



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Posgrado en Ciencias Químicas

“Efecto de zinc, selenio y aprendizaje-memoria sobre la actividad enzimática, activación glial y neuroplasticidad inducida por un modelo de infarto cerebral severo”

Tesis presentada para obtener el grado de: Doctorado en Ciencias Químicas en el área de Bioquímica y Biología Molecular

Presenta:

M.C. Ana Karina Aguilar Peralta

Director de tesis:

D. C. Bertha Alicia León Chávez

Laboratorio de Investigaciones Químico-Clínicas (LIQC)
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)

Co-director:

Dr. Juan Antonio González Barrios
Laboratorio de Medicina Genómica
Hospital Regional 1° de Octubre ISSTE

Puebla, Pue. Septiembre, 2022

Agradecimientos al CONACYT (No. registro beca 734945)



VIEP-BUAP (# 100293600 NAT/2019)



ISSSTE (# E015-RPI-033.2015)



**BUAP****A QUIEN CORRESPONDA:**

Por este conducto la Comisión Revisora formada por el Dr. Eduardo Miguel Brambila Colombres, Dra. Lourdes Millán Pérez Peña, Dr. Gonzalo Flores Álvarez, Dr. Víctor Manuel Blanco Álvarez y el Dr. Rubén Antonio Vázquez Roque, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada **“Efecto de zinc, selenio y aprendizaje-memoria sobre la actividad enzimática, activación glial y neuroplasticidad inducida por un modelo de infarto cerebral severo”**, que presenta el alumno **M.C. Ana Karina Aguilar Peralta** para obtener el grado de Doctora en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los veintiséis días del mes de agosto del año dos mil veintidós.

ATENTAMENTE

Dr. Eduardo Miguel Brambila Colombres

Dra. Lourdes Millán Pérez Peña

Dr. Gonzalo Flores Álvarez

Dr. Víctor Manuel Blanco Álvarez















Dr. Rubén Antonio Vázquez Roque

Posgrado en Ciencias Químicas
FCQ - ICUAP

Edif. 105 I, Ciudad Universitaria,
Col. San Manuel, Puebla, Pue.
C.P. 72570
01 (222) 2 29-55-00 Ext. 7387

Research Article

Prophylactic Zinc Administration Combined with Swimming Exercise Prevents Cognitive-Emotional Disturbances and Tissue Injury following a Transient Hypoxic-Ischemic Insult in the Rat

Ana-Karina Aguilar-Peralta ¹, Alejandro Gonzalez-Vazquez ¹,
Constantino Tomas-Sanchez ¹, Victor-Manuel Blanco-Alvarez ²,
Daniel Martinez-Fong ^{3,4}, Juan-Antonio Gonzalez-Barrios ⁵,
Ilhuicamina Daniel Limon ¹, Lourdes Millán-Perez Peña ⁶, Gonzalo Flores ⁷,
Guadalupe Soto-Rodriguez ⁸, Eduardo Brambila ¹, Jorge Cebada ⁸,
Viridiana Vargas-Castro ¹ and Bertha Alicia Leon-Chavez ¹

¹Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita, Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, 72570 Puebla Pue, Mexico

²Facultad de Enfermería, Benemérita, Universidad Autónoma de Puebla, 27 Sur 1304, Col. Volcanes, 72410 Puebla Pue, Mexico

³Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apartado Postal 14-740, 07000 México D.F., Mexico

⁴Nanoparticle Therapy Institute, 404 Avenida Monte Blanco, Aguascalientes 20120, Mexico

⁵Laboratorio de Medicina Genómica, Hospital Regional 1° de Octubre, ISSSTE Avenida, Instituto Politécnico Nacional #1669, 07760 México D.F., Mexico

⁶Centro de Química, ICUAP, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, 72570 Puebla, Mexico

⁷Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, 72570 Puebla, Mexico

⁸Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 13 Sur 2702, Col. Volcanes, 72410 Puebla Pue, Mexico

Correspondence should be addressed to Bertha Alicia Leon-Chavez; alileonch@gmail.com

Received 29 July 2021; Revised 4 March 2022; Accepted 1 April 2022; Published 20 May 2022

