el desempeño de las pruebas conductuales (Ang, Dawe, Wong, Moochhala, & Ng, 2006). Además se ha descrito que el ejercicio motor modula la expresión del receptor de las interleucinas  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-6$  de la microglía y los astrocitos que interactúan de una manera orquestada ante los eventos de inflamación causando lesiones en ratas adultas expuestas a isquemia cerebral (Ang & Gomez-Pinilla, 2007).

La actividad motora de la natación en rata también ha demostrado un efecto con relación al tiempo, similar a la mencionada por Griesbach et al. (2004), en la cual el nado aumenta la proliferación de nuevas células, a partir de 5 minutos de actividad aumenta la proliferación celular en el giro dentado del hipocampo y se presenta hasta los 20 minutos de actividad, posterior a este tiempo se presenta una inversión de la proliferación atribuida a la influencia del estrés (Ra et al., 2002).

El estrés agudo en las ratas ejercitadas con nado o con caminata mejora la memoria episódica y el estrés crónico puede inducir una plasticidad adaptativa cerebral (Ang & Gomez-Pinilla, 2007), en los que los neurotransmisores locales y las hormonas sistémicas interactúan para producir cambios estructurales y funcionales (Arida, Scorza, da Silva, Scorza, & Cavalheiro, 2004). Es ampliamente conocido que las experiencias con niveles altos de estrés a menudo incrementan la facilidad de los procesos de memoria en las ratas, que podrían atribuirse a la



liberación de hormonas de estrés como la epinefrina y la corticosterona (Ang & Gomez-Pinilla, 2007; McEwen, 2000; Uysal et al., 2015).

El estrés por el ejercicio puede actuar como un mecanismo de protección debido al incremento de la expresión de la proteína de choque térmico de 70 kilodalton (HSP70 por sus siglas en inglés) la cual está implicada en el plegamiento de proteínas y en la protección celular ante el estrés. Este efecto se observó en ratas de 8 semanas con un protocolo de inducción de estrés crónico y agudo mediante nado (Liu, Yang, Fan, Jiang, & Pan, 2010). Chetty et al. (2014) demostraron en ratas a las que se les administró de manera subcutánea corticosterona durante 7 días y a otras ratas que se les inmovilizó 3 horas al día durante una semana que ante un estímulo altamente estresante se promueve oligodendrogénesis en el giro dentado del hipocampo.

Los efectos de los factores tróficos que anteriormente se han mencionado, se han estudiado de manera individual en modelos de lesión de sustancia blanca, el BDNF se ha inyectado en el ventrículo lateral derecho después de una hipoxia unilateral por la obstrucción de la carótida derecha y se ha observado una disminución del daño estructural y una mejoría de las ratas en el desempeño conductual (Almli et al., 2000). Espinosa-Jeffrey et al. (2013) demostraron que en ratones con lesión excitotóxica en el CC la administración del factor trófico de crecimiento "TSC1" tiene la capacidad de disminuir los efectos de lesión estructural y de promover la proliferación endógena de progenitores de OL's, así como también la mielinización por parte de OL's maduros.

De esta manera distintos grupos de investigación han demostrado que el ejercicio puede estimular la maquinaria intrínseca para la expresión de los factores tróficos de crecimiento mencionados anteriormente, influyendo de manera directa en la disminución de los procesos de inflamación que se expresan por parte de la microglía (Piao et al., 2013). El ejercicio también disminuye los efectos del estrés oxidativo, además tiene la capacidad de incrementar la vascularización restableciendo el microambiente celular que se ven afectados durante los eventos de lesión del SNC así como en la LPV (Ang & Gomez-Pinilla, 2007), además de inducir

la migración y mielinización de los axones cortico-espinales por parte de los OL's mediante la actividad neuronal (Gibson et al., 2014).

### **El nado forzado como un ejercicio aeróbico**

El ejercicio aeróbico como lo es correr o nadar (Petzinger et al., 2015) presenta beneficios ante la presencia de una lesión en etapas perinatales que involucra el desarrollo de la sustancia blanca (Kim et al., 2014). Tanto la sustancia blanca como la gris presentan plasticidad en individuos sanos ante la adquisición de habilidades motoras (Sampaio-Baptista et al., 2013). Dependiendo de la actividad física realizada puede tener distintos efectos en la proliferación celular y su migración, afectando no solo a las neuronas sino también en la proliferación de astrocitos y la activación de la microglía (Petzinger et al., 2015), incluso un evento estresante continuo como lo es el nado forzado puede promover la proliferación de los OL's (Chetty et al., 2014).

El nado es considerado una actividad que se presenta en todos los mamíferos desde el momento del nacimiento, para las ratas esta capacidad de nadar está presente desde los primeros días de vida, sin embargo, su resistencia al esfuerzo físico varía según la edad de las ratas, al ser un ejercicio no voluntario la tarea se describe como "nado forzado", se sabe que la exposición al ejercicio forzado provoca alteraciones neuroquímicas y endocrinas. La prueba clásica de nado forzado fue desarrollada en 1978 por Porsolt. Consiste en colocar ratas adultas en un cilindro conteniendo agua a 25 C° impidiendo a la rata escapar, realizando una sesión de 15 min seguida después de 24 horas de una sesión de prueba de 5 min, la tarea induce un factor de estrés que deriva a un estado de depresión conductual. Al progresar la prueba se observa una inmovilidad realizando solamente movimientos necesarios para mantener la nariz por encima de la superficie. Detke y Lucki (1996) añaden la descripción de "escalada" en la prueba de nado forzado (Bogdanova, Kanekar, D'Anci, & Renshaw, 2013; Can et al., 2012). Los individuos más jóvenes presentan una mayor actividad (Bogdanova et al., 2013; Martinez-Mota, Ulloa, Herrera-Perez, Chavira, & Fernandez-Guasti, 2011).

La capacidad de flotar se describe como realizar los movimientos mínimos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua, esta capacidad en ratas comienza a partir del día 21 pos-natal y se estabiliza en el 26 día pos-natal, la conducta de buceo se refleja al día 22 pos-natal, previo a ese periodo está considerado como inactividad el mantener el cuerpo en posición vertical al menos a 10° con respecto de la superficie (Abel, 1993). Debido a la dificultad de implementar otras tareas de actividad motora forzada en ratas neonatas, el nado forzado es una tarea que nos permite la inducción de la actividad motora de manera forzada mediante un estímulo aversivo.

### **Evaluación de la lesión por excitotoxicidad en modelos murinos**

El implemento de distintas metodologías nos permite evaluar y describir la capacidad motora en el desarrollo ante una lesión de la sustancia blanca en los murinos (Poggi et al., 2005). En estudios de los modelos deficientes de mielina y con lesiones en la sustancia blanca se han implementado distintas metodologías conductuales en los cuales se reporta una deficiencia en el desempeño en las pruebas por la deficiencia motora (Tress et al., 2012). La prueba de “actividad motora espontánea” permite el registrar la actividad de las ratas a través de una red de haz de luz de rayos infrarroja en los ejes “X y Y” en un campo abierto, registrando la distancia recorrida, tiempos de inactividad, tiempos de actividad y movimientos horizontales, reflejando el desarrollo motor y la capacidad cognitiva para la habituación al ambiente (Garín-Aguilar, Medina, Quirarte, McGaugh, & Prado-Alcalá, 2014).

Se sabe que el ejercicio tiene también un efecto sobre la neurotransmisión e influye en la expresión de receptores a glutamato como lo es el rAMPA en neuronas en el estriado, además reduce la formaciones glutamatérgicas aberrantes y restaura la función de circuitos cortico-estriado, debido a que el ejercicio como lo es el nado tiene la capacidad de incrementar la disponibilidad de biomoléculas que intervienen en la formación de conexiones sinápticas en respuesta de una demanda energética, elimina el material de desecho, mantiene la homeostasis, incrementa los niveles y difusión de factores tróficos como el BDNF, ocasiona modificaciones de la barrera hematoencefálica, (Foley & Fleshner, 2008; Petzinger et al., 2015).

## JUSTIFICACIÓN

Debido a aspectos éticos no se han estudiado a profundidad los mecanismos de una terapia motora como la neurohabilitación implementada en neonatos prematuros diagnosticados con leucomalacia periventricular en la Unidad de Investigación de Neurodesarrollo del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Es necesario recurrir a los distintos trabajos que han demostrado las homologías y diferencias en el desarrollo de los OL's entre la rata y el humano (Back & Rivkees, 2004; Craig et al., 2003), los cuales han permitido describir distintos elementos presentes en la patología de la leucomalacia periventricular. Distintos grupos de investigación han postulado ya distintos tratamientos exógenos para la LPV (Fields, 2010; Verkhatsky & Kirchhoff, 2007). En algunos trabajos se ha demostrado el papel de los factores tróficos al ser administrados directamente en el cuerpo calloso para atenuar la lesión y promover la diferenciación de nuevas células (Espinosa-Jeffrey et al., 2013). Igualmente los factores tróficos también se pueden incrementar de manera endógena con el ejercicio motor o actividad motora voluntaria y forzada, ya que aumentan las concentraciones de factores tróficos y de la proliferación celular (Kim et al., 2014). Sin embargo, aún no se sabe si en modelos animales neonatales con lesión excitotóxica en la sustancia blanca la actividad motora inducida en una etapa temprana puede tener un efecto benéfico en el desarrollo de la sustancia blanca, el desarrollo motor y el desarrollo cognitivo.

## **HIPÓTESIS**

H1: El nado forzado inducido del día 7 al 30 posnatal disminuirá la actividad motora espontánea provocada por la lesión con ácido-N-Metil-D-aspartato en el cuerpo calloso de la rata de 5 días de edad.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto del nado forzado sobre la actividad motora espontánea de ratas con lesión excitotóxica del cuerpo calloso en el día 5 posnatal.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Evaluar la actividad motora espontánea de ratas con lesión excitotóxica en el cuerpo calloso realizada el día 5 posnatal.
2. Evaluar el efecto del nado forzado inducido del día 7 al 30 posnatal sobre la actividad motora espontánea de ratas con lesión excitotóxica en el cuerpo calloso realizada el día 5 posnatal.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El protocolo experimental del presente proyecto se realizó de acuerdo a las normas estipuladas en "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (National Research Council, 2011), a la (NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, 2001) y a los lineamientos del comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM (Protocolo aprobado el día 11 de Mayo de 2015 con el número 87A).

### **Sujetos**

Se utilizaron ratas machos de la cepa Sprague Dawley de 5 días de edad, todas las ratas permanecieron en lactancia con su madre hasta el día 21 del destete. Manteniendo las condiciones durante el desarrollo del experimento. Se distribuyeron las camadas para que cada hembra amamantara 6 crías macho.

### **Cirugía estereotáxica**

Las ratas se sometieron a una intervención quirúrgica en el día 5 posnatal. Las ratas neonatas fueron anestesiadas induciendo una disminución en su temperatura corporal, colocando la rata en hielo durante 10 minutos. Se utilizó cloruro de benzalconio como antiséptico para esterilizar el material quirúrgico y la zona a incidir. Ya anestesiada la rata se fijo en un adaptador para rata neonata (diseñado en el laboratorio B-04 del Instituto de Neurobiología, UNAM) para el aparato estereotáxico (Hagberg et al., 2002; Sierra et al., 2009). Se identificó la línea medial del cráneo y Bregma con ayuda de una lámpara de luz blanca y se tomaron las siguientes coordenadas a partir del punto Bregma (Khazipov et al., 2015): Antero Posterior: -1 mm, Medial-Lateral -1 mm para la mitad de cada grupo y +1 mm para la otra mitad de cada grupo, con la finalidad de contrabalancear la lesión en el hemisferio preferencial en los grupos.

El cráneo se perforó con una aguja de insulina con ayuda de la torre del aparato estereotáxico cuidando de no perforar mas de 1 mm, se introdujo un microinyector hasta el cuerpo calloso: Dorso-Ventral: 2 mm (Chen, Dimambro, & Clowry, 2008;

Heller, Hutchens, Kirby, Karapas, & Fernandez, 1979; Ramachandra & Subramanian, 2011).

### **Lesión por excitotoxicidad, administración de NMDA**

Se preparó una dilución de 4 µg de NMDAsigma® (PM=147.1289 gr) en un volumen de 2µl de PBS al 1X. Mediante una jeringa Hamilton de 10 µl, se inyectó 2 µl de solución del agonista de rNMDA: NMDA/PBS por 3 minutos, al final de la administración la aguja permaneció 2 minutos para garantizar la difusión antes de removerla (Chen et al., 2008; Webber et al., 2009). Se limpió la herida en la piel del cráneo con antisépticos y la rata se colocó en una placa térmica durante 60 minutos. Se verificó el bienestar y la recuperación de su temperatura corporal, e inmediatamente se procedió a devolverse a su madre (Sierra et al., 2009).

