
REVISIÓN NARRATIVA

TRAUMA CRANEOENCEFÁLICO: FISIOPATOLOGÍA Y MOLÉCULAS PROTECTORAS.

TRAUMATIC BRAIN INJURY: PATHOPHYSIOLOGY AND BIOMARKERS.

TRAUMA CRANIOENCEFÁLICO: FISIOPATOLOGIA E MOLECULAS PROTETORAS.

**Imara Chaverra Torres MD¹, Lina Becerra-Hernández MD, MSc,
PhD^{2,3}**

¹Médica general de la Pontificia Universidad Javeriana Cali, Colombia.

²Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Clínicas de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana de Cali

³Centro de Estudios Cerebrales, Universidad del Valle. Cali, Colombia.

Correspondencia

Imara Chaverra Torres MD. Médica general de la Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia.

Dirección: Cl. 18 #118-250, Barrio Pance, Cali, Valle del Cauca

Correo electrónico: im951@javerianacali.edu.co

Resumen

El trauma craneoencefálico es una patología que se caracteriza por presentar alguna alteración neurológica secundaria a una lesión traumática producida por la liberación de una fuerza externa, bien sea, química, mecánica, térmica, eléctrica, radiante o una mezcla de ellas; ocasionando daño estructural en la bóveda craneana y su contenido. Presenta diversas clasificaciones: según el

mecanismo del trauma, según la severidad del trauma, o conforme a la correlación anatomopatológica. El trauma afecta a más de 60 millones de personas cada año en todo el mundo, mayoritariamente en países con bajos y medianos ingresos en los que ocurre el 90% de los casos, siendo los accidentes de tránsito la principal causa de la morbimortalidad asociada. Fisiopatológicamente se identifican la injuria primaria y secundaria. Ante la gravedad del TCE se han realizado investigaciones sobre posibles blancos terapéuticos que pudieran mejorar la sobrevida de los pacientes o aminorar las lesiones subsecuentes del trauma, entre ellas la Proteína Precursora Amiloide, el Factor Nuclear Eritroide Similar al Factor 2 y la Terbutilhidroquinona. En este documento se abordan estas moléculas en el contexto del trauma, según la literatura desde 1990 hasta la actualidad, y se excluyeron documentos relacionados con la población pediátrica y obstétrica. Las tres moléculas tienen evidencia preclínica que las propone como potenciales blancos para intervención en trauma craneoencefálico, actuando sobre puntos clave de la fisiopatología del trauma.

Palabras clave: Trauma craneoencefálico, TCE, fisiopatología, Proteína Precursora Amiloide, Factor Nuclear Eritroide Similar al Factor 2, Terbutilhidroquinona.

Abstract

Traumatic Brain Injury is a pathology that is characterized by presenting some neurological alteration secondary to a traumatic injury produced by the release of an external force, whether it's chemical, mechanical, thermal, electrical, radiant or a mixture of them; causing structural damage to the cranial vault and its contents. It is classified according to the mechanism of the trauma, according to the severity of the trauma or according to the anatomopathological correlation. In clinical practice, the most widely used classification is the first and is carried out using the Glasgow Coma Scale. Trauma affects more than 60 million people each year throughout the world, mostly in low- and middle-income countries, where 90% of cases occur, with traffic accidents being the main cause of associated morbidity and mortality. From physiopathology, primary and secondary injuries are identified. Given the severity of TBI, this article aims to describe some investigations have been carried out on possible therapeutic targets that could improve the survival of patients or reduce subsequent injuries from trauma, including Amyloid Precursor Protein,

Erythroid Nuclear Factor Similar to Factor 2 and Terbutylhydroquinone. In this document, these molecules were addressed in the context of trauma. The literature recorded from 1990 to the present was taken into account, and documents dealing with the pediatric population were excluded. The three molecules have preclinical evidence that proposes them as potential targets for intervention in traumatic brain injury, acting on key points of its pathophysiology.

Key words: Head injury, TBI, pathophysiology, Amyloid Precursor Protein, Erythroid Nuclear Factor-Like Factor 2, Terbutylhydroquinone.

Resumo

O traumatismo cranioencefálico é uma patologia que se caracteriza por apresentar alguma alteração neurológica secundária a uma lesão traumática produzida pela liberação de uma força externa, seja ela química, mecânica, térmica, elétrica, radiante ou uma mistura de todas elas, ocasionando danos estruturais na abóbada craniana e seu conteúdo. Apresenta diversas classificações: de acordo com o mecanismo do trauma, de acordo com a gravidade do trauma, ou de acordo com a correlação anatomopatológica. O trauma afeta mais de 60 milhões de pessoas por ano em todo o mundo, principalmente em países de baixa e média renda, onde 90% dos casos ocorrem, sendo os acidentes de trânsito a principal causa de morbimortalidade associada. Fisiopatologicamente, identificam-se a injúria primária e secundária. Diante da gravidade do TCE, foram realizadas pesquisas sobre possíveis alvos terapêuticos que pudessem melhorar a sobrevivência dos pacientes ou diminuir as lesões subsequentes do trauma, incluindo a Proteína Precursora Amiloide, o Fator Nuclear Eritroide Similar ao Fator 2 e a Terbutilhidroquinona. Neste documento, essas moléculas são abordadas no contexto do trauma, de acordo com a literatura desde 1990 até o presente momento, e documentos relacionados à população pediátrica e obstétrica foram excluídos. As três moléculas têm evidência pré-clínica que as propõe como potenciais alvos para intervenção no trauma cranioencefálico, atuando em pontos-chave da fisiopatologia do trauma.

Palavras chave: Traumatismo cranioencefálico, TCE, fisiopatologia, Proteína Precursora Amiloide, Fator Nuclear Eritroide Similares ao Fator 2, Terbutilhidroquinona.