Academic Editor: Muh-Shi Lin

Copyright © 2022 Ana-Karina Aguilar-Peralta et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Exercise performance and zinc administration individually yield a protective effect on various neurodegenerative models, including ischemic brain injury. Therefore, this work was aimed at evaluating the combined effect of subacute prophylactic zinc administration and swimming exercise in a transient cerebral ischemia model. The prophylactic zinc administration (2.5 mg/kg of body weight) was provided every 24 h for four days before a 30 min common carotid artery occlusion (CCAO), and 24 h after reperfusion, the rats were subjected to swimming exercise in the Morris Water Maze (MWM). Learning was evaluated daily for five days, and memory on day 12 postreperfusion; anxiety or depression-like behavior was measured by the elevated plus maze and the motor activity by open-field test. Nitrites, lipid peroxidation, and the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were assessed in the temporoparietal cortex and hippocampus. The three nitric oxide (NO) synthase isoforms, chemokines, and their receptor levels were measured by ELISA. Nissl staining evaluated hippocampus cytoarchitecture and Iba-1 immunohistochemistry activated the microglia. Swimming exercise alone could not prevent ischemic damage but, combined with prophylactic zinc administration, reversed the cognitive deficit, decreased NOS and chemokine levels, prevented tissue damage, and increased Iba-1 (+) cell number. These results suggest that the subacute prophylactic zinc administration combined with swimming exercise, but not the individual treatment, prevents the ischemic damage on day 12 postreperfusion in the transient ischemia model.

Contenido

Índice de imágenes.....	7
Índice de figuras.....	8
Índice de tablas.....	10
Lista de Abreviaturas.....	11
Resumen.....	17
1. Introducción.....	18
1.1 Enfermedad cerebrovascular.....	18
1.2 Cascada Isquémica.....	19
1.3 Estrés oxidativo.....	22
1.4 Defensa antioxidante.....	24
1.5 Proceso Inflamatorio.....	25
1.6 Microglía.....	27
1.7 Astrocitos.....	30
1.8 Muerte neuronal.....	33
1.9 Neuroplasticidad.....	34
1.10 Efecto benéfico del ejercicio.....	36
1.11 Neurogénesis.....	38
1.12 Precondicionamiento.....	40
1.13 Zinc.....	41
1.14 Selenio.....	45
1.15 Zinc y Selenio en la neuroplasticidad.....	52
2. Justificación.....	54
3. Hipótesis.....	55
4. Objetivo general.....	55
4.1 Objetivos específicos.....	55
5. Diagrama experimental.....	56
6. Metodología.....	57
7. Resultados.....	64
8. Discusión.....	102
9. Resumen.....	115

10.	Conclusión	117
11.	Perspectivas	118
12.	Apéndice	146
13.	Referencias.....	119

Índice de imágenes

Imagen 1 Generalidades de la Enfermedad Cerebrovascular (ECV).....	19
Imagen 2 Cascada Isquémica.....	22
Imagen 3 Estrés oxidativo/nitrosativo y actividad antioxidante.....	25
Imagen 4 Papel de la microglía y los astrocitos en la neuro regulación.....	32
Imagen 5 mecanismos involucrados en la plasticidad	36
Imagen 6 Mecanismos en los que se encuentra relacionado el zinc (Revisión bibliográfica)	44
Imagen 7 Metabolismo de Selenio.....	46
Imagen 8 Mecanismos en los que se encuentra relacionado Selenio (Revisión bibliográfica)	47
Imagen 9 Efecto de los tratamientos de zinc y selenio en la activación de la microglía en el hipocampo a los 12 d post reperfusión.....	83