### **Inducción de actividad motora mediante el nado forzado**

Los grupos se sometieron al ejercicio forzado por medio del “nado forzado”. La actividad comenzó en el día 7 posnatal en los 3 grupos de nado (Intacto-Nado-Forzado, Veh-Nado-Forzado y NMDA-Nado-Forzado). La prueba consistió en dos sesiones de 5 minutos de nado del día 7 al 9 de edad, posteriormente se incrementó el tiempo de cada sesión a 10 minutos realizando dos sesiones diarias del día 10 al 30 de edad (Ra et al., 2002), con un total de 24 días consecutivos de sesiones de nado. El agua se mantuvo a una temperatura entre 23-25°C (Jefferys & Funder, 1994). Para evitar un estrés inducido por factores externos que pudieran reflejarse en la prueba de nado forzado, las ratas se manipularon con las siguientes condiciones: 1) Se evitó el aislamiento social 2) Se mantuvieron en lactancia en los periodos normales y una dieta *Ad libitum* (Ra et al., 2002). 3) y en la prueba de nado forzado se cambió el agua para cada individuo (Abel, 1993).

## **Actividad motora espontánea en campo abierto**

Se registró la distancia recorrida y movimientos horizontales en el campo abierto mediante el sistema automatizado VersaMax (AccuScanInstrument, INC., Columbus, OH), que registra la actividad de la rata a través de una red de haz de luz de rayos infrarroja en los ejes "X y Y". La cámara es de acrílico transparente y cuenta con una tapa por la cual se introduce a la rata y posee las siguientes dimensiones: 40.5 cm de largo, 40.5 cm de ancho y 25 cm de profundidad. La información del experimento se registra por medio de una computadora externa a la habitación experimental por medio del software VersaMax. Las ratas fueron expuestas en el día 25, 30 y 40 días de edad por 30 minutos con registro de eventos cada 5 minutos.

## **Sacrificio**

Se realizó el sacrificio a la edad de 41 días posnatal. Las ratas fueron anestesiadas con una dosis letal de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, una vez que aseguramos que la rata se encontraba en estado anestésico, es decir que no reaccionaba a estímulos dolorosos se realizó la decapitación.

## **Diseño experimental**

Se formaron tres grupos: 1) grupo lesionado inyectando la dosis de 4  $\mu\text{g}$ / 2  $\mu\text{l}$  de NMDA, con la finalidad de producir una lesión moderada en la sustancia blanca del cuerpo calloso y zonas periventriculares; las inyecciones se realizaron en el hemisferio con preferencia de lateralidad. 2) grupo que recibió vehículo y 3) grupo que no fue tratado. Cada uno de los grupos se subdividió a su vez en dos subgrupos; los que fueron sometidos a nado forzado (NMDA-Nado-Forzado, Vehículo-Nado-Forzado e Intacto-Nado-Forzado) y los grupos sedentarios (NMDA-Sedentario, Vehículo-Sedentario e Intacto-Sedentario). Se evaluó el desarrollo motor y cognitivo en los distintos grupos con: distancia recorrida (cm), movimientos verticales (frecuencia) y el tiempo de habituación en la prueba de "actividad motora espontánea" en campo abierto en los días 25, 30 y 40 de edad. Para cada una de



las edades se obtuvieron los valores de distancia total recorrida cada 5 minutos hasta la media hora. En forma similar se obtuvieron cada 5 minutos en los valores de la actividad vertical. Por último, los sujetos fueron sacrificados mediante decapitación el día 41.

### **Análisis estadístico**

Los registros obtenidos mediante el software VersaMax (AccuScanInstrument, INC., Columbus, OH), se dividieron en dos bases de datos, una para almacenar los resultados de la distancia total recorrida y otra para la actividad vertical. Para analizar la normalidad y la distribución de los datos se utilizó la prueba Kolmogórov-Smirnov. El análisis de los datos con distribución normal se realizó con una prueba de comparación de varianzas mediante la prueba de ANOVA de medidas repetidas de 2 vías, grupos (Intacto-Sedentario, Vehículo-Sedentario, NMDA-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Nado-Forzado y NMDA-Nado-Forzado) y tiempo (5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos). Se realizaron ANOVAS independientes para cada edad (P25, P30 y P40) Se usó la prueba Bonferroni como post-hoc para corrección de comparaciones múltiples en la obtención de los valores de probabilidad en las comparaciones intergrupales y a través del tiempo.

## RESULTADOS

### Actividad motora espontánea

Se registró la actividad motora espontánea de todos los grupos en las tres edades descritas con anterioridad (P25, P30, P40), con el objetivo de analizar el desarrollo motor y el impacto de la lesión excitotóxica en la ventana vulnerable del desarrollo de los OL's. Los registros se realizaron cada 5 minutos en un periodo de 30 minutos por sesión con el software VersaMax (AccuScanInstrument, INC., Columbus, OH), por el medio del cual se registró la actividad horizontal cuantificada como la distancia recorrida (cm/min) y la actividad motora vertical que se registró como el número de movimientos verticales (frec/min).

### Distancia total recorrida

Todos los grupos quedaron conformados con una n=8. Con el objetivo de verificar que los datos tuvieran una distribución normal se utilizó la prueba de "Kolmogorov-Smirnov". Todos los grupos mostraron una distribución normal de la variable "distancia total recorrida". Dado que los datos cumplieron la normalidad se realizó una prueba paramétrica para comparación de varianzas ANOVA entre tiempo (5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos) y grupos (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) de medidas repetidas como se describió anteriormente.

### P25

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P25 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $F_{(5, 42)} = 16.59$ ,  $p < 0.0001$ ) (Figura 13, Tabla 2 y 3), en los valores de interacción entre el factor grupos (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) se obtuvieron diferencias significativas ( $F_{(25, 210)} = 2.163$ ,  $p < 0.005$ ). En la figura 13 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 2 se

muestra los valores medios y la desviación estándar. Se puede observar que todos los grupos presentaron habituación, ya que los valores son mayores a los 5 minutos que a los 30. Por otra parte, la Tabla 3 muestra las comparaciones entre grupos que fueron significativas a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Llama la atención que a los 5 y 10 minutos existieron valores significativos entre el grupo lesionado sedentario y el grupo lesionado con nado forzado, con mayor distancia recorrida el grupo lesionado sedentario. Los grupos NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado presentan diferencias a los 5 y 10 minutos. Ambos grupos presentaron diferencias con respecto a los grupos controles, el grupo NMDA-Sedentario a lo largo de los 30 minutos y el grupo NMDA-Nado-Forzado solo a partir de los 10 minutos y dejó de presentar diferencias con respecto a los grupos controles a los 30 minutos.

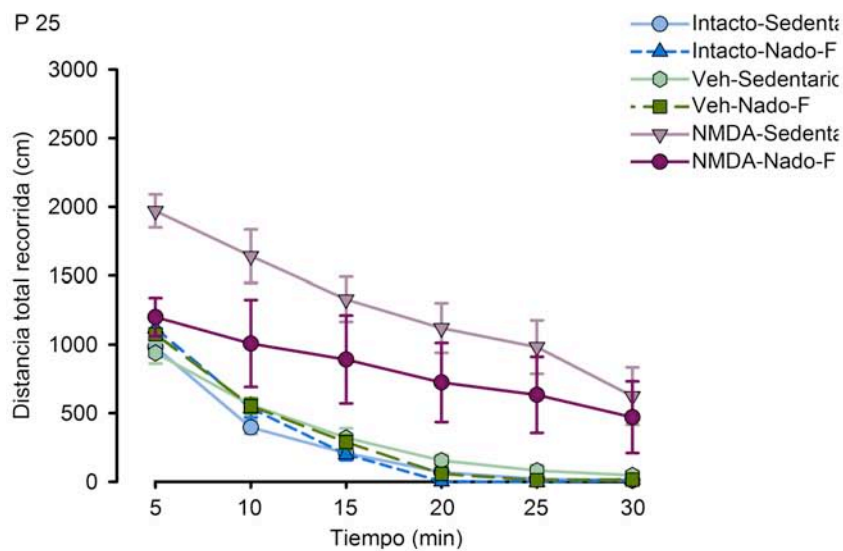


Figura 13. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida (cm/min) en P25.

**Tabla 2. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida durante la prueba de actividad motora espontánea en P25.**

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	983.875 ± 71.235	398.500 ± 46.725	211.500 ± 33.819	72.125 ± 35.353	23.500 ± 21.800	13.000 ± 8.592
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1120.250 ± 99.941	538.125 ± 65.916	203.125 ± 43.027	4.625 ± 1.861	1.500 ± 0.926	14.625 ± 14.056
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	941.375 ± 77.562	562.625 ± 51.873	323.125 ± 69.559	157.500 ± 42.138	83.875 ± 41.300	50.125 ± 32.383
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1077.250 ± 34.489	553.875 ± 52.936	291.125 ± 48.191	61.500 ± 21.799	13.750 ± 11.172	18.750 ± 18.046
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	1970.750 ± 120.124	1642.125 ± 194.051	1329.750 ± 162.968	1121.750 ± 180.639	983.750 ± 194.639	626.250 ± 208.770
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1346.125 ± 138.922	1291.875 ± 297.787	999.500 ± 244.191	726.000 ± 288.154	610.500 ± 208.411	467.750 ± 192.238

**Tabla 3. Comparación entre grupos de la distancia total recorrida. Valores significativos en el día 25 posnatal.**

Tiempo	Comparaciones	Valor F	Probabilidad
5 min	NMDA-S vs. NMDA-N-F	F (5, 42) = 15.32	P < 0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
10 min	NMDA-S vs. NMDA-N-F		< 0.0001
	Intacto-S vs. Intacto-N-F		0.0136
	Intacto-N-F vs. Lesión-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-NF vs. NMDA-S		< 0.0001
15 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-N-F		0.0033
	Intacto-NF vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-NF vs. NMDA-N-F		0.0028
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-N-F		0.0289
	Veh-NF vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-NF vs. NMDA-N-F		0.016
20 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-N-F		0.0058
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Intacto-N-F vs. NMDA-N-F	0.0014	
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-S vs. NMDA-N-F	0.0296	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-N-F	0.0047	
25 min	Intact-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Intacto-S vs. NMDA-N-F	0.0133	
	Intacto-N-F vs. NMDA-N-F	< 0.0001	
	Veh-S vs. Veh-N-F	0.0087	
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-S vs. NMDA-N-F	0.0401	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-N-F	0.011	
30 min	Intacto-S vs. NMDA-S	0.0049	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	0.0051	
	Veh-S vs. NMDA-S	0.0109	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	0.0056	

### P30

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P30 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $F_{(5, 42)} = 12.76, p < 0.0001$ ). (Figura 14, Tablas 4 y 5). En los valores de interacción entre el factor grupo (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) no se observaron diferencias significativas ( $F_{(25, 210)} = 1.075, p = 0.3740$ ). En la figura 14 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 4 se muestra los valores medios y la desviación estándar. En la tabla 5 las se observan las comparaciones entre grupos, el grupo NMDA-Sedentario mostró valores significativos mayores que los de los restantes grupos. Sin embargo, la comparación con el grupo NMDA-Nado-Forzado solamente fue significativo a los 10 minutos con los grupos Intacto-Sedentario y Vehículo-Nado-Forzado. En el resto de comparaciones a partir de los 15 minutos, el grupo NMDA-Nado-Forzado no presento diferencias significativas.

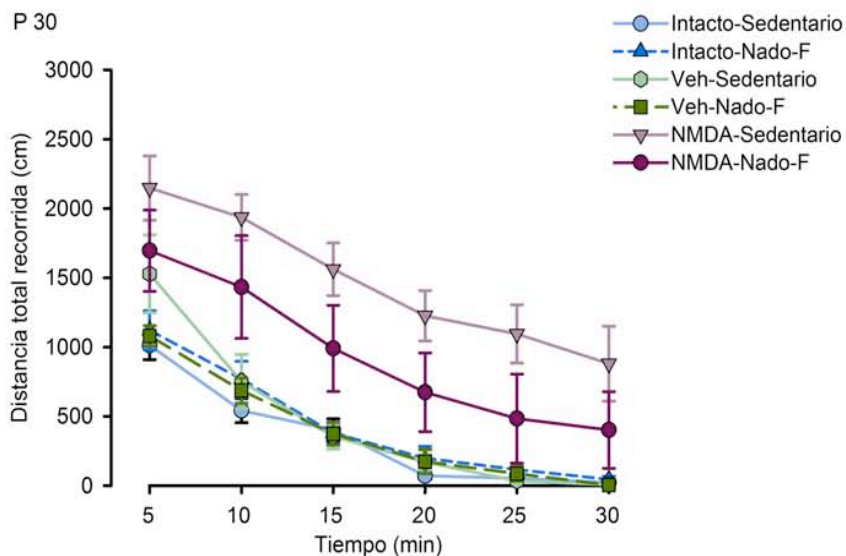


Figura 14. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida (cm/min) en P30.