Introducción:

El trauma craneoencefálico (TCE) se caracteriza por la alteración neurológica secundaria a una lesión traumática producida por la liberación de una fuerza externa, bien sea química, mecánica, térmica, eléctrica, radiante o una mezcla de ellas; ocasionando daño estructural en la bóveda craneana y su contenido (1). Clínicamente se caracteriza por períodos de alteración de la conciencia, amnesia retrógrada o anterógrada, debilidad muscular, pérdida de la coordinación o del equilibrio, pérdida de la visión, cambios en el lenguaje o cambios en la percepción sensorial (2).

Este puede clasificarse según el mecanismo del trauma, la severidad o conforme a la correlación anatomopatológica (1), en la que se incluye el trauma por explosión característico de la población militar (3). La clasificación según la severidad del trauma es la más usada en la práctica clínica, y se realiza a través de la Escala de Coma de Glasgow la cual permite correlacionar la presentación clínica con los desenlaces de la patología y los hallazgos en la imagenología y patología macroscópica postmortem (1). Esta escala cuenta con limitaciones que pueden interferir en la correcta clasificación del TCE o en el pronóstico de recuperación, y su uso se hace difícil en diversas condiciones como imposibilidad de apertura palpebral por edema, pérdida de la audición, patologías psiquiátricas, fracturas, entre otros (4). Por ende, en el contexto del trauma, es importante la implementación de ayudas diagnósticas como las tomografías computarizadas (TAC) o el uso de otras escalas como la Escala de traumatismo y severidad de injuria (TRISS SCORE) o la Escala Abreviada de Injuria (AIS SCORE) (5,6) para precisar su clasificación.

Aunque existe subregistro epidemiológico se sabe que el trauma afecta a más de 60 millones de personas cada año en todo el mundo (7,8); mayoritariamente a personas en países con bajos y medianos ingresos en los que ocurre el 90% de los casos. Las principales causas asociadas son los accidentes de tránsito y la violencia, siendo el primero el causante de aproximadamente el 60% de los casos (8,9). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los accidentes de tránsito causan el 2.5% de las muertes en todo el mundo por lo que estima que para el 2030 estos constituirán la séptima causa de muerte a nivel mundial (10).

Fisiopatología del trauma craneoencefálico

Injuria primaria:

La injuria primaria es la que tiene lugar inmediatamente después del evento traumático; en ella se pueden evidenciar daños locales, difusos o ambos de acuerdo con la severidad del trauma (11). Una de las lesiones frecuentes posterior al impacto inicial es el área necrótica secundaria al compromiso del flujo sanguíneo, que se puede asociar a hematomas o hemorragias subdurales o intracerebrales (12). De igual manera, por el efecto rebote, puede haber un segundo impacto en el tejido opuesto al sitio inicial de la lesión o al tejido circundante del mismo (2). Por lo que es posible observar signos neurológicos súbitos o de rápida aparición como alteración de la conciencia, cambios en el comportamiento o lesiones motoras. En contraste, la lesión difusa se da por fuerzas sin contacto de rápida aceleración y desaceleración que causan lesiones de corte y estiramiento en los tejidos nerviosos, como es el caso de la lesión axonal difusa (13).

Injuria secundaria:

La injuria secundaria hace referencia a una serie de eventos complejos a nivel molecular que pueden extenderse por horas o incluso años agravando así la lesión y limitando el pronóstico de recuperación. Algunos de los eventos son: excitotoxicidad, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, peroxidación lipídica, neuroinflamación, degeneración axonal y apoptosis (2).

De manera breve y secuencial, el entendimiento de esta injuria se puede iniciar con la disfunción de la barrera hematoencefálica (BH) después del trauma, lo que permite el paso de leucocitos activados dentro del parénquima cerebral; estos, junto a la microglía y los astrocitos se encargan de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), citoquinas y quimioquinas que darán lugar a la inflamación local, desmielinización y disrupción del citoesqueleto axonal.

Está documentado que existe una liberación excesiva de aminoácidos excitatorios posterior al TCE (14) así como disminución de la expresión de recaptadores de glutamato (EAAT1-5 en humanos) (15), lo que permite mayor disponibilidad en la hendidura sináptica, permitiendo la activación de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos (iGLURS) y metabotrópicos (mGLURS). Los iGLURS son selectivamente permeables a cationes que inducen la despolarización membranal, teniendo AMPA y NMDA roles principales y codependientes en el contexto del trauma (15). Los iGluRs inducen la activación de señales downstream como la Calcio/calmodulina Kinasa II (CAM/KII),

proteínas Kinasas activadas por mitógeno, y fosfatasas. De igual manera, la activación de los receptores AMPA, genera a su vez activación de la vía MAP Kinasa, promoviendo así la formación de especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico, exacerbando la injuria celular (16). Los mGluRs son receptores unidos a proteínas G con 7 segmentos transmembrana asociados a un gran segmento extracelular amino-terminal y uno pequeño intracelular, carboxilo-terminal. Se subdividen en 3 tipos: el primero contiene a los mGluRs 1 y 5, el segundo se compone de los mGluRs 2 y 3, y el tercero contiene a los mGluRs 4,6,7,8 (17).

En el caso del TCE cobran importancia los mGLURS del grupo 1, ya que se acoplan a la hidrólisis catalizada por la Fosfolipasa C del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfonato que permite la movilización del calcio a nivel intracelular (18,19).

Además de la despolarización de la membrana celular, la elevación de calcio intracelular genera edema en las organelas intracelulares, activación de endonucleasas que fragmentan el DNA con aglutinación de cromatina (2), y despolarización de la membrana mitocondrial con la formación del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PPTM); un canal complejo que conecta directamente el citoplasma celular con la matriz mitocondrial permitiendo el paso de moléculas de hasta 1.5 kDa como la citocromo C, factor inductor de la apoptosis (AIF) y la proteína Smac/DIABLO (19), las cuales están involucradas en la vía intrínseca de la apoptosis; además, aumenta la producción de ROS y la inhibición de la síntesis de ATP limitando la restauración metabólica de la célula (20).