Índice de figuras

Fig. 1 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio en un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en la actividad enzimática de CAT y SOD.....	65
Fig. 2 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio ante un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en los niveles de GSSG, GSH y el índice GSSG/GSH.....	67
Fig. 3 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio ante un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en la actividad enzimática de GPx en la corteza temporoparietal e hipocampo a las 24 h post reperfusión.....	70
Fig. 4 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre el aprendizaje en el LAM.....	71
Fig. 5 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre la memoria de largo plazo en el LAM.....	73
Fig. 6 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre la actividad enzimática de la SOD y Catalasa a los 12 días post reperfusión.....	75
Fig. 7 Tinción de Nissl en la corteza temporoparietal a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	77
Fig. 8 Tinción de Nissl en hipocampo a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	78
Fig. 9 La administración profiláctica de zinc o terapéutica de selenio incrementa la inmunorreactividad a GFAP en giro dentado a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	80
Fig. 10 La administración terapéutica de selenio causó un incremento en la inmunorreactividad para GFAP en el stratum lacunosum moleculare a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	81
Fig. 11 Los tratamientos de selenio y/o zinc promueven la inmunorreactividad a Iba-1 en el hipocampo a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	84
Fig. 12 Los tratamientos de selenio y/o zinc promueven la inmunorreactividad a Iba-1 en el hipocampo a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	85
Fig. 13 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas granulares del Giro dentado del hipocampo.....	87
Fig. 14 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo.....	88
Fig. 15 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo.....	89

Fig. 16 La administración de zinc incrementa las proyecciones distales de las neuronas granulares del giro dentado a los 12 días post reperfusión de la OACP.	92
Fig. 17 La administración de zinc y selenio no modifica la morfología de las neuronas piramidales de CA3 a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	93
Fig. 18 La administración de zinc y selenio no modifica la morfología de las neuronas piramidales de CA1 a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	94
Fig. 19 La administración combinada de zinc y selenio incrementa las dendritas excitatorias de las neuronas granulares del giro dentado a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	96
Fig. 20 La administración combinada de zinc y selenio disminuye el orden dendrítico de las neuronas piramidales de CA3 a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	99
Fig. 21 La administración profiláctica de zinc o terapéutica de selenio no modifica el orden dendrítico de las neuronas piramidales de CA1 a los 12 días post reperfusión de la OACP.....	100

Índice de tablas

Tabla 1 Selenoproteínas.....	47
Tabla 2 Estadística de las determinaciones en la Corteza temporoparietal.....	68
Tabla 3 Estadística de las determinaciones en el Hipocampo.....	69
Tabla 4 Análisis estadístico de los grupos C s/t y ApMem.	86
Tabla 5 Análisis estadístico de los grupos ApMem, C Zn, C Se e Isquemia.....	91
Tabla 6 Análisis estadístico de los grupos Isquemia, Isq + Se, Zn + Isq y Zn + Isq + Se.....	101

Lista de Abreviaturas

4-PSQ	7-cloro-4-fenilselenil quinolina
AA	Ácido Araquidónico
AC	Adenilato Ciclasa
AChE	Acetilcolinesterasa
AIF	Factor Inductor de Apoptosis
AKT	Proteína cinasa B
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AMPAR	Receptor Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
AMPC	Monofosfato de adenosina cíclico
ANP	Progenitores neurales amplificantes
Ap/Mem	Grupo Aprendizaje / Memoria
ApoER2	Apolipoproteína E receptora 2
ATP	Adenosín Trifosfato
A β	Proteína β -amiloide
BAX	Proteína X asociada a Bcl-2
BBB	Barrera Hematoencefálica
BDNF	Factor neurotrófico Derivado del Cerebro
C s/t	Grupo Control sin tratamiento
C Se	Grupo Control Selenio
C Zn	Grupo Control Zinc 96 horas
Ca ²⁺	Calcio
CaM	Calmodulina
CaMKK	Proteína cinasa 2 dependiente de calcio/calmodulina
CAT	Catalasa
CCL2	Quimiocina con motivo C-C ligando 2
CCL22	Quimiocina con motivo C-C ligando 22
CD16, 32, 86, 206	Cluster de diferenciación 16, 32, 86, 206
cGPx	Glutación peroxidasa citosólica

CNTF	Factor neurotrófico ciliar
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc 1
CT-1	Cardiotrofina-1
Cx	Conexinas
CX3CL1	Quimiocina con motivo C-X3-C ligando 1
CX3CR1	Receptor de la quimiocina CX3CL1
Cyt C	Citocromo C
DAB	3,3' diaminobenzidina
DAMPs	Patrones Moleculares Asociados Al Daño
DG	Giro dentado
DIO 1-3	Yodotironina desiodinasa 1-3
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTB	5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico)
dsDNA	DNA de doble cadena
E	Este
ECV	Enfermedad Cerebrovascular
eNOS	Sintasa del óxido nítrico endotelial
EPSP	Potenciales post sinápticos excitatorios
ERK	Cinasa regulada por señales extracelulares
FA	Fibrilación Auricular
FOXO	Factores de transcripción de la caja forkhead
FSC	Flujo Sanguíneo Cerebral
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GCLC	Glutamato cisteína ligasa
GFAP	Proteína acida glial fibrilar
Gln	Glutamina
Glu	Glutamato
GPR39	Receptor acoplado a proteínas G 39

