

Artículo original**La ligadura de la arteria carótida altera la actividad vocalizadora de la cría del cobayo**

*MVZ Antonio Bueno Nava, *MVZ Alberto Avila Luna, **Tec. Jesús Espinoza Villanueva, ***Dr. Alfonso Alfaro Rodríguez y Dr. *Rigoberto González Piña

Resumen

La actividad vocalizadora de los mamíferos tiene un control complejo a nivel cerebral, siendo las lesiones cerebrales la principal causa de afasia en el hombre. Esto lleva a la necesidad de desarrollar modelos de daño cerebral que comprometan la vocalización, por lo que nuestro objetivo fue evaluar la actividad vocalizadora después de la ligadura de la arteria carótida del cobayo, como un modelo natural de daño cerebral.

De acuerdo a un diseño de parcelas divididas de un factor, se utilizaron 15 cobayos de 5 días de edad, asignados a 4 grupos: sin intervención (control), con intervención sin ligadura (sham), ligadura de carótida derecha durante 5 minutos (grupo 1) y ligadura de carótida derecha durante 10 minutos (grupo 2). Después de las intervenciones, se registró el número de vocalizaciones durante 3 minutos. Se aplicó una prueba ANOVA para grupos independientes y la prueba de tukey para contrastar las medias ($\alpha=0.05$).

Los resultados mostraron incremento de la actividad vocalizadora en los animales del grupo 1, mientras que en los animales del grupo 2 esta actividad disminuyó. En este grupo se observó adicionalmente una evolución de las secuelas muy parecida a la observada en humanos y una tendencia a la recuperación.

Estos resultados contrastantes pueden explicarse considerando que la anoxia cerebral durante cortos períodos de tiempo provoca el incremento de la actividad glutamatérgica, mientras que los períodos largos causan la depleción de este neurotransmisor.

La caracterización de este daño contribuirá en el desarrollo de un modelo animal de afasia.

Summary

Mamalian's vocal activity has a complex control at the cerebral level. In this context, brain injury one of the first fact to lead to aphasia in man. Thus, it is necessary to develop some animal models focused to study the vocal activity. In this work, we assessed such activity after the carotid occlusion in the guinea pig, as a natural brain damage model.

According to one non-corelated experimental design, it was used 15 male young guinea pigs (5 days old) allocated in 4 groups: without quirurgical intervention (control), quirurgical intervention without carotid occlusion (sham), quirurgical intervention and carotid occlusion during 5 minutes (Group 1) and quirurgical intervention and carotid occlusion during 10 minutes (Group 2). After interventions, number of vocalizations in 3 minutes were recorded. A non-corelated ANOVA analysis and a pos-hoc tukey test were used in order to compare groups ($\alpha=0.05$). Results showed increase of vocal activity in animals of group 1 while in animals of group 2 such activity decreased. Additionally, in the last group it was observed that sequelae seems to that observed in humans and a lightly trend to the functional recovery.

Such results can be explained in the basis of the role of the glutamatergic activity during ischaemia. The study of this damage could to contribute in the development of an animal model of aphasia.

Introducción

La actividad vocalizadora de algunos mamíferos, ha sido estudiada por presentar una aparente similitud a la del humano en su desarrollo fonológico. Uno de estos animales es el cobayo, que

*Laboratorio de Plasticidad Cerebral y Proliferación Celular

**Laboratorio de Histomorfología.

***Laboratorio de Neuroquímica. Subdirección de Enseñanza e Investigación, Instituto de la Comunicación Humana-Centro Nacional de Rehabilitación, SSA

ha sido empleado como modelo ya que las crías presentan una alta actividad vocalizadora al ser separadas de su madre ¹.

Algunos estudios realizados utilizando crías de cobayo parecen indicar que esta actividad se relaciona con estados de estrés ², ya que la administración de ansiolíticos disminuye de manera significativa el número de vocalizaciones ³.

Se sabe que la producción vocal requiere de un control neural muy complejo y este puede afectarse por una gran variedad de enfermedades neurológicas, como las vasculares ⁴. Por otra parte, se ha descrito algún grado de plasticidad en el cerebro del cobayo que lleva a la reconstrucción de algunas vías dañadas ⁵. Esto podría permitir el estudio de la recuperación funcional después del daño cerebral. Sin embargo, como puede observarse en casi todos los atlas anatómicos, su cerebro se encuentra altamente vascularizado, lo que lo protege contra eventos isquémicos. Esto es un impedimento para estudiar los efectos de la ligadura de la arteria cerebral media, tal y como se ha hecho en la rata. En cambio, facilita el estudio de la isquemia global mediante la ligadura de la arteria carótida.