La reacción entre ROS y óxido nítrico (NO) forma peróxido nítrico, siendo este medible con marcadores oxidativos como 3-nitrotirosina y 4 hidroxinonena, ²¹

los cuales se han encontrado en la corteza ipsilateral a la lesión y en el hipocampo después del trauma (21, 22, 23).

Durante las primeras 24 horas postrauma, el daño de la BH y la sobre expresión de ICAM-1 y VCAM-1, ligandos para receptores de adhesión de células endoteliales y leucocitarias, permiten la infiltración de neutrófilos, monocitos, macrófagos, IL-1 β , IL- 6, TNF- α , y linfocitos en el parénquima cerebral afectado (24); así mismo, quimoquinas como la proteína inflamatoria de macrófagos alfa (MIP-alfa), la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) e IL-8 que actúan sinérgicamente y participan en el reclutamiento de leucocitocitos en el sitio de la lesión (25). Como miembro de la superfamilia Fas, el TNF- α interactúa

estrechamente con los Fas ligando para la activación de proteínas proapoptóticas como las caspasas y la microglía, esta última relacionada con la astrogliosis reactivo (26).

Como se mencionó, el daño axonal difuso se da por fuerzas sin contacto de rápida aceleración y desaceleración que causan lesiones de corte y estiramiento en los tejidos nerviosos, generando desorganización en el citoesqueleto, degradación de la vaina de mielina, deterioro del transporte axonal y acúmulo de proteínas transportadoras en lesiones denominadas bulbos de retracción axonal, las cuales se ubican predominantemente en el cuerpo calloso, los tractos piramidales del tronco encefálico, el hipocampo, la corteza, el giro del cíngulo y la cápsula interna y externa (27).

Finalmente, se conoce como astrogliosis reactiva a la reacción astrocitaria de hipertrofia y proliferación que se da con el fin de ayudar a la reparación de la injuria. Para esto se conocen dos patrones denominados gliosis isomófica y anisomófica. En la primera se observa un patrón organizado y paralelo al sitio de la lesión, como el que ocurre en la degeneración Walleriana, y en la segunda se observa una masa densa sin patrón discernible. ²⁸ También pueden identificarse 3 fases en este proceso:

1. *Astrogliosis leve - moderada*: en la que ocurre la hipertrofia celular, cambios en la expresión molecular y aumento en la actividad funcional de los astrocitos.
2. *Astrogliosis severa difusa*: mediada por la proliferación astrocítica que provoca reorganización duradera de la arquitectura tisular en el área de la lesión.
3. *Astrogliosis severa con formación de tejido cicatrizante*: que se da para evitar la expansión de la lesión, pero como consecuencia también se detiene la reparación neuronal.

Además de lo anterior, se ha observado mediante análisis transcriptómicos dos tipos de astrocitos neuroinflamatorios: A1 y A2; los A1 regulan positivamente genes de la cascada del complemento que son destructivos para la sinapsis mientras que los A2 regulan positivamente

los factores neutróficos que promueven la supervivencia y el crecimiento neuronal. ²⁸

Protectores moleculares:

Proteína precursora amiloide (APP)

La idea de considerar opciones terapéuticas que prevengan las consecuencias del TCE severo y mejoren la calidad de vida de los pacientes ha llevado a la investigación de algunos marcadores moleculares como es el caso de la Proteína Precursora Amiloide (APP); una proteína descrita en 1987 relacionada con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (EA), descrita también en la evaluación anatomopatológica del sistema nervioso central después del TCE (29) y aunque no se conocen bien sus funciones, se considera que tiene acciones neuroprotectoras en el trauma y en la isquemia crónica posterior a un evento cerebrovascular (ECV) (30).

Esta es una proteína transmembranal compuesta por un largo dominio N terminal extracelular, una región hidrofóbica transmembranal y un extremo C terminal intracelular.

El splicing alternativo del gen de la APP, localizado en el cromosoma 21, produce 3 isoformas que contienen 695, 751 y 770 aminoácidos respectivamente, de las cuales, las dos últimas se localizan de manera ubicua en el cerebro (31). Una vez la proteína está madura, sale del núcleo y se desplaza a la membrana extracelular y sufre un proceso de clivaje mediado por la enzima secretasa α dando como resultado 3 péptidos: AICD, P3 y APP soluble α (APPs- α) (32).

Al tiempo, la enzima secretasa β cliva la proteína produciendo la APPs- β - involucrada en la fisiopatología de la EA - (33).

Dado a que la APP se conserva en diferentes especies de animales - mamíferos, insectos y nemátodos - se sugiere que tiene ventajas reproductivas y de supervivencia. De hecho, en el nemátodo *C. elegans* es letal la pérdida de la APP (34) y en *Drosophila* está relacionada con graves déficits de memoria (35). Ahora bien, los roedores que carecen de APP son viables y fértiles pero presentan peso corporal y cerebral reducido, manifestando síntomas de déficit neurológico como fuerza de agarre reducida, déficit en la memoria visoespacial y mayor

susceptibilidad a convulsiones. Estos roedores tienen disminución en el número de espinas dendríticas y disminución en la potenciación a largo plazo en la región hipocampal (36, 37).

Hay varios estudios que describen el aumento de la APP en los bulbos de retracción axonal tras condiciones hipóxico-isquémicas agudas y crónicas, como en un ECV o en enfermedades cerebrovasculares crónicas (38). Esto concuerda con estudios realizados en ratas, ratones y ovejas en los que se ha observado un aumento en la expresión de APP tras inducir un TCE moderado (39, 40, 41).

En 2006, se realizó el primer estudio in vivo en ratas para demostrar los efectos neuroprotectores de la APPs- α . Después de inducir una lesión traumática difusa los investigadores administraron APPs- α intraventricular, 30 minutos después se observó reducción en la lesión axonal y en la apoptosis de las células nerviosas, lo cual se reflejó en mejoría de la capacidad motora y cognitiva comparada con los controles (42). En el mismo estudio se realizaron análisis inmunohistoquímicos usando anticuerpos contra la caspasa 3, mostrando que el tratamiento con APPs- α redujo significativamente el número de somas neuronales apoptóticas dentro de la región CA3 del hipocampo y en la corteza a los 3 y 7 días posteriores a la lesión (42).