**Tabla 4. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida durante la prueba de actividad motora espontánea en P30.**

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$	1008.875	538.375	398.125	68.250	49.750	18.250
	$\sigma$	± 103.956	± 87.635	± 80.629	± 24.969	± 29.075	± 12.870
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$	116.250	764.750	375.500	194.625	111.875	41.375
	$\sigma$	± 142.402	± 128.778	± 78.384	± 85.763	± 46.324	± 23.084
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$	1524.000	748.250	351.625	166.500	30.500	3.125
	$\sigma$	± 281.520	± 195.316	± 91.201	± 56.376	± 26.166	± 2.216
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$	1076.875	682.625	370.375	170.000	82.875	0.500
	$\sigma$	± 73.073	± 91.123	± 81.799	± 86.308	± 52.787	± 0.378
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$	2144.125	1932.375	1557.375	1222.250	1091.000	876.750
	$\sigma$	± 231.842	± 165.764	± 190.223	± 181.458	± 210.357	± 269.891
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$	1692.000	1429.167	986.500	670.333	480.667	398.000
	$\sigma$	± 293.489	± 370.721	± 311.270	± 283.714	± 320.910	± 276.609

**Tabla 5. Comparación entre grupos de la distancia total recorrida. Valores significativos en el día 30 posnatal.**

<b>Tiempo</b>	<b>Comparaciones</b>	<b>Valor F</b>	<b>Probabilidad</b>
5 min	Intacto-S vs. NMDA-S	F (5, 42) = 12.76	< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
10 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-N-F		0.003
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-N-F		0.0264
15 min	Intact-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
20 min	Intacto-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
25 min	Intacto-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	0.0002	
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
30 min	Intacto-S vs. NMDA-S	0.0017	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	0.0025	
	Veh-S vs. NMDA-S	0.0013	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	0.0012	



## P40

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P40 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $F_{(5, 42)} = 8.424$ ,  $p < 0.0001$ ). (Figura 15, Tablas 6 y 7). En los valores de interacción entre el factor grupo (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) no se obtuvieron diferencias significativas ( $F_{(25, 210)} = 0.7659$ ,  $p = 0.7659$ ). En la figura 15 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 6 se muestra los valores medios y la desviación estándar. En la tabla 7 se observa que también el grupo NMDA-Sedentario mostró valores mayores significativos que los restantes grupos y no se observaron diferencias significativas entre el grupo NMDA-Nado-Forzado y los grupos controles.

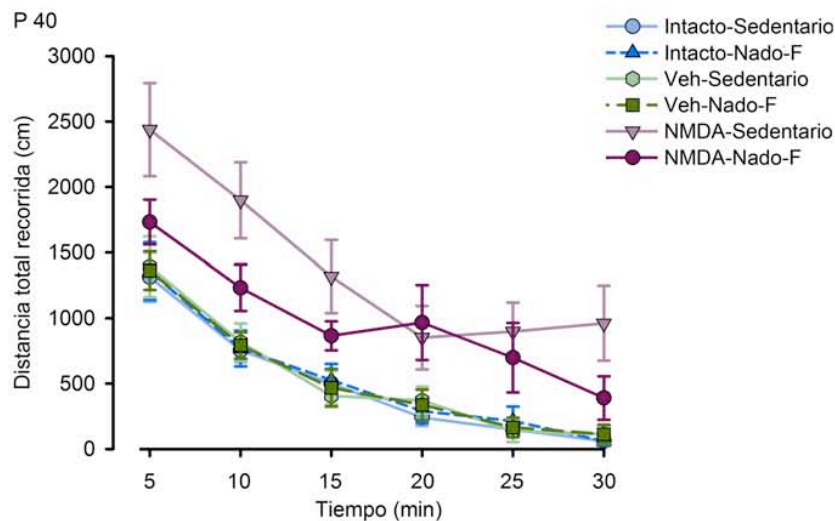


Figura 15. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida (cm/min) en P40.

**Tabla 6. Medias y desviación estándar de la distancia total recorrida durante la prueba de actividad motora espontánea en P40.**

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	1319.250 ± 187.333	759.125 ± 90.312	505.000 ± 99.752	244.750 ± 64.347	152.625 ± 55.765	64.875 ± 33.295
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1364.625 ± 219.166	773.625 ± 137.784	531.750 ± 123.060	293.000 ± 90.513	218.250 ± 110.130	64.375 ± 35.706
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	1398.125 ± 230.340	822.625 ± 142.362	411.250 ± 65.727	375.250 ± 105.706	143.000 ± 84.839	117.625 ± 75.621
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1368.000 ± 146.989	797.000 ± 100.365	472.375 ± 144.129	342.000 ± 116.872	168.875 ± 74.542	116.875 ± 69.028
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	2444.750 ± 356.599	1905.000 ± 289.545	1323.125 ± 279.631	856.625 ± 243.954	903.625 ± 222.309	966.750 ± 286.758
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	1738.333 ± 171.679	1237.500 ± 177.274	870.500 ± 111.127	972.333 ± 286.659	703.333 ± 266.518	394.833 ± 166.300

**Tabla 7. Comparación entre grupos de la distancia total recorrida. Valores significativos en el día 40 posnatal.**

Tiempo	Comparaciones	Valor F	Probabilidad
5 min	Intacto-S vs. NMDA-S	F (5, 42) = 8.424	< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0002
	Veh-N-F vs. NMDA-S		0.0001
10 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
15 min	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0097
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0144
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0022
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0059
25 min	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0255
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0223
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.032
30 min	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0026
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	0.0026	
	Intacto-S vs. NMDA-S	0.0061	
	Intacto-S vs. NMDA-S	0.006	

## Actividad vertical

Todos los grupos quedaron conformados con una  $n=8$ . Con el objetivo de verificar que los datos tuvieran una distribución normal se utilizó la prueba de “Kolmogorov-Smirnov”. Todos los grupos mostraron una distribución normal de la variable “actividad vertical”. Dado que los datos cumplieron la normalidad se realizó una prueba paramétrica entre grupos ANOVA de medidas repetidas de dos vías para comparación de varianzas. Se realizó una prueba post-hoc de “Bonferroni” para comparaciones múltiples.

### P25

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P25 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la actividad vertical ( $F_{(5, 42)} = 6.856, p = 0.0001$ ). Los valores de interacción entre el factor grupo (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) fueron significativos ( $F_{(25, 210)} = 1.647, p = 0.0325$ ). En la figura 16 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 8 se muestra los valores medios y la desviación estándar. En la tabla 9 se observa que el registro de los minutos 20-25 registrados de la prueba el grupo NMDA-Sedentario presenta un incremento con respecto a los grupos Intacto-Sedentario, Intacto-Nado Forzado, Vehículo-Sedentario y Vehículo-Nado Forzado ( $p < 0.05$ ) (Figura 16, Tabla 8 y 9). EL grupo NMDA-Nado-Forzado solo presento diferencias a los 15 minutos con los grupos Intacto-Sedentario e Intacto-Nado-Forzado.

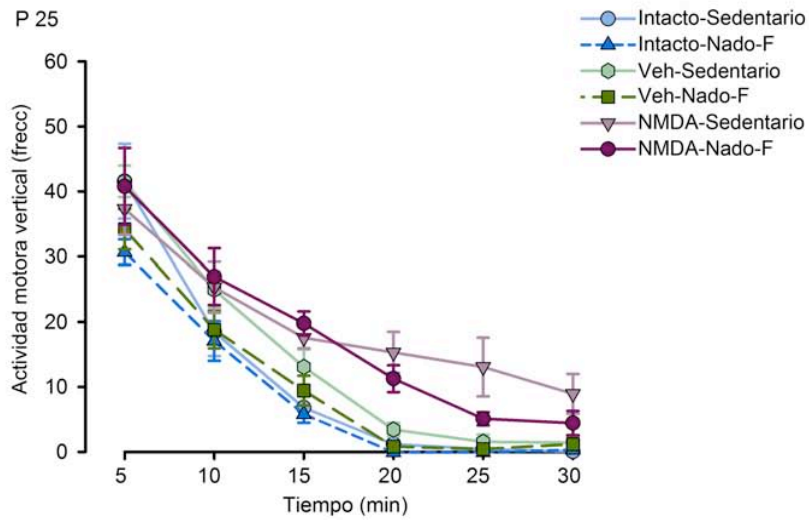


Figura 16. Medias y desviación estándar de la actividad vertical (frec/min) en P25.

Tabla 8. Medias y desviación estándar de la actividad vertical durante la prueba de actividad motora espontánea en P25.

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$	41.625	18.500	6.875	1.250	0.500	0.125
	$\sigma$	± 5.769	± 3.669	± 2.333	± 0.620	± 0.500	± 0.125
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$	30.750	17.125	5.875	0.000	0.000	0.375
	$\sigma$	± 1.962	± 3.050	± 1.342	± 0.000	± 0.000	± 0.375
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$	34.250	18.875	9.500	0.875	0.500	1.250
	$\sigma$	± 3.075	± 2.881	± 2.291	± 0.479	± 0.500	± 1.250
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$	41.625	25.000	13.125	3.500	1.625	1.500
	$\sigma$	± 2.412	± 2.777	± 2.702	± 1.052	± 1.101	± 1.000
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$	37.375	25.375	17.625	15.375	13.125	9.000
	$\sigma$	± 3.995	± 3.887	± 1.614	± 3.145	± 4.514	± 3.071
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$	35.500	24.375	18.500	10.750	8.500	5.125
	$\sigma$	± 6.196	± 4.035	± 1.813	± 1.656	± 3.168	± 1.432

**Tabla 9. Comparación entre grupos de la actividad vertical. Valores significativos en el día 25 posnatal.**

Tiempo	Comparaciones	Valor F	Probabilidad
5 min	Intacto-S vs Intacto-N-F	F (5, 42) = 6.856	0.0452
	Intacto-N-F vs. Veh-S		0.0452
15 min	Intacto-S vs. NMDA-N-F		0.0164
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0206
	Intacto-N-F vs. NMDA-N-F		0.0067
20 min	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0019
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0005
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0184
	Veh-N-F vs. NMDA-S		0.0013
25 min	Intacto-S vs. NMDA-S		0.009
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0055
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0259
	Veh-N-F vs. NMDA-S		0.009

### P30

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P30 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la actividad vertical ( $F_{(5, 42)} = 16.08$ ,  $p < 0.0001$ ), en los valores de interacción entre el factor tratamiento (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) se obtuvieron diferencias significativas ( $F_{(25, 210)} = 3.453$ ,  $p < 0.005$ ). En la figura 17 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 10 se muestra los valores medios y la desviación estándar. En la Tabla 10 se observa que el grupo NMDA-Sedentario comienza a presentar valores mayores a partir del minuto 10 con respecto a los otros grupos (Figura 16, Tabla 10 y 11). A partir del registro realizado a los 15, 20 y 30 minutos el grupo NMDA-Nado-Forzado presento diferencias con respecto al grupo NMDA-Sedentario, y a lo largo de la prueba no presento ninguna diferencia con respecto a los grupos controles.

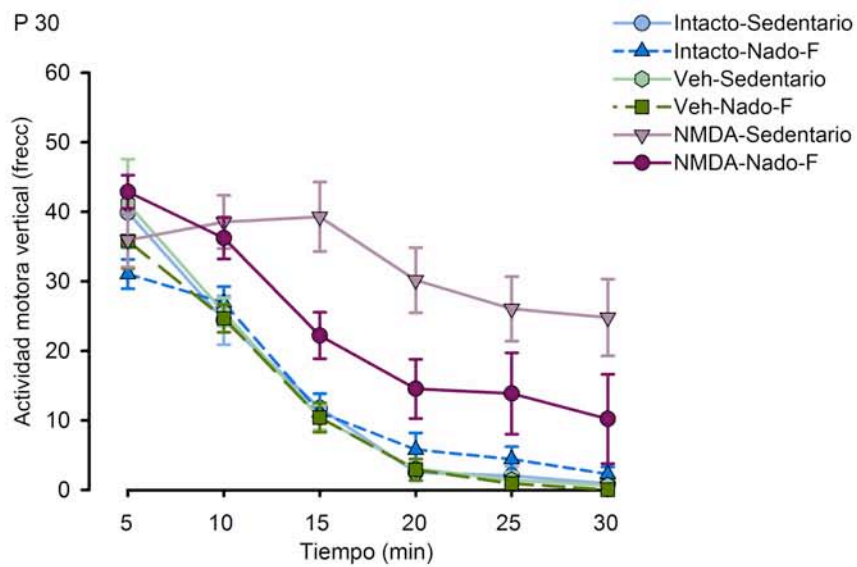


Figura 17. Medias y desviación estándar de la actividad vertical (frec/min) en P30.

Tabla 10. Medias y desviación estándar de la actividad vertical durante la prueba de actividad motora espontánea en P30.

