



# EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL (EMT) EN LA RECUPERACIÓN ANTE UN TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO (TCE). ANÁLISIS HISTOLÓGICO EN EL CEREBRO DE RATA.



Hernández Chávez Alejandro A<sup>1</sup>, García Espinoza Arón<sup>1</sup>, Cisneros Martínez Marina<sup>2</sup>, Martínez Vargas Marina<sup>1</sup>, Verdugo Díaz Leticia<sup>3</sup> y \*Estrada Rojo Francisco<sup>1</sup>.

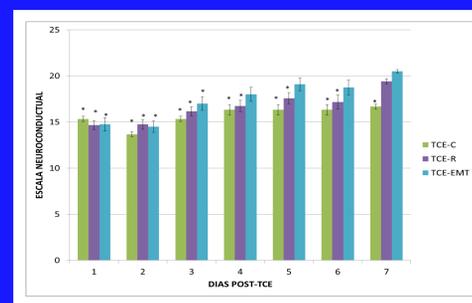
1, Lab. Neuroendocrinología; 2, Lab. de Histología; 3, Lab. Bioelectromagnetismo. Depto. de Fisiología Facultad de Medicina, UNAM. Contacto: fesro@hotmail.com

**INTRODUCCIÓN:** Cuando ocurre un TCE de tipo leve o moderado, existe el riesgo de que se presenten déficits cognitivos y neuroconductuales, aun cuando se tengan estudios de imagenología negativos, por ello es necesario contar con estudios básicos en modelos animales bien estandarizados que permitan reproducir los cambios neurobiológicos y conductuales observados en pacientes. Esto permitirá ofrecer mejores y más eficaces blancos farmacológicos y definir mejores estrategias de recuperación. Un TCE desencadena mecanismos que traen como consecuencia procesos de neurotoxicidad, producción de radicales libres y necrosis y/o apoptosis; pero también activa procesos neuroprotectores, por ejemplo, se activan sistemas inhibidores que contrarrestan el efecto excitotóxico, así como enzimas que neutralizan radicales libres. Estos procesos neuroprotectores pueden incluso promoverse mediante estrategias externas. En este sentido, en nuestro grupo, hemos observado que la EMT induce una recuperación neuroconductual más rápida en ratas sometidas a TCE. Estamos interesados en entender el nivel al que la EMT induce esta respuesta. En este trabajo mostramos algunos cambios, a nivel histológico en el hipocampo, estructura sumamente sensible al TCE e importante en procesos cognitivos, de ratas sometidas a un TCE, con y sin EMT; de manera semi-cuantitativa evidenciamos cambios en las distintas regiones del hipocampo en cuanto a la dispersión celular, esto apoyaría nuestros resultados a nivel conductual que muestran una recuperación significativa en sujetos sometidos a TCE y EMT.

**METODOLOGIA.** Se usaron ratas macho Wistar de 250 a 300 g de peso, manejadas con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, anestesiadas previamente a cualquier procedimiento doloroso. Se habituaron por 7 días a las condiciones del bioterio con temperatura constante, agua y comida *ad libitum* y en un ciclo luz-oscuridad 12:12; algunos de los animales fueron mantenidos en cajas de restricción de movimiento por 15 min al día. Después de 7 días se dividieron en seis grupos: control sin restricción de movimiento (C-C); control con restricción de movimiento (C-R), control con restricción de movimiento y EMT (C-EMT); TCE sin restricción de movimiento (TCE-C); TCE con restricción de movimiento (TCE-R), TCE con restricción de movimiento y EMT (TCE-EMT). En todos los grupos se midió diariamente: escala conductual de daño neurológico (Hunter et al., 2000), cambios en el peso corporal, ingesta de comida y agua y hasta 7 días post-TCE. Posteriormente los animales se perfundieron con paraformaldehído al 4%, sus cerebros fueron crioconservados; se obtuvieron cortes en congelación de 20 µm y se tiñeron con violeta de cresilo. De los cortes, se tomaron fotografías a nivel de las regiones: CA1, CA2, CA3 y giro dentado de hipocampo y se analizó la dispersión celular (Mohd Shafri et al., 2012). El TCE se indujo mediante un pistón neumático para impactar en las coordenadas P= 2 y L= 1.4, correspondientes a corteza cerebral motora a 40 libras de presión. La EMT se realizó con el dispositivo EMAGPRO12, diseñado y construido en la Sección de Bioelectrónica del CINVESTAV, IPN. El cual permite proporcionar EMT a roedores, de manera similar al que utiliza en seres humanos.