En 2012 se estudiaron los resultados histológicos y funcionales de ratones con lesión focal moderada asociada a la administración de APPs- α . Lo que se encontró fue que los ratones sin el tratamiento tenían un daño significativamente mayor sobre todo en la región hipocampal. Sin embargo, después de la administración de APPs- α mejoró el resultado histológico y funcional a tal punto que no eran significativamente diferentes al grupo que había recibido el tratamiento desde el inicio (43).

El mecanismo por el que se cree que actúa la APPs- α es por medio de la estabilización del calcio intracelular disminuyendo la excitotoxicidad, inhibiendo los canales voltaje dependiente de larga duración y también protegiendo las células hipocampales de la toxicidad mediada por el péptido amiloide beta(43, 44) el cual se ha observado en la formación de placas similares a las encontradas en la EA en la corteza temporal de personas relativamente jóvenes que mueren en la fase aguda después del TCE (45), además, hay evidencia de que el riesgo

de desarrollar EA aumenta 2.3 veces en personas con antecedente de TCE moderado y hasta 4.5 veces en aquellos con antecedente de TCE severo (46).

Factor Nuclear Eritroide Similar Al Factor 2 (Nrf2)

El Nrf2 pertenece a la familia de proteínas NF-E2 con un característico “zipper” o cierre de leucinas (bZip) en la región C- terminal. Fue descubierto como protector contra la hepatotoxicidad del acetaminofén regulando las enzimas metabolizadoras de fármacos y genes antioxidantes (47). En condiciones fisiológicas esta proteína tiene una ubicación citoplasmática y es inhibida por la proteína KEAP1, de hecho, la KEAP1 sirve como un adaptador para la proteína Cullin 3 y así induce su degradación proteosomal. Sin embargo, ante el aumento de estrés celular, por un proceso que no se ha esclarecido aún, Nrf2 se disocia de la proteína KEAP1 y se internaliza en el núcleo para actuar como factor de transcripción uniéndose por medio de sus 7 dominios, conocidos como “Neh”, a diversos puntos del genoma en respuesta a la injuria (48):

- a. *Neh 1* contiene el bZip que le permite su unión a una secuencia genética conocida como ARE (Elementos de Respuesta Antioxidante) para la síntesis de proteínas antioxidantes y de modulación inmunológica, que ayudan a preservar la BH por la inducción de moléculas como la glutatión S - transferasa α -1 (GST α 1), o La hemo oxigenasa 1 (HO-1); también actúa en la disminución del estrés oxidativo por la síntesis de moléculas como la HO-1, la NADPH quinona oxidoreductasa 1 (NQO-1) y la inhibición de NADPH oxidasa 2 (NOX2).
- b. *Neh 2* media la unión a la proteína KEAP1.
- c. *Neh 3* se ubica en el extremo C terminal y actúa uniéndose a la helicasa.
- d. Los *Neh 4* y *5* actúan activando la proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc, CREB 1, un factor de transcripción que actúa en la síntesis del factor de crecimiento nervioso, encefalina y somatostatina.
- e. *Neh 6* media la degradación independiente de KEAP1.
- f. *Neh 7* actúa con el receptor X retinoide alfa (RXRA), un receptor nuclear que codifica la síntesis de ácido retinoico para la disminución de la expresión de NO, prostaglandinas, IL y citocinas.

Se sabe que la ausencia de Nrf2 en ratas está relacionada con aumento del edema cerebral e injuria neuronal 24 horas después del trauma (49). Estudios

revelaron que en ausencia de Nrf2 aumenta la expresión de NADPH, NOX-2, Malondialdehído (MDA), TNF- α , IL-1 β , IL-6 e ICAM-1 (50), mientras que la acción redox de la superóxido dismutasa (SOD) está disminuida (51). En contraste se ha demostrado que Nrf2 aumenta en la hipoxia al igual que la expresión de genes como el de la HO-1 aliviando el daño por estrés oxidativo (52), por lo que ayuda a preservar la función de la BH reduciendo los marcadores celulares endoteliales y la conservación de las proteínas de unión (53, 54).

Terbutilhidroquinona (TBHQ):

La TBHQ es miembro de la clase de hidroquinonas en las que se reemplaza un anillo de hidroquinona por un anillo del grupo tert-butilo.⁵⁵ Se conoce ampliamente en la industria alimentaria para la conservación de comidas de alto contenido graso, como aceites o margarina (56, 57). En la literatura se encuentran algunos estudios a partir del 2000 sobre la efectividad de la tBHQ en el TCE.

En 2011, Wei Jin y su equipo describieron el incremento de Nrf2 después de la administración de tBHQ en el TCE agudo y además describieron las vías que fueron activadas en el proceso; para esto tomaron 36 ratones separados por igual en tres grupos: el primero de control más la administración del vehículo (solución salina), el segundo de ratones con TCE experimental más el vehículo, y el tercero de ratones con TCE más la administración de tBHQ. El último grupo fue alimentado con suplementos dietarios ricos en tBHQ una semana antes de inducir el TCE experimental. Los animales fueron sacrificados 24 horas después de la injuria.

Por medio de ensayo de cambio en la corrida electroforética o EMSA, por sus siglas en inglés, se determinó la unión de Nrf2 al DNA y la activación del factor nuclear kappa B (NF-kB), y por medio de ELISA se midieron las concentraciones de proteínas inflamatorias.

Se observó baja actividad de Nrf2 en el grupo uno, pero aumentada en los grupos dos y tres, especialmente en el último. La actividad de NF-kB estuvo disminuida en el primer grupo, aumentada en el segundo y tercero pero posteriormente atenuada en el último. Finalmente, la concentración de las citoquinas inflamatorias tuvo un resultado similar a los anteriores, fue baja en

el primer grupo, aumentó en el segundo, y tras la administración de la tBHQ disminuyó considerablemente en el tercero (58, 59).