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$	39.875	24.375	11.750	2.500	2.000	0.875
	$\sigma$	± 3.435	± 3.495	± 2.051	± 1.225	± 1.323	± 0.581
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$	31.000	26.875	11.125	5.750	4.375	2.250
	$\sigma$	± 2.121	± 2.318	± 2.695	± 2.411	± 1.822	± 1.013
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$	41.125	25.500	10.375	3.000	1.375	0.625
	$\sigma$	± 6.410	± 2.035	± 1.772	± 0.866	± 1.117	± 0.625
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$	35.750	24.625	10.375	2.875	0.875	0.000
	$\sigma$	± 3.954	± 1.990	± 2.112	± 1.540	± 0.875	± 0.000
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$	35.875	38.500	39.250	30.125	26.000	24.750
	$\sigma$	± 3.875	± 3.841	± 4.992	± 4.688	± 4.629	± 5.525
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$	42.833	36.167	22.167	14.500	13.833	10.167
	$\sigma$	± 2.386	± 3.005	± 3.321	± 4.256	± 5.850	± 6.416

**Tabla 11. Comparación entre grupos de la actividad vertical. Valores significativos en el día 30 posnatal.**

Tiempo	Comparaciones	Valor F	Probabilidad
10 min	Intacto-S vs. NMDA-S	F (5, 42) = 16.08	0.0218
	Veh-S vs. NMDA-S		0.05
	Veh-N-F vs. NMDA-S		0.0263
15 min	Intact-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	NMDA-S vs. NMDA-N-F		0.0056
20 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	NMDA-S vs. NMDA-N-F		0.0167
25 min	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
	Intacto-N-F vs. NMDA-S		< 0.0001
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
30 min	Intacto-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Intacto-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-S vs. NMDA-S	< 0.0001	
	Veh-N-F vs. NMDA-S	< 0.0001	
	NMDA-S vs. NMDA-N-F	0.0347	

## P40

El ANOVA de dos vías con medidas repetidas para el día P40 de edad mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la actividad vertical ( $F_{(5, 42)} = 5.677$ ,  $p = 0.0005$ ). En los valores de interacción entre el factor grupo (Intacto-Sedentario, Intacto-Nado-Forzado, Vehículo-Sedentario, Vehículo-Nado-Forzado, NMDA-Sedentario y NMDA-Nado-Forzado) y el factor tiempo (5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos, 25 minutos y 30 minutos) se obtuvieron diferencias significativas ( $F_{(25, 210)} = 2.038$ ,  $p < 0.005$ ). En la figura 18 muestra el comportamiento de los diferentes grupos a través del tiempo y en la tabla 12 se muestra los valores medios y la desviación estándar. En la Tabla 12 se observa que el grupo NMDA-Sedentario comienza a presentar valores mayores a partir del minuto 15 en comparación con los grupos Intacto-NF, Veh-S y Veh-NF. La



presencia de valores mayores es mas evidente a partir del minuto 25 con respecto a los grupos Intacto-S, Intacto-NF, Veh-S, Veh-NF. (Figura 17, Tabla 12 y 13). A lo largo de la prueba el grupo NMDA-Nado-Forzado solo presento diferencias a los 10 minutos con el grupo Intacto-Nado-Forzado y a los 15 minutos con el grupo Vehículo-Sedentario, el grupo NMDA-Sedentario presento mayores valores con respecto a los grupos controles a partir del registro a los 20 minutos.

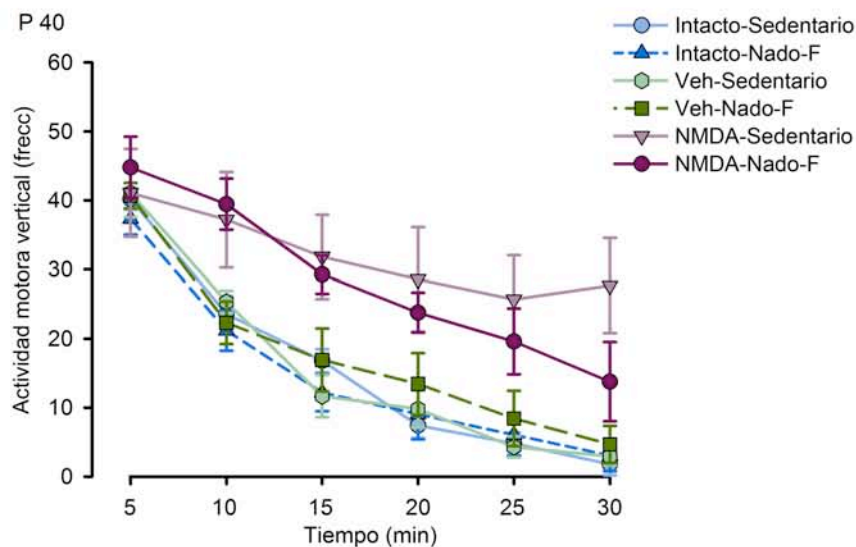


Figura 18. Medias y desviación estándar de la actividad vertical (frec/min) en P40.

Tabla 12. Medias y desviación estándar de la actividad vertical durante la prueba de actividad motora espontánea en P40.

ID		5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	25 minutos	30 minutos
Intacto-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	40.250 ± 1.556	23.625 ± 2.618	16.875 ± 1.684	7.500 ± 1.842	4.875 ± 1.608	1.875 ± 1.597
Intacto-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	37.375 ± 2.314	21.250 ± 2.932	12.250 ± 2.698	9.125 ± 3.662	6.125 ± 3.056	3.125 ± 2.295
Vehículo-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	41.125 ± 3.517	25.375 ± 1.592	11.750 ± 3.063	9.875 ± 2.676	4.375 ± 1.535	3.000 ± 1.296
Vehículo-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	40.750 ± 1.840	22.375 ± 3.093	17.000 ± 4.555	13.500 ± 4.480	8.500 ± 4.000	4.750 ± 2.698
NMDA-Sedentario	$\bar{m}$ $\sigma$	41.125 ± 6.371	37.250 ± 6.907	31.875 ± 6.090	28.625 ± 7.557	25.750 ± 6.349	27.750 ± 6.878
NMDA-Nado-F	$\bar{m}$ $\sigma$	44.833 ± 4.460	39.500 ± 3.704	29.833 ± 2.765	23.833 ± 2.880	19.667 ± 4.752	13.833 ± 5.753



**Tabla 13. Comparación entre grupos de la actividad vertical. Valores significativos en el día 40 posnatal.**

<b>Tiempo</b>	<b>Comparaciones</b>	<b>Valor F</b>	<b>Probabilidad</b>
10 min	Intacto-N-F vs. NMDA-N-F	F (5, 42) = 5.677	0.0324
15 min	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0058
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0041
	Veh-S vs. NMDA-N-F		0.0465
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.002
20 min	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0063
	Veh-S vs. NMDA-S		0.0102
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0024
25 min	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0058
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0017
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0262
	Intacto-S vs. NMDA-S		< 0.0001
30 min	Intacto-N-F vs. NMDA-S		0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0001
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0005
	Intacto-S vs. NMDA-S		0.0005

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos apoyan ampliamente la hipótesis en el sentido de que las ratas con lesión excitotóxica en el CC en el día 5 posnatal que a las cuales se indujo al nado forzado lograron disminuir la actividad motora espontánea aumentada que se observó en el grupo con la misma lesión y se mantuvieron en su caja habitación y sin ejercicio. El hecho de que el ejercicio tiene un efecto benéfico en la recuperación de lesiones en el sistema nervioso como se detalló en la introducción. Sin embargo, el incremento en la actividad motora espontánea después de una lesión cerebral requiere una discusión, así como los posibles mecanismos de recuperación propuestos que se han observado en modelos experimentales en ratas después de una lesión y su relación en el desarrollo.

### **Mecanismos que pudieran explicar la hiperactividad a partir de una lesión cerebral.**

Es probable que la hiperactividad sea consecuencia de la misma lesión excitotóxica como se ha observado en ratas con la lesión producida en el hipocampo ventral con ácido iboténico desarrollando un incremento de la actividad motora espontánea (Lipska, Al-Amin, & Weinberger, 1998), efectos similares se han observado al inyectar en la corteza medio frontal ácido iboténico, el cual incrementa la actividad dopaminérgica (Brake et al., 2000) debido a la alteración del control inhibitorio, lo que ha permitido el uso de modelos de hipoxia en rata con 7 días de edad para el desarrollo de déficit de atención (Miguel et al., 2015).

Es posible que observamos un efecto similar a los estudios con modelos animales donde se ve involucrado el sistema dopaminérgico, en ellos se han presentado incrementos en su actividad en campo abierto, en estos modelos principalmente se ha estudiado el papel de las neuronas de la sustancia nigra en el control de la actividad motora y su interacción con la corteza medio-frontal (Fan et al., 2005), esta región se caracteriza por la expresión de receptores a ácido- $\gamma$ -aminobutírico-tipo b (GABA<sub>b</sub>) que se expresan en las terminales presinápticas de neuronas excitatorias como en neuronas inhibitorias las cuales modulan y regulan la actividad de neuronas dopaminérgicas (Balla et al., 2009).

El modelo de lesión excitotóxica en el CC a la edad de P5, se basa en la lesión directa en la sustancia blanca, que puede llegar a alterar el sistema inhibitorio, ya que tienen una interacción directa con las proyecciones de neuronas glutamatérgicas corticales, mielinizadas durante el desarrollo, en esta relación se ha demostrado que el sistema inhibitorio puede verse modificado debido a la alteración de la mielina de las proyecciones de neuronas glutamatérgicas (Takahashi, Sakurai, Davis, & Buxbaum, 2011). De manera similar puede presentarse en modelos con hipoxia-isquemia por ligadura o por privación de oxígeno, estos modelos animales desarrollan anomalías en la microestructura de la sustancia blanca, comisura anterior, fornixhipocampal, disminución en el volumen del hipocampo y principalmente una disminución en el volumen del cuerpo calloso (Beauchamp et al., 2008; Counsell et al., 2008) e incrementos en su actividad motora en campo abierto (Lubics et al., 2005).

Las alteraciones de la mielina ponen en riesgo la integridad de los tractos axonales, la disminución de la mielina por la lesión en la sustancia blanca incrementa la proteína  $\beta$ -amiloide en los tractos axonales del cuerpo calloso y de la cápsula interna (Flygt, Djupsjo, Lenne, & Marklund, 2013). Esto puede conllevar a la disminución de la comunicación neuronal y de la transmisión de los estímulos (Wang et al., 2008; Salmaso, Tomasi, & Vaccarino, 2014), alterando la capacidad de respuesta de la transmisión eléctrica neuronal (Zhang et al., 2013), originando cambios en el sistema de transporte retrógrado de vesículas a causa de las alteraciones en los microtúbulos, lo que puede provocar la acumulación de organelos transportados por las dineínas (Edgar et al., 2004). Esto conlleva a la disminución de la inhibición en las neuronas dopaminérgicas por la modificación en la estimulación de neuronas inhibitorias, provocando un incremento de los niveles de dopamina en las regiones del estriado y la corteza medio frontal (Brake et al., 2000; Takahashi et al., 2011). Esta evidencia sugiere que el incremento de la actividad motora espontánea observada también en otros modelos con afecciones en el sistema inhibitorio y dopaminérgico está relacionada con las alteraciones en el desarrollo de los OL's (Takahashi et al., 2011).

La relación de la sustancia blanca y la hiperactividad es más evidente en el modelo de arresto de la mielina por medio de la administración de cuprizona en el alimento durante 12 semanas en ratones adultos. Este modelo también presenta un incremento de su actividad motora espontánea, debido a que la cuprizona genera pérdida de mielina en el CC, la corteza y en la zona subventricular, conllevando afecciones en la locomoción y déficit en las tareas de memoria espacial (Zhang et al., 2012). A esto se le agrega la presencia de un incremento en los niveles de dopamina en el SNC (Xu et al., 2009). Por lo tanto es posible que el incremento de la actividad motora espontánea del grupo “NMDA-sedentario” sea consecuencia no solo de la pérdida neuronal en el momento de la lesión excitotóxica en el CC, sino también por la pérdida de sustancia blanca, afectando al resto de neuronas, puesto que las perturbaciones en el desarrollo de los OL’s afectan la entrega oportuna de los componentes presinápticos, como las enzimas y proteínas que controlan la liberación vesicular regulada por  $Ca^{+2}$  de las neuronas excitatorias (Nave, 2010).

### **Mecanismos plásticos que pudieran explicar la disminución de la hiperactividad por el ejercicio.**

Los resultados de los registros del campo abierto mostraron los efectos por la lesión en el día 5 posnatal con NMDA en el CC de la rata a la edad de P25, P30 y P40. Lo primero que se pudo apreciar fue que el grupo al cual se le realizó una lesión y se mantuvo durante su desarrollo en su caja habitación (NMDA-Sedentario), presentó a la edad de P25 valores mayores en la distancia total recorrida a lo largo de los 30 minutos en comparación con los grupos controles. Este efecto no es tan evidente en la actividad vertical donde solo presentó incremento de los 15 a los 25 minutos. Incrementos similares en la actividad motora espontánea en campo abierto se han observado en otros modelos de lesiones en ratas neonatas, como en el modelo de hipoxia-isquemia (Delcour et al., 2012) o en la lesión de la corteza medio-frontal con NMDA (Salazar, White, Lacroix, Feldon, & White, 2004). En las ratas, las lesiones en estructuras cerebrales motoras no ocasionan la pérdida de la funcionalidad, al igual que en el humano se ha podido apreciar una recuperación de sus funciones motoras después una lesión como una decorticación (Umeda, Takahashi, Isa, & Isa, 2010; Barth & Stanfield, 1990), Esto marca una diferencia en la que podemos

encontrar en el modelo de lesión en rata neonata en comparación con los humanos, los cuales presentan de distinta forma las afecciones motoras (Back, 2014).