GPx	Glutación Peroxidasa
<i>Gpx</i>	Gen de glutación peroxidasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
HAS	Hipertensión Arterial Sistémica
HIF-1/2	Factores Inducibles a Hipoxia 1/2
HNE	4-hidroxi-2-nonenal
HO	Radical hidroxilo
HO-1	Hemo oxigenasa 1
Iba-1	Molécula adaptadora de unión al calcio ionizado 1
IGF-1	Factor de Crecimiento semejante a Insulina de tipo 1
IL-1 β , -4, -6 -8, -10, -13	Interleucina--1 β , -4, -6 -8, -10, -13
iNOS	Sintasa del óxido nítrico inducible
IP3	Inositol-1,4,5-trisfosfato
IP3R	Receptor del Inositol-1,4,5-trisfosfato
IPSCs	Corrientes postsinápticas inhibitorias
Isq + Se	Grupo Isquemia más Selenio
Isq	Grupo con Isquemia
K ⁺	Potasio
KDM	Desmetilasas de lisina en histonas
KSPG+	Glía Positiva a Keratan sulfato
LA	Ácido Linoleico
LAM	Laberinto Acuático de Morris
LIF	Factor inhibidor de leucemia
LPO	Lipoperoxidación
LPS	Lipopolisacárido
LTP	Potenciación a largo plazo
MCH-II	Complejo principal de histocompatibilidad II

MDA	Malonildialdehído
MEK	MAP cinasa
mGluR	Receptor metabotrópico de Glutamato
mGluR2/3	Receptor metabotrópico de Glutamato de tipo 2/3
mGluR2/3/5	Receptor metabotrópico de Glutamato de tipo 2/3/5
MMPs	Metaloproteinasas de matriz
MOMP	Membrana mitocondrial externa
MT3	Metalotioneína 3
MTF-1	Factor de transcripción de respuesta a metales 1
N	Norte
Na ⁺	Sodio
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NADPHox	NADPH oxidasa
NCAM	Molécula de adhesión celular neural
NF-κB	Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B activadas
NGF	Factor de crecimiento nervioso
NK	Natural Killer
NMDA	N-metil-D-aspartato
NMDAR	Receptor N-metil-D-aspartato
NO	Óxido Nítrico
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NOS	Sintasa del óxido nítrico
NQO1	NADPH deshidrogenasa quinona 1
NSC	Células madre neurales
O	Oeste
O ₂	Oxígeno
O ₂ ⁻	Anión superóxido
OACP	Obliteración de la Arteria Carótida Primitiva

OB	Bulbo olfatorio
OMS/WHO	Organización Mundial de la Salud
ONOO ⁻	Anión Peroxinitrito
PAF	Factor activador de plaquetas
Panx1	Panexina1
PE	Fosfatidiletanolamina
PHD	Protil-hidroxilasas
PI3K	Fosfoinositol 3-cinasa
PKA	Proteína cinasa A
PLC	Fosfolipasa C
ppm	Partes por millón
PSAP	α -fenilselenil acetofenona
PSD-95	Proteína de densidad sináptica 95;
PST	Poli sialiltransferasa
PUFA	Ácidos Grasos Poliinsaturados
RAS	Proteína de señalización mitogénica
RIPC	Precondicionamiento isquémico remoto
RMS	Vía migratoria Rostral
RNA	Ácido Ribonucleico
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
s	Segundos
S	Sur
SBP	Proteínas de unión a selenio
Se	Selenio
SelP	Selenoproteína P
SEM	Error estándar de la media
SGZ	Zona subgranular
SLM	<i>stratum lacunosum moleculare</i>
SNC	Sistema Nervioso Central