Otros estudios in vitro también apoyan la teoría de efectividad de la tBHQ para la activación de ARE en cultivos de astrocitos por medio de la activación de Nrf2.⁵⁹ Sin embargo postulan que la actividad de la tBHQ sería nula en caso de que el individuo a estudiar carezca de Nrf2 (60, 61), resaltando que este es un agente neuroprotector por excelencia por su facilidad de unión a diversos puntos del genoma que le permite la inducción de expresión de moléculas como la HO-1, la NQO-1 o el RXRA (62).

En 2014 (62), Zhong et al. investigaron el efecto de la tBHQ en el TCE agudo al igual que la disfunción cognitiva después de inducir una hemorragia subaracnoidea (SAH, por sus siglas en inglés) en ratas Sprague - Dawley (SD). Se organizaron cuatro grupos: el grupo de control (n=40), el grupo con SAH (n=40), el grupo con SAH más el vehículo (solución salina) y finalmente, el grupo con SAH más la administración de tBHQ. Estas últimas recibieron 12.5 mg/kg de tBHQ a las 2 horas, 12 horas, 24 horas y 36 horas después de la SAH. De igual manera, se administró el vehículo con la misma dosis y horario al grupo tres. Posteriormente se establecieron dos entornos experimentales, en el primero se decapitaron los animales 48 horas después de la SAH (n=30 de cada grupo) y en el segundo los animales fueron entrenados y evaluados por medio del test de Morris Water Maze (MWM) (n=10 de cada grupo). Y se utilizaron técnicas de inmunohistoquímica, Western blot (WB) y EMSA para evaluar la actividad de la vía Keap1 / Nrf2 / ARE después de la administración de la tBHQ.

Por medio de WB se observó que los niveles de esta vía fueron muy bajos en el grupo control antes y después de la administración de tBHQ durante las 48 horas de observación. Sin embargo, los grupos dos y tres incrementaron significativamente los niveles de esta vía en comparación a lo observado antes de la injuria. Por otro lado, el grupo cuatro superó los niveles de la vía después de la administración de tBHQ en comparación con los grupos anteriores.

Con EMSA se observó baja actividad de unión de la tBHQ a Nrf2 en el grupo de control pero alta actividad en el segundo y tercer grupo; y en el último, fue significativamente mayor en contraste con la actividad medida antes de la inducción de la injuria.

Los estudios de inmunohistoquímica mostraron positividad de la vía Keap1 / Nrf2 / HO -1 principalmente en las neuronas y las células gliales de los grupos dos, tres y cuatro, pero significativamente mayores en el último.

Finalmente se realizaron las pruebas de MWM para evaluar el aprendizaje, la memoria espacial y la memoria de trabajo. Lo que se evidenció fue que hubo concordancia con los hallazgos descritos anteriormente, el grupo cuatro tuvo mucho mejor desempeño en las pruebas, lo que sugiere que la administración de tBHQ para la activación de la vía Keap 1 / Nrf2 / ARE puede mitigar el daño inducido por la SAH en la memoria espacial, la memoria de trabajo y el aprendizaje.

En 2020 un grupo de investigadores agregaron un punto diferencial a la discusión del rol de la tBHQ en el TCE, describieron la disminución de la activación de los astrocitos reactivos ante la injuria neurológica. Para ello se utilizaron 72 SD las cuales se dividieron en cuatro grupos, cada uno con 18 SD, el primer grupo corresponde al control más el vehículo (solución salina), el segundo grupo a la inducción de TCE experimental más el vehículo, el tercer grupo corresponde al control más tBHQ y el cuarto compuesto por el TCE más tBHQ. La tBHQ fue administrada de forma intraperitoneal a dosis de 25 mg/kg después del TCE, la solución salina fue inyectada de la misma manera, ambos durante 7 días. Los grupos fueron evaluados neurológicamente con la escala de severidad neurológica (mNSS) tres veces al día, los días 7, 14, 21 y 28 después de la injuria. Además, evaluaron la función motora e hipocampal con el test de MWM en los días 22-27 del experimento. Fueron usadas también técnicas de inmunofluorescencia y Western blot para evaluar la actividad de la tBHQ.

Para las técnicas de inmunofluorescencia fue usada la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) para evaluar la función astrocitaria después del TCE y se evidenció que la expresión de esta proteína aumentó después de la injuria neuronal, y disminuyó después de la administración de tBHQ.

En los grupos controles no hubo diferencia en la morfología de los astrocitos antes y después de la tBHQ, eran pequeños con procesos largos y delgados, lo que quiere decir que conservaban su forma fisiológica, en contraste con los grupos expuestos a la injuria neuronal, los astrocitos eran hipertróficos y alargados, y la actividad de la GFAP aumentó significativamente.

También se hizo uso del antígeno neuronal nuclear (NeuN) para evaluar la acción de la tBHQ en la vía del Nrf2/HO-1. NeuN fue administrado en la corteza ipsilateral de la lesión después de la inducción del TCE en las SD. Se mostró que el grupo al que no se le administró tBHQ tuvo una disminución significativa de células neuronales en comparación con los grupos de control, pero, el grupo al que se le administró tBHQ después del TCE incrementó considerablemente la marcación de NeuN, sugiriendo su acción neuroprotectora.

También se evaluó la vía por medio de Western Blot, y se evidenció que la tBHQ aumentó significativamente la expresión de los genes que inducen Nrf2, NQO1, y HO-1.⁶³

Las pruebas realizadas mediante el test MWM para evaluar la disfunción cognitiva después del TCE demostraron que aquellas ratas a las que se les administró tBHQ tuvieron una mejoría significativa en el aprendizaje y la memoria en contraste con las que no obtuvieron tratamiento, al contrario, estas últimas tuvieron pérdida progresiva de memoria.⁶³

Son varias las moléculas inductoras del Nrf2, sin embargo, por la amplia utilización de la tBHQ en la industria alimentaria esta cobra mayor interés investigativo. Su uso sigue siendo controversial, porque si bien se conocen sus efectos neuroprotectores, en altas dosis podría estar relacionada por la aparición de cáncer.