En la rata se han descrito una mayor plasticidad ante la presencia de lesiones, como el desarrollo de proyecciones aberrantes en el núcleo rojo y en la bifurcación piramidal posterior a una decorticación de manera unilateral a la edad de 5 días posnatal. Durante su desarrollo las ratas recuperaron su función motora gracias a que se formaron vías aberrantes en los tractos cortico-retículo-espinal a partir del hemisferio contralateral de la lesión y se logró tener control ipsilateral medular a través de las vías de las interneuronas espinales, demostrando la capacidad de la rata a la recuperación motora ante una lesión (Umeda, Takahashi, Isa, & Isa, 2010). Estos resultados pueden sugerir una alta plasticidad después de una lesión y podrían explicar una compensación en los grupos con lesión para no perder su capacidad motora después de la lesión excitotóxica unilateral.

Las alteraciones mencionadas pueden llegar a repercutir en alteraciones cognitivas. El proceso cognitivo de la habituación se considera un aprendizaje no asociativo. Los registros de todos los grupos a la edad de P25, P30 y P40 presentaron una disminución de su actividad ya que el registro de los 5 minutos fue mayor que el de los 30 minutos tanto para la distancia total recorrida como para la actividad vertical. Por lo que se puede considerar esta conducta como normal debido a que la habituación se presenta en todas las especies desde los protozoarios hasta los mamíferos, al presentarse un estímulo constante y de manera repetida, disminuye la respuesta ante el estímulo en el transcurso del tiempo (McGaugh, 1973).

En nuestro modelo animal de lesión excitotóxica se puede alterar el desarrollo de la sustancia blanca en el cerebro de la rata, la pérdida o la interrupción del desarrollo de la mielina puede tener repercusiones en la integridad neuronal, ya que las ratas neonatas se encuentran en la etapa de maduración de los tractos axonales, en este periodo se presenta una interacción directa de los axones con los OL's para el establecimiento del grosor del calibre axonal, presentándose ante la ausencia de la mielina la reducción considerable del calibre axonal (Sanchez, Hassinger, Paskevich, Shine, & Nixon, 1996). Asimismo es probable que la pérdida de las fibras axonales ante un evento de lesión no solo sea consecuencia de la muerte

neuronal por la excitotoxicidad, sino que puede ser consecuencia por la disminución de los OL's (Dammann, Hagberg, & Leviton, 2001), como se observó en los modelos de hipoxia-isquemia por ligadura donde se presenta una degeneración axonal en el cuerpo calloso, cápsula interna y en la sustancia blanca de la corteza somatosensorial (Delcour et al., 2012) debido a que los OL's son un elemento fundamental para el metabolismo axonal (Fern, Matute, & Stys, 2014). Esta degeneración axonal se ha observado en bebés prematuros humanos con lesiones quísticas de la sustancia blanca cortical y subcortical, en ellos se presentan anomalías que conducen a la eliminación sustancial de axones y células gliales conllevando a una pérdida de neuronas afectando en el desarrollo motor y cognitivo (Back, 2014).

El ejercicio aeróbico no solo puede estar incrementando las proteínas involucradas en las estructuras sinápticas en la corteza motora y el estriado (Garcia et al., 2012), además de la regulación del sistema glutamatérgico y dopaminérgico (Foley & Fleshner, 2008; Petzinger et al., 2015). Una proliferación de OL's puede estar siendo estimulada por la misma actividad neuronal, la cual es un elemento que incrementa la proliferación de los OL's como sucede en el tracto del nervio óptico donde se incrementa la proliferación de pre-OL's ante la activación de la transmisión del potencial de acción neuronal (Barres & Raff, 1993). Pudiera estar ocurriendo un rescate de la mielina mediante la estimulación motora similar a lo observado en la utilización de estimulación fotónica directa en neuronas de la corteza M2 con expresión de rodopsinas (receptores fotónicos), la estimulación neuronal produce un incremento en la mielinización y en el grosor de la vainas de mielina de las fibras de los tractos cortico-corticales y cortico-espinales derivado de la actividad neuronal (Gibson et al., 2014). A lo anterior se apoyan el incremento de la conducción del potencial de acción por el aumento de la mielinización a lo largo de los tractos, esto mejora la integración de la información de manera más eficiente en las regiones cerebrales más relevantes, apoyando la idea de que la mielinización es un mediador de la plasticidad cerebral que es dependiente de la estimulación a una determinada actividad (Takahashi et al., 2011).

Esto sugiere que la actividad neuronal estimulada durante el nado forzado en el grupo "NMDA-Nado-Forzado" podría promover la mielinización de las neuronas que

después del posible arresto y/ó pérdida de células progenitoras de OL's. Un efecto similar pudiera explicar parte de nuestros resultados es lo observado en el efecto reversible de la administración de la cuprizona en el alimento, al retirar la cuprizona y después de 4 semanas de recuperación las ratas disminuyen los valores de la actividad motora espontánea y presentan recuperación de la mielina en el CC y la corteza, debido a que no se ven afectadas las células progenitoras de OL's y se puede restablecer la mielina (Zhang et al., 2012).

De manera contraria otros protocolos donde se ha utilizado el nado forzado no han observado resultados conductuales favorables, tal es el caso del modelo de inducción de nado forzado en madres gestantes para prevenir las alteraciones conductuales ocasionadas por un evento de hipoxia-isquemia en el día 7 posnatal de sus crías, tanto las ratas de madres sedentarias como las ejercitadas presentan incremento en su actividad motora espontánea (Marcelino et al., 2016). Igualmente no se ha observado resultados favorables en ratas machos adultas (220-250g) con lesión excitotóxica en la corteza medio-frontal e inducidas 4 meses después al nado forzado durante 15 minutos, en un solo ensayo (Jaskiw & Weinberger, 1992).

En nuestro grupo de "NMDA-Nado-Forzado", la exposición de las crías neonatas al ejercicio a partir del día 7 posnatal, 2 días después de la lesión en el día 5 posnatal puede estar actuando benéficamente como se ha observado en ratas entre 10 y 12 semanas posnatal, a las cuales se les produjo una lesión estriatal isquémica y 24 horas después se les permitió realizar ejercicio voluntario, ejerciendo un efecto de atenuación de la lesión y se presenta una proliferación celular en la zona periventricular y en el giro dentado del hipocampo (Komitova, Zhao, Gidö, Johansson, & Eriksson, 2005).

La posible recuperación puede ser observada a partir de la edad P30, debido a que en esta edad el grupo "NMDA-Nado-Forzado" presentó los valores mayores con diferencias estadísticamente significativos en comparación con los grupos controles en la distancia total recorrida y en la actividad vertical, efecto que se mantiene a la edad de P40. En la (Tabla 1), podemos observar que a partir de la edad de P24 se presenta en una rata sin lesión la completa asignación y desarrollo de la mielina en distintas estructuras cerebrales entre ellas el CC (Downes & Mullins, 2014),

podemos considerar que ambos grupos lesionados no presentan una asignación completa de estas estructuras a la edad de P25 presentando ambos grupos valores mayores con diferencias con los grupos controles. Sin embargo, a la edad de P30 el grupo “NMDA-Nado-Forzado” deja de presentar diferencias estadísticas en comparación con los controles pudiendo presentarse un proceso de mielinización de las estructuras cerebrales a una edad posterior que no se presenta en el grupo “NMDA-Sedentario”.

Incluso el grupo “NMDA-Nado-Forzado” llega a ser diferente del grupo “NMDA-Sedentario” lo cual está marcado en las tablas 3, 5 y 11 lo cual nos da la posibilidad del efecto benéfico del nado forzado sobre la lesión, ya que los resultados demuestran que el nado forzado del día 7 al 30 disminuye la alteración conductual en la actividad motora espontánea que provoca la lesión con 4  $\mu\text{g}$  de NMDA en el CC a la edad de P5. Aún queda por esclarecer la gravedad de la lesión y las regiones involucradas ya que la lesión excitotóxica que afecta tanto a la sustancia blanca como a la sustancia gris por su relación entre ambas en el funcionamiento fisiológico, el modelo de nado forzado después de una lesión excitotóxica en el cuerpo calloso a la edad de P5 nos da la posibilidad de explorar en un modelo animal los mecanismos y elementos celulares moleculares y conductuales que están involucrados en la recuperación de una lesión perinatal.

## **CONCLUSIÓN**

En conclusión, en la rata, el nado forzado del día 7 al 30 inducido después de presentar una lesión excitotóxica en la edad del día 5 posnatal tiene la capacidad de disminuir los cambios de la actividad motora espontánea que se presentan por la lesión, como lo es la presencia de valores mayores en la distancia total recorrida, la actividad vertical a la edad de P25 y a partir de la edad de P30 presenta una actividad motora espontánea normal. Aún queda por esclarecer a profundidad los efectos del nado forzado en el aprendizaje y la memoria, las interacciones celulares y moleculares como lo es el desarrollo de OL's y su interacción con neuronas, astrocitos y microglía de la rata neonata con una lesión perinatal.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abel, E. L. (1993). Ontogeny of immobility and response to alarm substance in the forced swim test. *Physiology & Behavior*, *54*(4), 713-716. doi:10.1016/0031-9384(93)90081-P
- Ahmad, A. S., Saleem, S., Ahmad, M., & Dore, S. (2006). Prostaglandin EP1 receptor contributes to excitotoxicity and focal ischemic brain damage. *Toxicological Sciences*, *89*(1), 265-270. doi:10.1093/toxsci/kfj022
- Almli, C. R., Levy, T. J., Han, B. H., Shah, A. R., Gidday, J. M., & Holtzman, D. M. (2000). BDNF protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia. *Experimental Neurology*, *166*(1), 99-114. doi:10.1006/exnr.2000.7492
- Ang, E. T., Dawe, G. S., Wong, P. T., Moochhala, S., & Ng, Y. K. (2006). Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Research*, *1113*(1), 186-193. doi:10.1016/j.brainres.2006.07.023
- Ang, E. T., & Gomez-Pinilla, F. (2007). Potential therapeutic effects of exercise to the brain. *Current Medicinal Chemistry*, *14*(24), 2564-2571. doi:10.2174/092986707782023280#sthash.yhZqf7K4.dpuf
- Ang, E. T., Wong, P. T., Moochhala, S., & Ng, Y. K. (2003). Neuroprotection associated with running: is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience*, *118*(2), 335-345. doi:10.1016/S0306-4522(02)00989-2
- Arida, R. M., Scorza, C. A., da Silva, A. V., Scorza, F. A., & Cavalheiro, E. A. (2004). Differential effects of spontaneous versus forced exercise in rats on the staining of parvalbumin-positive neurons in the hippocampal formation. *Neuroscience Letters*, *364*(3), 135-138. doi:10.1016/j.neulet.2004.03.086
- Arida, R. M., Scorza, F. A., da Silva, S. G., Cysneiros, R. M., & Cavalheiro, E. A. (2011). Exercise paradigms to study brain injury recovery in rodents. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *90*(6), 452-465. doi:10.1097/PHM.0b013e3182063a9c
- Back, S. A. (2014). Cerebral White and Gray Matter Injury in Newborns: New Insights into Pathophysiology and Management. *Clinics in Perinatology*, *41*(1), 1-24. doi:10.1016/j.clp.2013.11.001
- Back, S. A., Luo, N. L., Borenstein, N. S., Levine, J. M., Volpe, J. J., & Kinney, H. C. (2001). Late oligodendrocyte progenitors coincide with the developmental window of vulnerability for human perinatal white matter injury. *The Journal of Neuroscience*, *21*(4), 1302-1312.
- Back, S. A., & Rivkees, S. A. (2004). Emerging concepts in periventricular white matter injury. *Seminars in Perinatology*, *28*(6), 405-414. doi:10.1053/j.semperi.2004.10.010
- Back, S. A., & Volpe, J. J. (1997). Cellular and molecular pathogenesis of periventricular white matter injury. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, *3*(1), 96-107. doi:10.1002/(SICI)1098-2779(1997)3:1<96::AID-MRDD12>3.0.CO;2-M
- Balla, A., Nattini, M. E., Sershen, H., Lajtha, A., Dunlop, D. S., & Javitt, D. C. (2009). GABAB/NMDA receptor interaction in the regulation of extracellular dopamine levels in rodent prefrontal cortex and striatum. *Neuropharmacology*, *56*(5), 915-921. doi:10.1016/j.neuropharm.2009.01.021
- Banker, B. Q., & Larroche, J. C. (1962). Periventricular leukomalacia of infancy. A form of neonatal anoxic encephalopathy. *Archives of Neurology*, *7*, 386-410. doi:10.1001/archneur.1962.04210050022004.