<i>Sod</i>	Gen de superóxido dismutasa
SOD	Superóxido Dismutasa
SOD1	Superóxido dismutasa citosólica
SVZ	Zona subventricular
SZT	Estreptozotocina
T. A	Temperatura Ambiente
T2	3,3'-diiodotironina
T3	3,5,3'-triiodotironina
T4	3,5,3',5'-tetraiodotironina
TBI	Daño traumático cerebral
TGF- β	Factor de Crecimiento Transformante-beta
TNF- α	Factor de necrosis tumoral-alfa
TrkB	Receptor de tropomiosina relacionado a la cinasa B
Trx 1-3	Tiorredoxina reductasa 1-3
Trx	Tiorredoxina reductasa
tSOD	Superóxido dismutasa total
TSP1 / TSP2	Trombospondinas 1 / 2
VCCG	Canales de Calcio dependientes de Voltaje
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
Zip	Transportador de Zinc 1
Zn + Isq + Se	Grupo Zinc más Isquemia más Selenio
Zn + Isq	Grupo Zinc más Isquemia
Zn ²⁺	Zinc
ZnSO ₄	Sulfato de Zinc
ZnT1, 3	Transportador de Zinc 1, 3

Resumen

La Enfermedad Cerebrovascular (ECV) es una de las principales causas de muerte y discapacidad a nivel mundial, la obstrucción en el flujo sanguíneo hacia el tejido cerebral afecta diversas regiones como el hipocampo y la corteza, generando déficit cognitivo y motor en pacientes que sufren este tipo de patologías. En nuestro grupo de trabajo, la administración profiláctica subaguda de zinc ante un daño isquémico de 10 min previene el estrés nitrosativo, la muerte neuronal, incrementa la síntesis de factores de crecimiento e induce la proliferación celular y mantiene el aprendizaje y la memoria, mientras que la administración terapéutica de selenio incrementa la actividad antioxidante y regula la activación de los astrocitos. Sin embargo, se desconoce el efecto que se genera con la combinación de estas administraciones en conjunto con el estímulo del ejercicio de nado en un modelo de isquemia mayor. En este trabajo se evaluó el efecto de la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio ante el daño isquémico de 30 min en animales con ejercicio de nado en el Laberinto Acuático de Morris (LAM), sobre la actividad antioxidante, la citoarquitectura, la activación de los astrocitos y la microglía, así como la neuroplasticidad en el hipocampo a los 12 días post reperfusión. Los resultados muestran que la Obliteración de la arteria carótida primitiva (OACP) de 30 min, causa déficit cognitivo en la prueba de memoria, modifica la actividad de CAT, lo que nos sugiere la presencia de estrés oxidativo, además incrementa la muerte neuronal en el hipocampo. Los tratamientos individuales de zinc y selenio revierten los parámetros afectados por la isquemia, activan astrocitos y microglía, además inducen cambios morfológicos-estructurales en los diferentes tipos neuronales del hipocampo. Por último, el tratamiento combinado de zinc y selenio profiláctico-terapéutico previene el déficit cognitivo y el daño estructural induce la actividad antioxidante desde la etapa temprana, y modifica la arborización y el orden dendrítico neuronal ante el daño isquémico en animales con ejercicio. Con lo que podemos concluir que la administración combinada de zinc y selenio con ejercicio de nado muestra un mejor efecto al prevenir el daño causado por la OACP de 30 min con respecto a las administraciones individuales.

1. Introducción

1.1 Enfermedad cerebrovascular

El término enfermedad cerebrovascular (ECV) hace referencia a un desequilibrio entre el aporte y los requerimientos de oxígeno y otros sustratos, cualquier alteración, transitoria o permanente, de una o varias áreas del encéfalo como consecuencia de un trastorno en la circulación cerebral **(Muñoz-Collazos, 2001)**. La ECV es un problema de salud a nivel mundial, ocupando el segundo lugar en defunciones de acuerdo con estadísticas presentadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2018, se calcula que la ECV en conjunto con las enfermedades isquémicas del corazón causan 15.2 millones de defunciones al año **(WHO, 2018)**.