Conclusiones:

La fisiopatología del TCE involucra principalmente mecanismos como la excitotoxicidad, la disfunción mitocondrial, la astrogliosis reactiva o el daño axonal difuso que podrían ser blancos terapéuticos para disminuir la morbimortalidad del TCE. Algunas moléculas se han tenido en consideración según la evidencia en la literatura reciente, como es el caso de la APPs- α , el Nrf2 y la tBHQ. La APPs- α parece tener efectos neuroprotectores, ya que se ha observado que tras la administración exógena en el TCE agudo experimental en ratas se asocia con disminución del número de somas neuronales apoptóticas dentro de la región CA3 del hipocampo y la corteza, lo cual se ve representado en mejoría en la capacidad motora y cognitiva. Por su parte, Nrf2 tiene la capacidad de unirse a diversos puntos del genoma que le permite la inducción de moléculas anti estrés oxidativo como la HO-1, la NQO-1 y disminución de la NOX2, que preservan la BH disminuyendo también la actividad de moléculas o

factores proinflamatorios como el NF- κ B. Por último, la tBHQ, la única molécula no fisiológica descrita en este artículo, cobra relevancia en TCE porque está relacionada con la inducción del Nrf2, potenciando así su actividad. Los estudios preclínicos con esta molécula evidencian mejoría en la memoria de trabajo, visoespacial y en la función motora respecto a los controles. Las cascadas biológicas y contextos relacionados con estas tres moléculas constituyen puntos clave para el futuro diseño y abordaje terapéutico para el trauma craneoencefálico en humanos.

Referencias:

1. Ministerio de Salud y Protección Social, Rubiano Escobar AM et al. Guía colombiana de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de pacientes adultos con trauma craneoencefálico severo [Internet]. Ministerio de Salud y Protección Social. 2016 [citado 2022Oct18]. Disponible en <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/C/A/gpc-profesionales-completa-adultos-trauma-craneoencefalico-severo.pdf>
2. Centers for Disease Control and Prevention. . Report to Congress on Traumatic Brain Injury in the United States: Epidemiology and Rehabilitation. [Internet]. 2015 [citado 2022Oct26]. Disponible en: https://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/tbi_report_to_congress_epi_and_rehab-a.pdf?_hsenc=p2ANqtz-8ezXS6LlptZETVIRCTLawzpF2Zh_QbH8sKPHJXRI45yicklm4DOLaP_VIRazO7wEVBllwQq94BCinpyTUB4EWNgAACHQ&_hsmi=67061850
3. Ng S and Lee A. Traumatic brain injuries: Pathophysiology and potential therapeutic targets [Internet]. *Frontiers*. *Frontiers*; 2019 [citado 2022Oct16]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2019.00528/full>
4. Gabbe BJ, Cameron PA, Finch CF. The status of the Glasgow Coma Scale. *Emergency Medicine Australasia*. 2003Jul25;15(4):353–60.
5. Patil A, Srinivasarangan M, Javali RH, LNU K, LNU S, LNU S. Comparison of Injury Severity Score, new injury severity score, revised trauma score and

- trauma and injury severity score for mortality prediction in elderly trauma patients. *Indian Journal of Critical Care Medicine*. 2019Feb23;23(2):73–7.
6. Lesko MM, Woodford M, White L, O'Brien SJ, Childs C, Lecky FE. Using abbreviated injury scale (AIS) codes to classify computed tomography (CT) features in the marshall system. *BMC Medical Research Methodology*. 2010;10(1).
 7. GEO-TBI. GEO-TBI [Internet]. Global Health Research Group on Neurotrauma. 2023 [citado 2023Feb16]. Disponible en: <https://geotbi.org/>
 8. Dewan MC, Rattani A, Gupta S, Baticulon RE, Hung Y-C, Punchak M, et al. Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*. 2018Apr27;130(4):1080–97.
 9. Dunne J, Quiñones-Ossa GA, Still EG, Suarez MN, González-Soto JA, Vera DS, et al. The epidemiology of traumatic brain injury due to traffic accidents in Latin America: A narrative review. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2020Apr2;11:287–90.
 10. WHO. Global status report on road safety 2015 [Internet]. World Health Organization. World Health Organization; 2015 [citado 2022Oct23]. Disponible en: <https://www.afro.who.int/publications/global-status-report-road-safety-2015>
 11. Skandsen T, Kvistad KA, Solheim O, Strand IH, Folvik M, Vik A. Prevalence and impact of diffuse axonal injury in patients with moderate and severe head injury: A cohort study of early magnetic resonance imaging findings and 1-year outcome. *Journal of Neurosurgery*. 2010Sep;113(3):556–63.
 12. Clifton GL, Coffey CS, Fourwinds S, Zygun D, Valadka A, Smith KR, et al. Early induction of hypothermia for evacuated intracranial hematomas: A post hoc analysis of two clinical trials. *Journal of Neurosurgery*. 2012;117(4):714–20.
 13. Saatman, K. E., Duhaime, A. C., Bullock, R., Maas, A. I., Valadka, A., and Manley, G. T. (2008). Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. *J. Neurotrauma* 25, 719–738. doi: 10.1089/neu.2008.0586
 14. Chamoun, R., Suki, D., Gopinath, S. P., Goodman, J. C., and Robertson, C. (2010). Role of extracellular glutamate measured by cerebral