Se sabe que la ligadura de la arteria carótida (LC) es capaz de producir alteraciones conductuales en la rata, pero no se ha caracterizado el efecto de la LC sobre la conducta de vocalización (V) del cobayo. Por esta razón se evaluó el efecto de la LC durante 5 y 10 minutos sobre la conducta vocalizadora en la cría del cobayo.

Métodos

Se emplearon 15 cobayos de 5 días de edad (d.e), los cuales se manejaron de acuerdo a la Ley General de Salud de México ⁶ y a la Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio ⁷. Los animales fueron colocados en una cámara sonoamortiguada en ausencia de su madre para inducir y grabar la actividad vocalizadora durante 3 minutos. Al día 5 d.e., se tomó el primer registro basal, un día después (6 d.e), los cobayos se asignaron azarosamente a uno de tres grupos (control, sham y experimental (LC)). El estudio se realizó en dos fases, considerando la gravedad de los efectos de la ligadura:

Fase 1.

La asignación de los animales fué en tres grupos: Sin cirugía (Control, n=3), con cirugía sin ligadura (sham, n=3) y con cirugía y ligadura de arteria carótida derecha durante 5 minutos (Grupo 1, n= 3). Al día 7 d.e. se realizó el segundo registro vocal, y así consecutivamente los siguientes 6 días (8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 d.e).

Fase 2.

Se distribuyeron en dos los grupos: Control (n= 3) y ligadura de arteria carótida derecha durante 10 minutos (Grupo 2, n= 3). Aquí se excluyó el grupo sham debido a que la sola incisión del cuello no produce daño sobre la actividad vocal. Después de la intervención, se tomaron tres registros vocales en aislamiento de la madre en los días 7, 10 y 19 días de edad. Esto fue en razón de que la ligadura durante 10 minutos garantiza efectos más severos, lo que justifica un estudio longitudinal más largo que en los animales ligados durante 5 minutos.

Después de obtener todos los registros en cintas magnéticas se procedió con el análisis mediante el conteo del número de emisiones vocales (nEV) y la cantidad total promedio se comparó entre los grupos mediante un ANOVA para grupos independientes y una prueba pos hoc de tukey (a £ 0.05).

Resultados

Los resultados encontrados indican una alteración de la actividad vocalizadora de las crías de cobayo, después de realizar la LC común derecha en ambas fases experimentales:

Fase 1

Se observó que la LC durante 5 minutos incrementó la actividad vocalizadora desde el día 1 al día 7, postlesión (7 a 14 d.e.). Este incremento fue significativo con respecto al grupo sham y control, los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí (Figura 1).

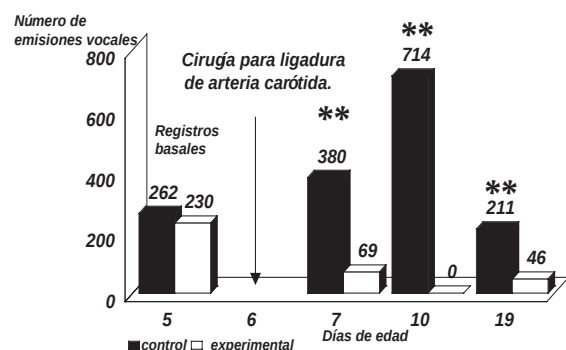


Figura 1. Se expresan los resultados obtenidos, en porcentaje de incremento respecto al basal, después de realizar la LC durante 5 minutos. Se observa que el incremento del grupo experimental es considerablemente significativo (a£ 0.000) con respecto a los grupos control y sham.

Fase 2

En la figura 2 se observa que los cobayos a los cuales se les realizó la ligadura durante 10 minutos, la vocalización desapareció totalmente cuatro días (10 d.e.) después de realizar la oclusión, en contraste con los animales controles que registraron el mayor número de vocalizaciones en este día. Al día 19 d.e., los animales ligados presentaron una recuperación parcial. Por medio de evaluación visual, se observó que los tres animales intervenidos presentaron inapetencia, decremento de peso, trastornos del movimiento y muerte a los 20 d.e.