De acuerdo con lo reportado por el INEGI en el año 2016, se registraron 34,782 defunciones ocasionadas por la enfermedad cerebrovascular, representando la sexta causa de muerte en México, teniendo una mayor incidencia en adultos mayores a 60 años **(Salud, 2018)**. La ECV es una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial, se ha reportado que el 17% de los pacientes con isquemia cerebral presentan eventos cerebrovasculares recurrentes **(Arauz et al., 2018)**. El impacto económico que representa el cuidado de un paciente con ECV en México fue de aproximadamente 450 mil pesos en el año 2014 **(Ramírez-Alvarado G, 2016)**, esto sin contar los gastos extras asociados a la pérdida de la funcionalidad asociada a la ECV.

Los componentes predisponentes para sufrir ECV son diversos, en la población mexicana se han reportado 5 determinantes: hipertensión arterial sistémica (HAS), diabetes tipo 2, fibrilación auricular (FA), tabaquismo y dislipidemias, siendo a su vez un factor de riesgo para aterosclerosis **(Salud, 2018)**.

La ECV se clasifica en dos grupos: la de tipo isquémica con una prevalencia de ~87% y la hemorrágica con ~13% **(Institute, 2019)**. La ECV de tipo isquémica se desencadena por la oclusión de una arteria, interrumpiendo o reduciendo de forma

repentina el flujo sanguíneo, de acuerdo con el tiempo de oclusión será el grado de daño que ocasione el infarto cerebral (NINDS, 2019). La ECV de tipo hemorrágica, se desencadena por la ruptura de uno de los vasos sanguíneos que irrigan al cerebro (System, 2019), la sangre penetra en el tejido cerebral y causa daño, perturbando el suministro de sangre, el equilibrio químico y afectando la funcionalidad de las neuronas.

Enfermedad Cerebrovascular (ECV)

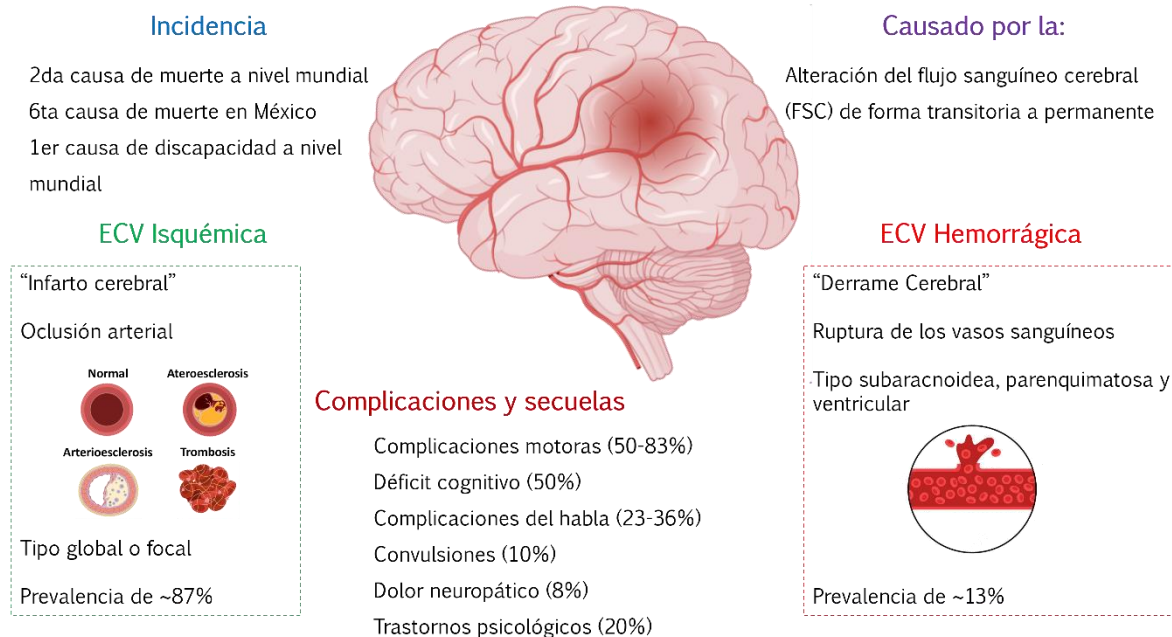


Imagen 1 Generalidades de la Enfermedad Cerebrovascular (ECV)

ECV: Enfermedad Cerebrovascular; FSC: Flujo Sanguíneo Cerebral.