- Barrera, R. (2010). Neurohabilitación y estimulación del sistema nervioso *Terapia Neurohabilitatoria* (pp. 14-23): Universidad Nacional Autónoma de México.
- Barres, B. A., & Raff, M. C. (1993). Proliferation of oligodendrocyte precursor cells depends on electrical activity in axons. *Nature*, *361*(6409), 258-260. doi:10.1038/361258a0
- Barth, T. M., & Stanfield, B. B. (1990). The recovery of forelimb-placing behavior in rats with neonatal unilateral cortical damage involves the remaining hemisphere. *The Journal of Neuroscience*, *10*(10), 3449-3459.
- Baumann, N., & Pham-Dinh, D. (2001). Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiological Reviews*, *81*(2), 871-927.
- Beauchamp, M. H., Thompson, D. K., Howard, K., Doyle, L. W., Egan, G. F., Inder, T. E., & Anderson, P. J. (2008). Preterm infant hippocampal volumes correlate with later working memory deficits. *Brain*, *131*(Pt 11), 2986-2994. doi:10.1093/brain/awn227
- Bell, M. J., & Hallenbeck, J. M. (2002). Effects of intrauterine inflammation on developing rat brain. *Journal of Neuroscience Research*, *70*(4), 570-579. doi:10.1002/jnr.10423
- Bernal, F., Saura, J., Ojuel, J., & Mahy, N. (2000). Differential vulnerability of hippocampus, basal ganglia, and prefrontal cortex to long-term NMDA excitotoxicity. *Experimental Neurology*, *161*(2), 686-695. doi:10.1006/exnr.1999.7293
- Bleakman, D., Alt, A., Lodge, D., Monaghan, D., Jane, D., & Nisenbaum, E. (2007). Excitatory amino acids: Ionotropic glutamate receptors. En D. R. Sibley, I. Hanin, M. Kuhar & P. Skolnick (Eds.), *Handbook of Contemporary Neuropharmacology* (pp. 365 - 420): Wiley Blackwell.
- Blumenthal, I. (2004). Periventricular leucomalacia: a review. *European Journal of Pediatrics*, *163*(8), 435-442. doi:10.1007/s00431-004-1477-y
- Bogdanova, O. V., Kanekar, S., D'Anci, K. E., & Renshaw, P. F. (2013). Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiology & Behavior*, *118*, 227-239. doi:10.1016/j.physbeh.2013.05.012
- Brake, W. G., Flores, G., Francis, D., Meaney, M. J., Srivastava, L. K., & Gratton, A. (2000). Enhanced nucleus accumbens dopamine and plasma corticosterone stress responses in adult rats with neonatal excitotoxic lesions to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, *96*(4), 687-695. doi:10.1016/S0306-4522(00)00002-6
- Brösamle, C., & Schwab, M. E. (2000). Ipsilateral, ventral corticospinal tract of the adult rat: ultrastructure, myelination and synaptic connections. *Journal of Neurocytology*, *29*(7), 499-507. doi:10.1023/A:1007297712821
- Cabañas, F., & Pellicer, A. (2002). Lesión cerebral en el niño prematuro. Protocolos diagnósticos y terapéuticos de neonatología en pediatría. *Protocolos de Neonatología*, *6*(27), 253-259.
- Campuzano, O., Castillo-Ruiz, M. M., Acarin, L., Castellano, B., & Gonzalez, B. (2009). Increased levels of proinflammatory cytokines in the aged rat brain attenuate injury-induced cytokine response after excitotoxic damage. *Journal of Neuroscience Research*, *87*(11), 2484-2497. doi:10.1002/jnr.22074
- Can, A., Dao, D. T., Arad, M., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., & Gould, T. D. (2012). The mouse forced swim test. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*(59), e3638. doi:10.3791/3638

- Clowry, G. J., Basuodan, R., & Chan, F. (2014). What are the Best Animal Models for Testing Early Intervention in Cerebral Palsy? *Frontiers in Neurology*, *5*, 258. doi:10.3389/fneur.2014.00258
- Coltman, R., Spain, A., Tsenkina, Y., Fowler, J. H., Smith, J., Scullion, G., . . . Horsburgh, K. (2011). Selective white matter pathology induces a specific impairment in spatial working memory. *Neurobiology of Aging*, *32*(12), 2324 e2327-2312. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.005
- Counsell, S. J., Edwards, A. D., Chew, A. T., Anjari, M., Dyet, L. E., Srinivasan, L., . . . Cowan, F. M. (2008). Specific relations between neurodevelopmental abilities and white matter microstructure in children born preterm. *Brain*, *131*(Pt 12), 3201-3208. doi:10.1093/brain/awn268
- Craig, A., Ling Luo, N., Beardsley, D. J., Wingate-Pearse, N., Walker, D. W., Hohimer, A. R., & Back, S. A. (2003). Quantitative analysis of perinatal rodent oligodendrocyte lineage progression and its correlation with human. *Experimental Neurology*, *181*(2), 231-240.
- Chen, A., Dimambro, N., & Clowry, G. J. (2008). A comparison of behavioural and histological outcomes of periventricular injection of ibotenic acid in neonatal rats at postnatal days 5 and 7. *Brain Research*, *1201*, 187-195. doi:10.1016/j.brainres.2008.01.066
- Chetty, S., Friedman, A. R., Taravosh-Lahn, K., Kirby, E. D., Mirescu, C., Guo, F., . . . Kaufer, D. (2014). Stress and glucocorticoids promote oligodendrogenesis in the adult hippocampus. *Molecular Psychiatry*, *19*(12), 1275-1283. doi:10.1038/mp.2013.190
- Dammann, O., Hagberg, H., & Leviton, A. (2001). Is periventricular leukomalacia an axonopathy as well as an oligopathy? *Pediatric Research*, *49*(4), 453-457. doi:10.1203/00006450-200104000-00003
- Delcour, M., Olivier, P., Chambon, C., Pansiot, J., Russier, M., Liberge, M., . . . Coq, J. O. (2012). Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *Brain Pathology*, *22*(1), 1-16. doi:10.1111/j.1750-3639.2011.00504.x
- Deng, W. (2010). Neurobiology of injury to the developing brain. *Nature Reviews. Neurology*, *6*(6), 328-336. doi:10.1038/nrneurol.2010.53
- Detke, M. J., & Lucki, I. (1996). Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behavioural Brain Research*, *73*(1-2), 43-46. doi:10.1016/0166-4328(96)00067-8
- Downes, N., & Mullins, P. (2014). The development of myelin in the brain of the juvenile rat. *Toxicologic Pathology*, *42*(5), 913-922. doi:10.1177/0192623313503518
- Edgar, J. M., McLaughlin, M., Yool, D., Zhang, S. C., Fowler, J. H., Montague, P., . . . Griffiths, I. R. (2004). Oligodendroglial modulation of fast axonal transport in a mouse model of hereditary spastic paraplegia. *The Journal of Cell Biology*, *166*(1), 121-131. doi:10.1083/jcb.200312012
- Elitt, C. M., & Rosenberg, P. A. (2014). The challenge of understanding cerebral white matter injury in the premature infant. *Neuroscience*, *276*, 216-238. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.04.038
- Espinosa-Jeffrey, A., Barajas, S. A., Arrazola, A. R., Taniguchi, A., Zhao, P. M., Bokhoor, P., . . . de Vellis, J. (2013). White matter loss in a mouse model of periventricular leukomalacia is rescued by trophic factors. *Brain Sciences*, *3*(4), 1461-1482. doi:10.3390/brainsci3041461

- Espinosa-Jeffrey, A., Hitoshi, S., Zhao, P., Awosika, O., Agbo, C., Olaniyan, E., . . . Ikenaka, K. (2010). Functional central nervous system myelin repair in an adult mouse model of demyelination caused by proteolipid protein overexpression. *Journal of Neuroscience Research*, *88*(8), 1682-1694. doi:10.1002/jnr.22334
- Espinosa-Jeffrey, A., Wakeman, D. R., Kim, S. U., Snyder, E. Y., & de Vellis, J. (2009). Culture system for rodent and human oligodendrocyte specification, lineage progression, and maturation. *Current Protocols in Stem Cell Biology*, Chapter 2, 2D.4.1-2D.4.26. . doi:10.1002/9780470151808.sc02d04s10
- Fan, L. W., Lin, S., Pang, Y., Lei, M., Zhang, F., Rhodes, P. G., & Cai, Z. (2005). Hypoxia-ischemia induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. *Behavioural Brain Research*, *165*(1), 80-90. doi:10.1016/j.bbr.2005.06.033
- Fern, R. F., Matute, C., & Stys, P. K. (2014). White matter injury: Ischemic and nonischemic. *Glia*, *62*(11), 1780-1789. doi:10.1002/glia.22722
- Fields, R. D. (2010). Glutamate receptors: the cause or cure in perinatal white matter injury? *Neuron Glia Biology*, *6*(4), 209-211. doi:10.1017/s1740925x11000147
- Finkbeiner, S., Tavazoie, S. F., Maloratsky, A., Jacobs, K. M., Harris, K. M., & Greenberg, M. E. (1997). CREB: A Major Mediator of Neuronal Neurotrophin Responses. *Neuron*, *19*(5), 1031-1047. doi:10.1016/S0896-6273(00)80395-5
- Flygt, J., Djupsjo, A., Lenne, F., & Marklund, N. (2013). Myelin loss and oligodendrocyte pathology in white matter tracts following traumatic brain injury in the rat. *The European Journal of Neuroscience*, *38*(1), 2153-2165. doi:10.1111/ejn.12179
- Foley, T. E., & Fleshner, M. (2008). Neuroplasticity of Dopamine Circuits After Exercise: Implications for Central Fatigue. *NeuroMolecular Medicine*, *10*(2), 67-80. doi:10.1007/s12017-008-8032-3
- Fontaine, R. H., Olivier, P., Massonneau, V., Leroux, P., Degos, V., Lebon, S., . . . Baud, O. (2008). Vulnerability of white matter towards antenatal hypoxia is linked to a species-dependent regulation of glutamate receptor subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(43), 16779-16784. doi:10.1073/pnas.0803004105
- Garcia, P. C., Real, C. C., Ferreira, A. F. B., Alouche, S. R., Britto, L. R. G., & Pires, R. S. (2012). Different protocols of physical exercise produce different effects on synaptic and structural proteins in motor areas of the rat brain. *Brain Research*, *1456*, 36-48. doi:10.1016/j.brainres.2012.03.059
- Garín-Aguilar, M. E., Medina, A. C., Quirarte, G. L., McGaugh, J. L., & Prado-Alcalá, R. A. (2014). Intense aversive training protects memory from the amnesic effects of hippocampal inactivation. *Hippocampus*, *24*(1), 102-112. doi:10.1002/hipo.22210
- Ghiani, C. A., Ying, Z., Vellis, J. d., & Gomez-Pinilla, F. (2007). Exercise decreases myelin-associated glycoprotein expression in the spinal cord and positively modulates neuronal growth. *Glia*, *55*(9), 966-975. doi:10.1002/glia.20521
- Gibson, C. L., & Clowry, G. J. (2003). The effect on motor cortical neuronal development of focal lesions to the sub-cortical white matter in the neonatal rat: a model for periventricular leukomalacia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *21*(4), 171-182. doi:10.1016/S0736-5748(03)00041-8
- Gibson, E. M., Purger, D., Mount, C. W., Goldstein, A. K., Lin, G. L., Wood, L. S., . . . Monje, M. (2014). Neuronal activity promotes oligodendrogenesis and