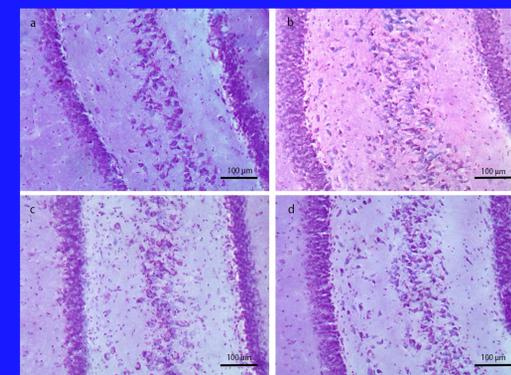
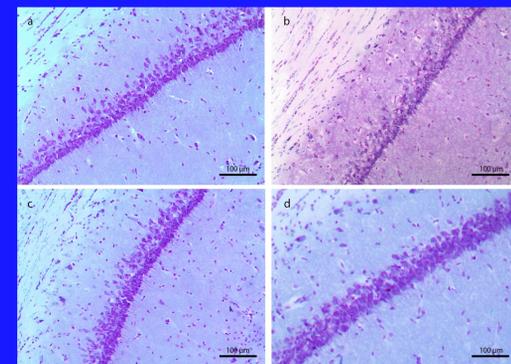
**RESULTADOS:** Nuestros resultados muestran que a nivel neuroconductual, los grupos a los que se les indujo TCE y se les restringió de movimiento, y a los que se les aplicó EMT, tuvieron una mayor y más rápida recuperación.

El análisis de dispersión celular realizado en las distintas regiones del hipocampo, muestra que en la region CA3 hay diferencias significativas, lo que respaldaría los datos neuroconductuales, además de indicar que tanto la restricción como la EMT son procesos que activan mecanismos neuroprotectores ante un TCE.



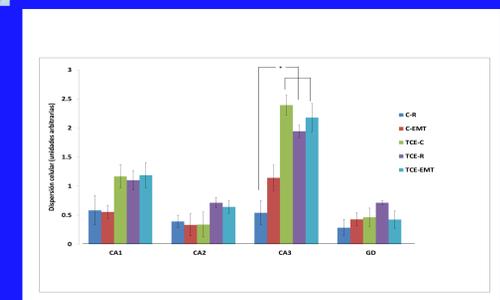
**Figura 1:** Evaluación de la escala neuroconductual en los distintos grupos experimentales. Los grupos TCE-R y TCE-EMT muestran una mejor recuperación con respecto al grupo TCE-C, a los 7 días post-TCE (una rata control tiene un puntaje de 21). \*p<0.05 vs control; Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney. Esto sugiere que tanto la restricción como la EMT están activando mecanismos neuroprotectores, que a su vez permiten una mejoría en aspectos relacionados con la conducta motora, el equilibrio, y la orientación espacial.

**Figura 2:** Se muestran cortes a nivel de la zona CA1 del hipocampo, teñidos con violeta de cresilo a 10X, en a: Rata C-EMT, b: Rata TCE-C, c: Rata TCE-R y d: Rata TCE-EMT. Tanto las ratas sometidas a restricción como las ratas con EMT muestran una aparente menor dispersión celular en esta zona con respecto a las ratas con TCE solamente.



**Figura 3:** Se muestran cortes de la zona CA3 del hipocampo, teñidos con violeta de cresilo a 10X, en a: Rata C-EMT, b: Rata TCE-C, c: Rata TCE-R y d: Rata TCE-EMT. También a este nivel se observa que la dispersión celular, tanto en las ratas con solo restricción, como las sometidas a EMT, es menor en comparación a las ratas con TCE.

**Figura 4:** Dispersión celular en las áreas hipocampales. La gráfica muestra la media ± ee de la dispersión celular, en las áreas CA1, CA2, CA3 y giro dentado del hipocampo. Como se puede apreciar en el áreas CA3 existen diferencias en los grupos de TCE respecto al grupo C-R. \*p<0.05, ANOVA y Duncan como post-hoc.



**DISCUSIÓN:** La evaluación a nivel histológico de las áreas del hipocampo, en ratas tanto control como experimentales es fundamental ya que los cambios observados muestran que en algunas de esas áreas la dispersión celular se modifica, primero como producto de un TCE, y luego a consecuencia de usar procesos como la restricción y la EMT, esta última ya es usada en humanos, sin embargo se requiere todavía de un mejor análisis en modelos animales, para tener certeza de cuales son las áreas más susceptibles, tanto al TCE como a los posibles procedimientos neuroprotectores.

## Bibliografía:

- Hunter et al. Functional assessments in mice and rats after focal stroke. *Neuropharmacology* 39 (5):806-816, 2000.
- Mohd Shafri et al. Cresyl violet staining to assess neuroprotective and neuroregenerative effects of haruan traditional extract against neurodegenerative damage of ketamine. *Int J Pharm Pharm Sci* 4 (4): 163-168, 2012.