- microdialysis in severe traumatic brain injury. *J. Neurosurg.* 113, 564–570. doi: 10.3171/2009.12.jns09689
15. Giménez Martín C, Zafra Gómez F, Aragón Rueda C. Fisiopatología de los transportadores de glutamato y de glicina: Nuevas Dianas Terapéuticas. *Revista de Neurología.* 2018Dic16;67(12):491.
 16. Luo, P., Fei, F., Zhang, L., Qu, Y., and Fei, Z. (2011). The role of glutamate receptors in traumatic brain injury: implications for postsynaptic density in pathophysiology. *Brain Res. Bull.* 85, 313–320. doi: 10.1016/j.brainresbull.2011.05.004
 17. Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: Physiology, pharmacology, and disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* 2010;50(1):295–322.
 18. Weber JT. Altered calcium signaling following traumatic brain injury. *Frontiers in Pharmacology.* 2012Mar12;3.
 19. Pérez-Burgos, Alamilla. El fosfatidilinositol-4,5-bifosfato y sus acciones sobre los canales iónicos. Vol.21, No.2. 2010Ago25.
 20. García N, García JJ, Correa F, Chávez E. The permeability transition pore as a pathway for the release of mitochondrial DNA. *Life Sciences.* 2005Apr29;76(24):2873–80.
 21. Hall, E. D., Detloff, M. R., Johnson, K., and Kupina, N. C. (2004). Peroxynitrite-mediated protein nitration and lipid peroxidation in a mouse model of traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 21, 9–20. doi: 10.1089/089771504772695904
 22. Singh, I. N., Sullivan, P. G., Deng, Y., Mbye, L. H., and Hall, E. D. (2006). Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: implications for neuroprotective therapy. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26, 1407–1418. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600297
 23. Ansari, M. A., Roberts, K. N., and Scheff, S. W. (2008a). Oxidative stress and modification of synaptic proteins in hippocampus after traumatic brain injury. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 443–452. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.038

24. Lotocki, G., de Rivero Vaccari, J. P., Perez, E. R., Sanchez-Molano, J., Furones-Alonso, O., Bramlett, H. M., et al. (2009). Alterations in blood-brain barrier permeability to large and small molecules and leukocyte accumulation after traumatic brain injury: effects of post-traumatic hypothermia. *J. Neurotrauma* 26, 1123–1134. doi: 10.1089/neu.2008.0802
25. Semple, B. D., Bye, N., Rancan, M., Ziebell, J. M., and Morganti-Kossmann, M. C. (2010). Role of CCL2 (MCP-1) in traumatic brain injury (TBI): evidence from severe TBI patients and CCL2^{-/-} mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 30, 769–782. doi: 10.1038/jcbfm.2009.262
26. Morganti-Kossmann, M. C., Rancan, M., Stahel, P. F., and Kossmann, T. (2002). Inflammatory response in acute traumatic brain injury: a double-edged sword. *Cur. Opin. Crit. Care* 8, 101–105. doi: 10.1097/00075198-200204000-00002
27. Mujica B M, González T G, Larraín G C, Miller T P, Castoldi L F. Resonancia magnética cerebral en Daño axonal DIFUSO. *Revista chilena de radiología.* 2003;9(4).
28. Martínez J, Castro M. El Yin y el yang de la astrogliosis reactiva [Internet]. *Ciencia UANL.* 2021 [citado 2022Oct26]. Disponible en: <https://cienciauanl.uanl.mx/?p=10864>
29. Perreau VM, Orchard S, Adlard PA, Bellingham SA, Cappai R, Ciccotosto GD, et al. A domain level interaction network of amyloid precursor protein and AB of alzheimer's disease. *PROTEOMICS.* 2010;10(12):2377–95.
30. Romero Tirado, M.A. et al. Proteína precursora del beta-amiloide (β -App) y daño axonal difuso tras un traumatismo craneoencefálico: un punto de vista forense. *Med. leg. Costa Rica* [online]. 2022, vol.39, n.2, pp.37-50. ISSN 2215-5287.
31. Plummer S, Van den Heuvel C, Thornton E, Corrigan F, Cappai R. The neuroprotective properties of the amyloid precursor protein following traumatic brain injury. *Aging and disease.* 2016Mar15;7(2):163.
32. Prox J, Rittger A, Saftig P. Physiological functions of the amyloid precursor protein secretases ADAM10, BACE1, and Presenilin. *Experimental Brain Research.* 2011Nov27;217(3-4):331–41.

33. Hiltunen M, van Groen T, Jolkkonen J. Functional roles of amyloid- β protein precursor and amyloid- β peptides: Evidence from experimental studies. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009May4;18(2):401–12.
34. Hornsten, A., Lieberthal, J., Fadia, S., Malins, R., Ha, L., Xu, X., et al. (2007). APL-1, a *Caenorhabditis elegans* protein related to the human β -amyloid precursor protein, is essential for viability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 104, 1971–1976. doi: 10.1073/pnas.0603997104
35. Bourdet, I., Preat, T., and Goguel, V. (2015). The full-length form of the *Drosophila* amyloid precursor protein is involved in memory formation. *J. Neurosci.* 35, 1043–1051. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2093-14.2015
36. Weyer, S. W., Klevanski, M., Delekate, A., Voikar, V., Aydin, D., Hick, M., et al. (2011). APP and APLP2 are essential at PNS and CNS synapses for transmission, spatial learning and LTP. *EMBO J.* 30, 2266–2280. doi: 10.1038/emboj.2011.119
37. Caldwell, J. H., Klevanski, M., Saar, M., and Müller, U. C. (2013). Roles of the amyloid precursor protein family in the peripheral nervous system. *Mech. Dev.* 130, 433–446. doi: 10.1016/j.mod.2012.11.001
38. Hefter D, Draguhn A. App as a protective factor in acute neuronal insults. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017Feb2;10.
39. Otsuka, N., Tomonaga, M., and Ikeda, K. (1991). Rapid appearance of β -amyloid precursor protein immunoreactivity in damaged axons and reactive glial cells in rat brain following needle stab injury. *Brain Res.* 568, 335–338. doi: 10.1016/0006-8993(91)91422-W
40. Lewén, A., Li, G. L., Nilsson, P., Olsson, Y., and Hillered, L. (1995). Traumatic brain injury in rat produces changes of beta-amyloid precursor protein immunoreactivity. *Neuroreport.* 6, 357–360. doi: 10.1097/00001756-199501000-00032
41. Lewén, A., Li, G. L., Olsson, Y., and Hillered, L. (1996). Changes in microtubule-associated protein 2 and amyloid precursor protein immunoreactivity following traumatic brain injury in rat: influence of MK-801 treatment. *Brain Res.* 719, 161–171. doi: 10.1016/0006-8993(96)00081-9