Discusión

Se esperaba que la oclusión de la LC durante 5 minutos disminuyera el número de emisiones vocales como se observó con la oclusión durante 10 minutos. Sin embargo se encontró que las vocalizaciones se incrementaron significativamente con respecto al control.

Los resultados pueden explicarse tomando en cuenta la participación glutamatérgica en la conducta de vocalización. La participación de este neurotransmisor se ha documentado, ya que las vocalizaciones desaparecen si se inyecta ácido quinurénico, un antagonista glutamatérgico. Esta actividad se lleva a cabo en la sustancia gris periaqueductal y la corteza cingulada ⁸.

Se sabe que diversos neurotransmisores se incrementan o se agotan según el grado de anoxia y que particularmente el glutamato participa en los eventos del daño ⁹. Por lo tanto, posiblemente la ligadura durante cinco minutos promueva el incremento de glutamato, expresándose en un aumento de las vocalizaciones. Por otro lado, la ligadura durante 10 minutos posiblemente promueve el agotamiento del neurotransmisor, cuyo producto metabólico, el ácido glutámico, es tóxico. La

acumulación de este metabolito puede ser la responsable de la muerte de los animales y también puede ser la causa por la cual la recuperación funcional se encuentra comprometida.

Conclusión

Nuestros datos sugieren que la actividad vocalizadora varía con la duración de la pérdida de flujo sanguíneo determinando disfunciones antagónicas. Por este motivo, se hace necesario estudiar los niveles de glutamato en las áreas involucradas con la vocalización. Con el fin de evitar el sacrificio del animal, se plantea también aplicar la angiografía cerebral para determinar el alcance del daño durante la oclusión de la arteria carótida.

REFERENCIAS

1. Arch-Tirado E., McCowan B., Saltijeral-Oaxaca J., Zarco de Coronado I. y Licona-Bonilla J. 2000. Development of isolation – induced vocal behavior in normal – hearing and deafened guinea pig. J. Speech Lang. Hear Res. 43(2):432-40.
2. Hennessy M.B., Tamborski A y Schmiml P. 1988. The influence of maternal separation on plasma concentrations of ACTH, epinephrine and norepinephrine in guinea pig pups. Physiol. And Behavior. 45:1147-1152.
3. Hennessy M.B., Becker L.A. y O'Neil D.R. 1991. Peripherally administered CRH suppresses the vocalizations of isolated guinea pig pups. Physiol. and Behavior. 50:17-22.
4. Adams P.H.1998. Occlusion of the internal carotid artery:Reopening a Closed Door?. J.A.M.A.28(12)1093-1094.
5. Puel J.L., D'Aldin C., Ruel J., Ladrech S. and Pujol R. 1997. Synaptic repair mechanisms responsible for functional recovery in various cochlear pathologies. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 117:214-218.
6. Ley General de Salud. Leyes y Códigos de México. Colección Porrúa 12ª. Ed., México: Editorial Porrúa S.A., 1995: pp363-381.
7. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Edición mexicana auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. 1999
8. Kyuhou S. y Gemba H. 1999. Injection of orphanin FQ/ nociceptin into the periaqueductal gray suppresses the forebrain-elicited vocalizations in the guinea pig. Neurosc. Lett. 272(1):49-52
9. Griffin J.L., Rae C., Dixon R.M., Radda G.K., Matthews P.M. 1998. Excitatory aminoacid synthesis in hypoxic brain slices: does alanine act as a substrate for glutamate production in hypoxia?. J. Neurochem. 71(6):2477-86.

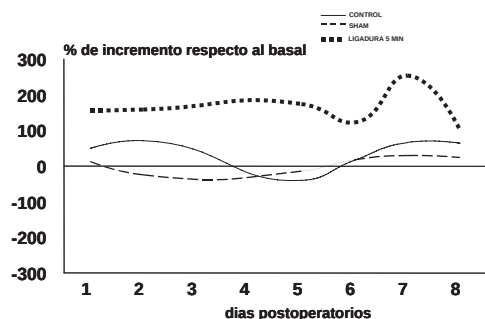


Figura 2. Al realizar la LC durante un periodo de 10 minutos se presentó una disminución importante en la actividad vocalizadora, la cual se perdió completamente 3 días después de la ligadura, esto es, a los 10 días de edad. Se observa también una tendencia a la recuperación en el día 19 de edad. ** a£ 0.001.