- adaptive myelination in the mammalian brain. *Science*, 344(6183), 1252304. doi:10.1126/science.1252304
- Gravel, C., Sasseville, R., & Hawkes, R. (1990). Maturation of the corpus callosum of the rat: II. Influence of thyroid hormones on the number and maturation of axons. *The Journal of Comparative Neurology*, 291(1), 147-161. doi:10.1002/cne.902910110
- Griesbach, G. S., Hovda, D. A., Molteni, R., Wu, A., & Gomez-Pinilla, F. (2004). Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neuroscience*, 125(1), 129-139. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.01.030
- Hagan, P., Poole, S., Bristow, A. F., Tilders, F., & Silverstein, F. S. (1996). Intracerebral NMDA injection stimulates production of interleukin-1 beta in perinatal rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 67(5), 2215-2218. doi:10.1046/j.1471-4159.1996.67052215.x
- Hagberg, H., Peebles, D., & Mallard, C. (2002). Models of white matter injury: comparison of infectious, hypoxic-ischemic, and excitotoxic insults. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 8(1), 30-38. doi:10.1002/mrdd.10007
- Hagberg, H., Thornberg, E., Blennow, M., Kjellmer, I., Lagercrantz, H., Thiringer, K., . . . Sandberg, M. (1993). Excitatory amino acids in the cerebrospinal fluid of asphyxiated infants: relationship to hypoxic-ischemic encephalopathy. *Acta Paediatrica*, 82(11), 925-929. doi:10.1111/j.1651-2227.1993.tb12601.x
- Hansen, H. H., Ikonomidou, C., Bittigau, P., Hansen, S. H., & Hansen, H. S. (2001). Accumulation of the anandamide precursor and other N-acyl ethanolamine phospholipids in infant rat models of in vivo necrotic and apoptotic neuronal death. *Journal of Neurochemistry*, 76(1), 39-46. doi:10.1046/j.1471-4159.2001.00006.
- Harmony, T., Barrera-Reséndiz, J., Juárez-Colín, M. E., Carrillo-Prado, C., del Consuelo Pedraza-Aguilar, M., Asprón Ramírez, A., Hinojosa-Rodríguez, M., Fernández, T., & Ricardo-Garcell, J. (2016). Longitudinal study of children with perinatal brain damage in whom early neurohabilitation was applied: Preliminary report. *Neuroscience Letters* 611, 59-67.
- Heller, A., Hutchens, J. O., Kirby, M. L., Karapas, F., & Fernandez, C. (1979). Stereotaxic electrode placement in the neonatal rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 1(1), 41-76. doi:10.1016/0165-0270(79)90006-2
- Hutchinson, K. J., Gomez-Pinilla, F., Crowe, M. J., Ying, Z., & Basso, D. M. (2004). Three exercise paradigms differentially improve sensory recovery after spinal cord contusion in rats. *Brain*, 127(Pt 6), 1403-1414. doi:10.1093/brain/awh160
- Jaskiw, G. E., & Weinberger, D. R. (1992). Ibotenic acid lesions of medial prefrontal cortex augment swim-stress-induced locomotion. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 41(3), 607-609. doi:10.1016/0091-3057(92)90380-X
- Jefferys, D., & Funder, J. (1994). The effect of water temperature on immobility in the forced swimming test in rats. *European Journal of Pharmacology*, 253(1-2), 91-94. doi:10.1016/0014-2999(94)90761-7
- Karadottir, R., Cavelier, P., Bergersen, L. H., & Attwell, D. (2005). NMDA receptors are expressed in oligodendrocytes and activated in ischaemia. *Nature*, 438(7071), 1162-1166. doi:10.1038/nature04302
- Khazipov, R., Zaynutdinova, D., Ogievetsky, E., Valeeva, G., Mitrukhnina, O., Manent, J.-B., & Represa, A. (2015). Atlas of the Postnatal Rat Brain in Stereotaxic

- Kim, K., Shin, M. S., Cho, H. S., & Kim, Y. P. (2014). Effects of endurance exercise on expressions of glial fibrillary acidic protein and myelin basic protein in developing rats with maternal infection-induced cerebral palsy. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 10(1), 9-14. doi:10.12965/jer.140084
- Kluver, H., & Barrera, E. (1953). A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 12(4), 400-403. doi:10.1097/00005072-195312040-00008
- Kolodziejczyk, K., Hamilton, N. B., Wade, A., Karadottir, R., & Attwell, D. (2009). The effect of N-acetyl-aspartyl-glutamate and N-acetyl-aspartate on white matter oligodendrocytes. *Brain*, 132(Pt 6), 1496-1508. doi:10.1093/brain/awp087
- Kolodziejczyk, K., Saab, A. S., Nave, K. A., & Attwell, D. (2010). Why do oligodendrocyte lineage cells express glutamate receptors? *F1000 Biology Reports*, 2, 57. doi:10.3410/B2-57
- Komitova, M., Zhao, L. R., Gidö, G., Johansson, B. B., & Eriksson, P. (2005). Postischemic exercise attenuates whereas enriched environment has certain enhancing effects on lesion-induced subventricular zone activation in the adult rat. *European Journal of Neuroscience*, 21(9), 2397-2405. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04072.x
- Krityakiarana, W., Espinosa-Jeffrey, A., Ghiani, C. A., Zhao, P. M., Topaldjikian, N., Gomez-Pinilla, F., . . . de Vellis, J. (2010). Voluntary exercise increases oligodendrogenesis in spinal cord. *The International Journal of Neuroscience*, 120(4), 280-290. doi:10.3109/00207450903222741
- Lee, S. W., Kim, Y. S., Jun, T. W., Seo, J. H., Kim, K., Shin, M. S., & Kim, C. J. (2013). The impact of duration of one bout treadmill exercise on cell proliferation and central fatigue in rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 9(5), 463-469. doi:10.12965/jer.130069
- Lipska, B. K., Al-Amin, H. A., & Weinberger, D. R. (1998). Excitotoxic Lesions of the Rat Medial Prefrontal Cortex: Effects on Abnormal Behaviors Associated with Neonatal Hippocampal Damage. *Neuropsychopharmacology*, 19(6), 451-464. doi:10.1016/S0893-133X(98)00045-1
- Liu, X., Yang, L. J., Fan, S. J., Jiang, H., & Pan, F. (2010). Swimming exercise effects on the expression of HSP70 and iNOS in hippocampus and prefrontal cortex in combined stress. *Neuroscience Letters*, 476(2), 99-103. doi:10.1016/j.neulet.2010.04.011
- Lubics, A., Reglődi, D., Tamás, A., Kiss, P., Szalai, M., Szalontay, L., & Lengvári, I. (2005). Neurological reflexes and early motor behavior in rats subjected to neonatal hypoxic-ischemic injury. *Behavioural Brain Research*, 157(1), 157-165. doi:10.1016/j.bbr.2004.06.019
- Llorens-Martin, M., Torres-Aleman, I., & Trejo, J. L. (2008). Growth factors as mediators of exercise actions on the brain. *NeuroMolecular Medicine*, 10(2), 99-107. doi:10.1007/s12017-008-8026-1
- Mandujano, M., Sánchez-Pérez, M., & Muñoz-Ledo, P. (2009). El bipedismo del humano. Las aportaciones de Ferenc Katona. *Revista Casa del Tiempo, UAM*, 2(21), 22-27.
- Manning, S. M., Talos, D. M., Zhou, C., Selip, D. B., Park, H. K., Park, C. J., . . . Jensen, F. E. (2008). NMDA receptor blockade with memantine attenuates white matter injury in a rat model of periventricular leukomalacia. *The Journal of Neuroscience*, 28(26), 6670-6678. doi:10.1523/JNEUROSCI.1702-08.2008

- Marcelino, T. B., de Lemos Rodrigues, P. I., Klein, C. P., Santos, B. G. d., Miguel, P. M., Netto, C. A., . . . Matté, C. (2016). Behavioral benefits of maternal swimming are counteracted by neonatal hypoxia-ischemia in the offspring. *Behavioural Brain Research*, *312*, 30-38. doi:10.1016/j.bbr.2016.06.009
- Martinez-Mota, L., Ulloa, R. E., Herrera-Perez, J., Chavira, R., & Fernandez-Guasti, A. (2011). Sex and age differences in the impact of the forced swimming test on the levels of steroid hormones. *Physiology & Behavior*, *104*(5), 900-905. doi:10.1016/j.physbeh.2011.05.027
- Matute, C. (2006). Oligodendrocyte NMDA receptors: a novel therapeutic target. *Trends in Molecular Medicine*, *12*(7), 289-292. doi:10.1016/j.molmed.2006.05.004
- Matute, C., Alberdi, E., Domercq, M., Perez-Cerda, F., Perez-Samartin, A., & Sanchez-Gomez, M. V. (2001). The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases. *Trends in Neurosciences*, *24*(4), 224-230. doi:10.1016/S0166-2236(00)01746-X
- Matute, E., Rosselli, M., Ardila, A., & Ostrosky-Solís, F. (2008). *Evaluación Neuropsicológica Infantil (ENI)*. México DF: Manual Moderno.
- Mayer, M. L. (2005). Glutamate receptor ion channels. *Current Opinion in Neurobiology*, *15*(3), 282-288. doi:10.1016/j.conb.2005.05.004
- Mayer, M. L., & Armstrong, N. (2004). Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annual Review of Physiology*, *66*, 161-181. doi:10.1146/annurev.physiol.66.050802.084104
- McDonald, J. W., Roeser, N. F., Silverstein, F. S., & Johnston, M. V. (1989). Quantitative assessment of neuroprotection against NMDA-induced brain injury. *Experimental Neurology*, *106*(3), 289-296.
- McDonald, J. W., Silverstein, F. S., & Johnston, M. V. (1988). Neurotoxicity of N-methyl-D-aspartate is markedly enhanced in developing rat central nervous system. *Brain Research*, *459*(1), 200-203. doi:10.1016/0006-8993(88)90306-X
- McEwen, B. S. (2000). Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biological Psychiatry*, *48*(8), 721-731. doi:10.1016/S0006-3223(00)00964-1
- McGaugh, J. L. (1973). *Learning and memory: An introduction*. San Francisco: Albion Publishing Company.
- Meldrum, B., & Garthwaite, J. (1990). Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, *11*(9), 379-387. doi:10.1016/0165-6147(90)90184-A
- Miguel, P. M., Schuch, C. P., Rojas, J. J., Carletti, J. V., Deckmann, I., Martinato, L. H. M., . . . Pereira, L. O. (2015). Neonatal hypoxia-ischemia induces attention-deficit hyperactivity disorder-like behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*, *129*(3), 309-320. doi:10.1037/bne0000063
- Molteni, R., Wu, A., Vaynman, S., Ying, Z., Barnard, R. J., & Gómez-Pinilla, F. (2004). Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*, *123*(2), 429-440. doi:10.1016/j.neuroscience.2003.09.020
- Molteni, R., Zheng, J.-Q., Ying, Z., Gómez-Pinilla, F., & Twiss, J. L. (2004). Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(22), 8473-8478. doi:10.1073/pnas.0401443101

- National Research Council. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th ed.). Washington DC: National Academy of Sciences.
- Nave, K.-A. (2010). Myelination and support of axonal integrity by glia. *Nature*, *468*(7321), 244-252. doi:10.1038/nature09614
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. (2001). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (pp. 65). México: SENASICA.
- Olney, J. W. (1969). Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *28*(3), 455-474. doi:10.1097/00005072-196907000-00007
- Peferoen, L., Kipp, M., van der Valk, P., van Noort, J. M., & Amor, S. (2014). Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system. *Immunology*, *141*(3), 302-313. doi:10.1111/imm.12163
- Pérez Zamudio, R., López Terrones, C. R., & Rodríguez Barboza, A. (2013). Morbilidad y mortalidad del recién nacido prematuro en el Hospital General de Irapuato. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, *70*, 299-305.
- Petzinger, G. M., Holschneider, D. P., Fisher, B. E., McEwen, S., Kintz, N., Halliday, M., . . . Jakowec, M. W. (2015). The effects of exercise on dopamine neurotransmission in Parkinson's disease: Targeting neuroplasticity to modulate basal ganglia circuitry. *Brain Plasticity*, *1*(1), 29-39.
- Piao, C.-S., Stoica, B. A., Wu, J., Sabirzhanov, B., Zhao, Z., Cabatbat, R., . . . Faden, A. I. (2013). Late exercise reduces neuroinflammation and cognitive dysfunction after traumatic brain injury. *Neurobiology of Disease*, *54*, 252-263. doi:10.1016/j.nbd.2012.12.017
- Poggi, S. H., Park, J., Toso, L., Abebe, D., Roberson, R., Woodard, J. E., & Spong, C. Y. (2005). No phenotype associated with established lipopolysaccharide model for cerebral palsy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *192*(3), 727-733. doi:10.1016/j.ajog.2004.12.053
- Porrás-Kattz, E., & Harmony, T. (2007). Neurohabilitación: un método diagnóstico y terapéutico para prevenir secuelas por lesión cerebral en el recién nacido y el lactante. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, *64*(2), 125-135.
- Portera-Cailliau, C., Price, D. L., & Martin, L. J. (1997). Non-NMDA and NMDA receptor-mediated excitotoxic neuronal deaths in adult brain are morphologically distinct: Further evidence for an apoptosis-necrosis continuum. *The Journal of Comparative Neurology*, *378*(1), 88-104. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19970203)378:1<88::AID-CNE5>3.0.CO;2-G
- Ra, S. M., Kim, H., Jang, M. H., Shin, M. C., Lee, T. H., Lim, B. V., . . . Kim, S. S. (2002). Treadmill running and swimming increase cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus of rats. *Neuroscience Letters*, *333*(2), 123-126. doi:10.1016/S0304-3940(02)01031-5
- Ramachandra, R., & Subramanian, T. (2011). *Atlas of the neonatal rat brain*. Boca Raton: Taylor & Francis.
- Raybaud, C., Ahmad, T., Rastegar, N., Shroff, M., & Al Nassar, M. (2013). The premature brain: developmental and lesional anatomy. *Neuroradiology*, *55* Suppl 2, 23-40. doi:10.1007/s00234-013-1231-0
- Reyes-Haro, D., Mora-Loyola, E., Soria-Ortiz, B., & García-Colunga, J. (2013). Regional density of glial cells in the rat corpus callosum. *Biological Research*, *46*, 27-32. doi:10.4067/S0716-97602013000100004