42. Thornton E, Vink R, Blumbergs PC, Van Den Heuvel C. Soluble amyloid precursor protein α reduces neuronal injury and improves functional outcome following diffuse traumatic brain injury in rats. *Brain Research*. 2006May15;1094(1):38–46.
43. Corrigan F, Vink R, Blumbergs PC, Masters CL, Cappai R, van den Heuvel C. SAPP α rescues deficits in amyloid precursor protein knockout mice following focal traumatic brain injury. *Journal of Neurochemistry*. 2012Apr20;122(1):208–20.
44. Ma T, Zhao YB, Kwak Y-D, Yang Z, Thompson R, Luo Z, et al. Statin's excitoprotection is mediated by Sapp and the subsequent attenuation of calpain-induced truncation events, likely via rho-rock signaling. *The Journal of Neuroscience*. 2009Sep9;29(36):11226–36.
45. Perry DC, Sturm VE, Peterson MJ, Pieper CF, Bullock T, Boeve BF, et al. Association of traumatic brain injury with subsequent neurological and psychiatric disease: A meta-analysis. *Journal of Neurosurgery*. 2015Aug28;124(2):511–26.
46. Traumatic brain injury (TBI) [Internet]. *Alzheimer's Disease and Dementia*. 2023 [citado 2023Feb24]. Disponible en: https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia/related_conditions/traumatic-brain-injury#:~:text=The%20key%20studies%20showing%20an,a%204.5%20times%20greater%20risk
47. Cuamani MG, García AON. El papel emergente del factor nuclear eritroide 2 Nrf2 en la neuroprotección mediada por astrocitos. *Rev Mex Neuroci*. 2016;17(5):49-59.
48. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*. 2010Sep16;49(11):1603–16.
49. Zhang L, Wang H. Targeting the NF-E2-related factor 2 pathway: A novel strategy for traumatic brain injury. *Molecular Neurobiology*. 2017Feb21;55(2):1773–85.
50. Jin W, Wang H, Yan W, Zhu L, Hu Z, Ding Y, et al. Role of Nrf2 in protection against traumatic brain injury in mice. *Journal of Neurotrauma*. 2009Feb5;26(1):131–9.

51. Lu X-Y, Wang H-dong, Xu J-G, Ding K, Li T. Pretreatment with tert-butylhydroquinone attenuates cerebral oxidative stress in mice after traumatic brain injury. *Journal of Surgical Research*. 2014May1;188(1):206–12.
52. Shu L, Wang C, Wang J, Zhang Y, Zhang X, Yang Y, et al. The neuroprotection of hypoxic preconditioning on rat brain against traumatic brain injury by up-regulated transcription factor Nrf2 and HO-1 expression. *Neuroscience Letters*. 2016Jan6;611:74–80.
53. Zhao J, Moore AN, Redell JB, Dash PK (2007) Enhancing expression of Nrf2-driven genes protects the blood brain barrier after brain injury. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27:10240–10248
54. Xu J, Wang H, Ding K, Zhang L, Wang C, Li T, Wei W, Lu X (2014) Luteolin provides neuroprotection in models of traumatic brain injury via the Nrf2-ARE pathway. *Free Radic Biol Med* 71: 186–19
55. National Center for Biotechnology Information. Tert-butylhydroquinone [Internet]. PubChem Compound Database. U.S. National Library of Medicine; 2023 [citado 2023Feb23]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/tert-Butylhydroquinone>
56. Khezerlou A, Akhlaghi Apouya, Alizadeh AM, Dehghan P, Maleki P. Alarming impact of the excessive use of tert-butylhydroquinone in food products: A narrative review. *Toxicology Reports*. 2022May2;9:1066–75.
57. Tert butylhydroquinone [Internet]. Tert Butylhydroquinone - an overview | ScienceDirect Topics. 2002 [citado 2023Feb22]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/tert-butylhydroquinone>
58. Jin W, Kong J, Wang H, Wu J, Lu T, Jiang J, et al. Protective effect of tert-butylhydroquinone on cerebral inflammatory response following traumatic brain injury in mice. *Injury*. 2011Apr3;42(7):714–8.
59. Johnson DA, Andrews GK, Xu W, Johnson JA. Activation of the antioxidant response element in primary cortical neuronal cultures derived from transgenic reporter mice. *Journal of Neurochemistry*. 2002Jun6;81(6):1233–41.

-
60. Li J, Johnson D, Calkins M, Wright L, Svendsen C, Johnson J. Stabilization of NRF2 by TBHQ confers protection against oxidative stress-induced cell death in human neural stem cells. *Toxicological Sciences*. 2004Feb3;83(2):313–28.
 61. Shih AY, Li P, Murphy TH. A small-molecule-inducible NRF2-mediated antioxidant response provides effective prophylaxis against cerebral ischemia *in vivo*. *The Journal of Neuroscience*. 2005;25(44):10321–35.
 62. Wang Z, Ji C, Wu L, Qiu J, Li Q, Shao Z, et al. Tert-butylhydroquinone alleviates early brain injury and cognitive dysfunction after experimental subarachnoid hemorrhage: Role of KEAP1/Nrf2/ARE pathway. *PLoS ONE*. 2014May21;9(5).
 63. Zhang Z-W, Liang J, Yan J-X, Ye Y-C, Wang J-J, Chen C, et al. TBHQ improved neurological recovery after traumatic brain injury by inhibiting the overactivation of astrocytes. *Brain Research*. 2020;1739:146818.