1.2 Cascada Isquémica

La reducción del flujo sanguíneo cerebral (FSC) inicia la cascada isquémica; el déficit de oxígeno incrementa el metabolismo de la glucosa por la vía anaeróbica, promoviendo la acidosis metabólica (Gladden, 2004). La acidosis inhibe la fosforilación oxidativa (Hillered et al., 1985), contribuyendo a la depleción energética produciendo una disminución en los niveles de ATP (Adenosín Trifosfato) y fallo en la bomba ATPasa de Na^+/K^+ y de calcio, conduciendo a la desregulación de los

niveles de Na^+ y Ca^{2+} intracelulares en la neurona (Woodruff et al., 2011); la despolarización de las células afectadas, favorece la liberación de neurotransmisores excitadores como el glutamato (Chavez et al., 2009), que activa la apertura de canales de Na^+ del receptor AMPA (Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico) y Ca^{2+} del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) en la terminal postsináptica, así como de receptores metabotrópicos (diacilglicerol, inositol-trifosfato) que facilitan la liberación de calcio desde los depósitos intracelulares, incrementando la concentración de calcio libre intracelular (Camacho and Massieu, 2006), llegando a concentraciones tóxicas y produciendo edema celular o apoptosis.

Durante el proceso isquémico, la disrupción del FSC altera la homeostasis celular, induciendo muerte inmediata por necrosis en el núcleo de infarto, por la entrada masiva de calcio y agua al interior celular (Xing et al., 2012); mientras que la activación de mecanismos prolongados como la excitotoxicidad, incrementa el estrés oxidativo, modifica la liberación de glutamato (Chavez et al., 2009), el perfil de expresión de proteínas (proteasas, lipasas y nucleasas), la dinámica del citoesqueleto, propicia la neuroinflamación a través de la activación de los astrocitos y la microglía (Graeber and Streit, 2010), activando mecanismos de muerte celular por apoptosis; en conjunto estos mecanismos de daño celular afectan funciones cognitivas y motoras (Liu et al., 2017b, Umarova et al., 2019), así como la neuroplasticidad y neurogénesis (Farokhi-Sisakht et al., 2019).

En condiciones de hipoxia, hay un incremento en la actividad de los factores inducibles a hipoxia 1 (HIF-1) (Wang and Semenza, 1993b, a) y 2 (Blancher et al., 2000, Hehlhans et al., 2001), los cuales actúan como reguladores transcripcionales modificando la expresión y actividad de las desmetilasas de lisina en histonas de tipo prolil-hidroxilasas (PHD), alterando las marcas epigenéticas que regulan la compactación descompactación de la cromatina y la expresión de genes relacionados con la angiogénesis (VEGF) (Factor de crecimiento vascular endotelial) y la vasodilatación (iNOS) (Sintasa del óxido nítrico inducible) (Xia et al., 2009).

El incremento en la expresión de KDM3A (Desmetilasas de lisina en histonas), KDM4B, KDM4C y KDM6B, mejora la transcripción génica desmetilando los sitios H3K9 y H3K27 (marcas epigenéticas represivas). Además, induce la expresión de KDM2B y KDM5B, los cuales reprimen la transcripción a través de la desmetilación en los sitios H3K4me_{2,3} (marcas de activación) (Salminen et al., 2016). Además, la unión de la KDM3A a HIF-1 α induce cambios en la conformación de la cromatina en el locus SLC2A (GLUT3) bajo condiciones de hipoxia, esto sugiere que la KDM3A afecta la estructura de la cromatina para facilitar la transcripción en procesos hipóxicos (Mimura et al., 2012). El mecanismo por el cual el HIF-1a puede regular la expresión de KDM3A (JMJD1A) y KDM4B (JMJD2B) es al unirse en la región del promotor, específicamente en las regiones intrónicas de ambos genes (Beyer et al., 2008, Pollard et al., 2008).

Mientras que, en condiciones de hipoxia severa, las células que sobreexpresan KDM3A (JMJD1A) incrementan las marcas de trimetilación en la H3K9, contrario a lo que pasa con las células que sobreexpresan a la KDM4B (JMJD2B) (Beyer et al., 2008). La marca H3K27me₃, está altamente relacionada al silenciamiento transcripcional, en secuencias promotoras activadas y reprimidas por el proceso hipóxico. Mientras que la marca H3K4me₃, está implicada en la activación transcripcional (Johnson et al., 2008).