- Rezaie, P., & Dean, A. (2002). Periventricular leukomalacia, inflammation and white matter lesions within the developing nervous system. *Neuropathology*, 22(3), 106-132. doi:10.1046/j.1440-1789.2002.00438.x
- Río-Hortega, P. (1921). Glia with very few processes (oligodendroglia). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, 21, 16-43.
- Río-Hortega, P. (1922). Are the glia with very few processes homologous with Schwann cells? *Boletín de la Sociedad Española de Biología*, 10, 25-28.
- Rossi, D. J., Oshima, T., & Attwell, D. (2000). Glutamate release in severe brain ischaemia is mainly by reversed uptake. *Nature*, 403(6767), 316-321. doi:10.1038/35002090
- Rowitch, D. H., & Kriegstein, A. R. (2010). Developmental genetics of vertebrate glial-cell specification. *Nature*, 468(7321), 214-222. doi:10.1038/nature09611
- Salazar, R. F., White, W., Lacroix, L., Feldon, J., & White, I. M. (2004). NMDA lesions in the medial prefrontal cortex impair the ability to inhibit responses during reversal of a simple spatial discrimination. *Behavioural Brain Research*, 152(2), 413-424. doi:10.1016/j.bbr.2003.10.034
- Salmaso, N., Tomasi, S., & Vaccarino, F. M. (2014). Neurogenesis and maturation in neonatal brain injury. *Clinics in Perinatology*, 41(1), 229-239. doi:10.1016/j.clp.2013.10.007
- Salter, M. G., & Fern, R. (2005). NMDA receptors are expressed in developing oligodendrocyte processes and mediate injury. *Nature*, 438(7071), 1167-1171. doi:10.1038/nature04301
- Sampaio-Baptista, C., Khrapitchev, A. A., Foxley, S., Schlagheck, T., Scholz, J., Jbabdi, S., . . . Johansen-Berg, H. (2013). Motor skill learning induces changes in white matter microstructure and myelination. *The Journal of Neuroscience*, 33(50), 19499-19503. doi:10.1523/jneurosci.3048-13.2013
- Sanchez, I., Hassinger, L., Paskevich, P. A., Shine, H. D., & Nixon, R. A. (1996). Oligodendroglia regulate the regional expansion of axon caliber and local accumulation of neurofilaments during development independently of myelin formation. *The Journal of Neuroscience*, 16(16), 5095-5105.
- Shen, H., Tong, L., Balazs, R., & Cotman, C. W. (2001). Physical activity elicits sustained activation of the cyclic AMP response element-binding protein and mitogen-activated protein kinase in the rat hippocampus. *Neuroscience*, 107(2), 219-229. doi:10.1016/S0306-4522(01)00315-3
- Sierra, A., Camacho-Abrego, I., Escamilla, C., Negrete-Diaz, J. V., Rodriguez-Sosa, L., & Flores, G. (2009). Plataforma economica para cirugia estereotaxica en rata neonata. *Revista de Neurologia*, 48(3), 141-146.
- Stone, B. S., Zhang, J., Mack, D. W., Mori, S., Martin, L. J., & Northington, F. J. (2008). Delayed Neural Network Degeneration after Neonatal Hypoxia-Ischemia. *Annals of Neurology*, 64(5), 535-546. doi:10.1002/ana.21517
- Supramaniam, V., Vontell, R., Srinivasan, L., Wyatt-Ashmead, J., Hagberg, H., & Rutherford, M. (2013). Microglia activation in the extremely preterm human brain. *Pediatric Research*, 73(3), 301-309. doi:10.1038/pr.2012.186
- Takahashi, J. L., Giuliani, F., Power, C., Imai, Y., & Yong, V. W. (2003). Interleukin-1 $\beta$  promotes oligodendrocyte death through glutamate excitotoxicity. *Annals of Neurology*, 53(5), 588-595. doi:10.1002/ana.10519
- Takahashi, N., Sakurai, T., Davis, K. L., & Buxbaum, J. D. (2011). Linking oligodendrocyte and myelin dysfunction to neurocircuitry abnormalities in schizophrenia. *Progress in Neurobiology*, 93(1), 13-24. doi:10.1016/j.pneurobio.2010.09.004

- Tress, O., Maglione, M., May, D., Pivneva, T., Richter, N., Seyfarth, J., . . . Willecke, K. (2012). Panglial gap junctional communication is essential for maintenance of myelin in the CNS. *The Journal of Neuroscience*, *32*(22), 7499-7518. doi:10.1523/jneurosci.0392-12.2012
- Umeda, T., Takahashi, M., Isa, K., & Isa, T. (2010). Formation of Descending Pathways Mediating Cortical Command to Forelimb Motoneurons in Neonatally Hemidecorticated Rats. *Journal of Neurophysiology*, *104*(3), 1707-1716. doi:10.1152/jn.00968.2009
- Uysal, N., Kiray, M., Sisman, A., Camsari, U., Gencoglu, C., Baykara, B., . . . Aksu, I. (2015). Effects of voluntary and involuntary exercise on cognitive functions, and VEGF and BDNF levels in adolescent rats. *Biotechnic & Histochemistry*, *90*(1), 55-68. doi:10.3109/10520295.2014.946968
- van Lookeren Campagne, M., Lucassen, P. J., Vermeulen, J. P., & Balázs, R. (1995). NMDA and kainate induce internucleosomal DNA cleavage associated with both apoptotic and necrotic cell death in the neonatal rat brain. *The European Journal of Neuroscience*, *7*(7), 1627-1640. doi:10.1111/j.1460-9568.1995.tb01158.x
- Veldhuis, W. B., van der Stelt, M., Delmas, F., Gillet, B., Veldink, G. A., Vliegenthart, J. F., . . . Bar, P. R. (2003). In vivo excitotoxicity induced by ouabain, a Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase inhibitor. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *23*(1), 62-74. doi:10.1097/01.WCB.0000039287.37737.50
- Verheul, H. B., Balazs, R., Berkelbach van der Sprenkel, J. W., Tulleken, C. A., Nicolay, K., & van Lookeren Campagne, M. (1993). Temporal evolution of NMDA-induced excitotoxicity in the neonatal rat brain measured with 1H nuclear magnetic resonance imaging. *Brain Research*, *618*(2), 203-212. doi:10.1016/0006-8993(93)91267-V
- Verkhatsky, A., & Kirchhoff, F. (2007). NMDA Receptors in glia. *The Neuroscientist* *13*(1), 28-37. doi:10.1177/1073858406294270
- Volpe, J. J. (1997). Brain injury in the premature infant. Neuropathology, clinical aspects, pathogenesis, and prevention. *Clinics in Perinatology*, *24*(3), 567-587. doi:10.1002/(SICI)1098-2779(1997)3:1<3::AID-MRDD2>3.0.CO;2-U
- Volpe, J. J. (2001). Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant. *Pediatric Research*, *50*(5), 553-562. doi:10.1203/00006450-200111000-00003
- Volpe, J. J. (2008a). Hypoxic-ischemic encephalopathy: Clinical aspects *Neurology of the newborn* (5th ed., pp. 247-324): Saunders Elsevier
- Volpe, J. J. (2008b). Hypoxic-Ischemic encephalopathy: Neuropathology and pathogenesis *Neurology of the newborn* (5th ed., pp. 347-399): Saunders Elsevier
- Volpe, J. J. (2008c). Neuronal proliferation, migration, organization and myelination *Neurology of the newborn* (5th ed., pp. 51-118.): Saunders Elsevier
- Volpe, J. J., Kinney, H. C., Jensen, F. E., & Rosenberg, P. A. (2011). The developing oligodendrocyte: key cellular target in brain injury in the premature infant. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *29*(4), 423-440. doi:10.1016/j.ijdevneu.2011.02.012
- Wang, S. S., Shultz, J. R., Burish, M. J., Harrison, K. H., Hof, P. R., Towns, L. C., . . . Wyatt, K. D. (2008). Functional trade-offs in white matter axonal scaling. *The Journal of Neuroscience*, *28*(15), 4047-4056. doi:10.1523/jneurosci.5559-05.2008

- Webber, D. J., van Blitterswijk, M., & Chandran, S. (2009). Neuroprotective effect of oligodendrocyte precursor cell transplantation in a long-term model of periventricular leukomalacia. *The American Journal of Pathology*, *175*(6), 2332-2342. doi:10.2353/ajpath.2009.090051
- Wong, R. (2006). NMDA receptors expressed in oligodendrocytes. *BioEssays*, *28*(5), 460-464. doi:10.1002/bies.20402
- Wood, S. L., Beyer, B. K., & Cappon, G. D. (2003). Species comparison of postnatal CNS development: functional measures. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, *68*(5), 391-407. doi:10.1002/bdrb.10037
- Xu, H., Yang, H.-J., Zhang, Y., Clough, R., Browning, R., & Li, X.-M. (2009). Behavioral and neurobiological changes in C57BL/6 mice exposed to cuprizone. *Behavioral Neuroscience*, *123*(2), 418-429. doi:10.1037/a0014477
- Ying, Z., Roy, R. R., Edgerton, V. R., & Gómez-Pinilla, F. (2003). Voluntary exercise increases neurotrophin-3 and its receptor TrkC in the spinal cord. *Brain Research*, *987*(1), 93-99. doi:10.1016/S0006-8993(03)03258-X
- Young, K. M., Psachoulia, K., Tripathi, R. B., Dunn, S. J., Cossell, L., Attwell, D., . . . Richardson, W. D. (2013). Oligodendrocyte dynamics in the healthy adult CNS: evidence for myelin remodeling. *Neuron*, *77*(5), 873-885. doi:10.1016/j.neuron.2013.01.006
- Zhang, J., Liu, J., Fox, H. S., & Xiong, H. (2013). N-methyl-D-aspartate receptor-mediated axonal injury in adult rat corpus callosum. *Journal of Neuroscience Research*, *91*(2), 240-248. doi:10.1002/jnr.23150
- Zhang, Y., Zhang, H., Wang, L., Jiang, W., Xu, H., Xiao, L., . . . Li, X.-M. (2012). Quetiapine enhances oligodendrocyte regeneration and myelin repair after cuprizone-induced demyelination. *Schizophrenia Research*, *138*(1), 8-17. doi:10.1016/j.schres.2012.04.006

## CONTENIDO DE IMÁGENES

FIGURA 1. CORTE CORONAL DEL CEREBRO DE UN BEBÉ PREMATURO CON LESIONES FOCALES Y DIFUSAS. ....	2
FIGURA 2. COMPARACIÓN DEL DESARROLLO DEL SISTEMA CORTICOESPINAL EN HUMANOS Y MURINOS. ....	23
FIGURA 3. ASIGNACIÓN CELULAR DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. ....	3
FIGURA 4. ESQUEMA DESCRIPTIVO DEL DESARROLLO DEL LINAJE DE OLIGODENDROCITOS (OL). ....	5
FIGURA 5. COMPARACIÓN DEL DESARROLLO DE OL'S ENTRE HUMANOS Y ROEDORES. ....	8
FIGURA 6. IMÁGENES DE CEREBRO: COMPARACIÓN ENTRE UN NEONATO PREMATURO Y UNO A TÉRMINO. ....	9
FIGURA 7. IMÁGENES DE CEREBROS: COMPARACIÓN DE LA LESIÓN EN SUSTANCIA BLANCA. ....	10
FIGURA 8. DIFERENTES COMPONENTES DE LA LESIÓN DE LA SUSTANCIA BLANCA. ....	12
FIGURA 9. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA LESIÓN DE LA SUSTANCIA BLANCA. ....	14
FIGURA 10. EJEMPLIFICA LA EXPRESIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES A GLUTAMATO EN OL's. ....	17
FIGURA 11. DIAGRAMA DE UN EVENTO DE EXCITOTOXICIDAD Y SUS AFECCIONES A LOS OL's. ....	18
FIGURA 12. EFECTO DEL EJERCICIO EN EL SNC. ....	26
FIGURA 13. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA (CM/MIN) EN P25. ....	38
FIGURA 14. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA (CM/MIN) EN P30. ....	41
FIGURA 15. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA (CM/MIN) EN P40. ....	44
FIGURA 16. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL (FREC/MIN) EN P25. ....	47
FIGURA 17. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL (FREC/MIN) EN P30. ....	49
FIGURA 18. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL (FREC/MIN) EN P40. ....	51

## CONTENIDO DE TABLAS

TABLA 1. DESARROLLO DE LA MIELINA EN LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS CEREBRALES DE LA RATA. ....	6
TABLA 2. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P25.....	39
TABLA 3. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 25 POSNATAL. ....	40
TABLA 4. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P30.....	42
TABLA 5. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 30 POSNATAL. ....	43
TABLA 6. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P40.....	45
TABLA 7. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA DISTANCIA TOTAL RECORRIDA. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 40 POSNATAL. ....	45
TABLA 8. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P25. ....	47
TABLA 9. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA ACTIVIDAD VERTICAL. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 25 POSNATAL. ....	48
TABLA 10. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P30. ....	49
TABLA 11. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA ACTIVIDAD VERTICAL. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 30 POSNATAL. ....	50
TABLA 12. MEDIAS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD VERTICAL DURANTE LA PRUEBA DE ACTIVIDAD MOTORA ESPONTÁNEA EN P40. ....	51
TABLA 13. COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA ACTIVIDAD VERTICAL. VALORES SIGNIFICATIVOS EN EL DÍA 40 POSNATAL. ....	52