Otros reguladores clave del proceso hipóxico isquémico con los RNAs (Ácido Ribonucleico) no codificantes, de estos se destaca el papel crucial de los miRNAs (Dharap et al., 2009), estos se encuentran afectados a nivel central y periférico, como el miRNA-98, -126-3p y -126-5p disminuyendo la disrupción de la BBB (Barrera Hematoencefálica) (Bernstein et al., 2020, Pan et al., 2020), el miRNA-1224 modifica la activación de las células NK (Natural Killer) (Kong et al., 2020, Feng et al., 2021), mientras que los miRNA-26a y -27b inducen la angiogénesis (Liang et al., 2018, Du et al., 2019, Yuan et al., 2019), el miRNA-424-5p previene la muerte celular (Xiang et al., 2020, Cai et al., 2021), el miRNA-223 induce la activación de sistemas antioxidantes (Jiang et al., 2015) y la liberación de factores de crecimiento (Wang

et al., 2014, Zhou et al., 2021), los miRNA-195 y -4443 regulan la activación celular (Han et al., 2018, Li et al., 2020, Mao et al., 2020), por último el miRNA-124, se encuentra involucrado en la formación de la cicatriz glial (Li et al., 2021).

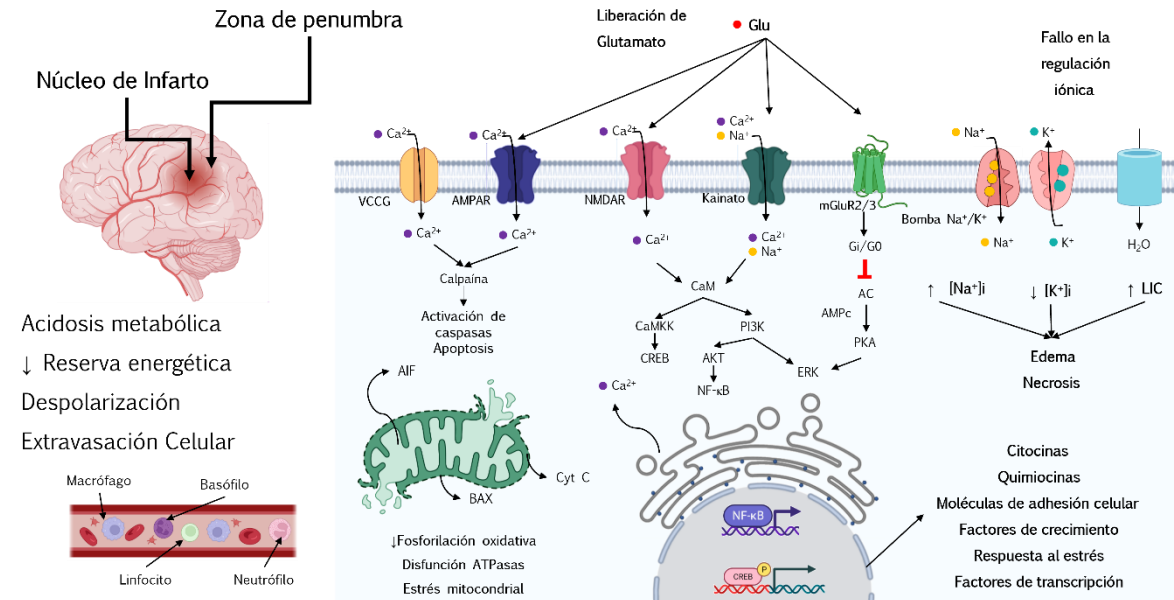


Imagen 2 Cascada Isquémica

Glu: Glutamato; Ca^{2+} : Calcio; Na^+ : Sodio; K^+ : Potasio; VCCG: Canales de Calcio dependientes de Voltaje; AMPAR: Receptor Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico; NMDAR: Receptor N-metil-D-aspartato; mGluR2/3: Receptor metabotrópico de Glutamato de tipo 2/3; AIF: Factor Inductor de Apoptosis; BAX: Proteína X asociada a Bcl-2; Cyt C: Citocromo C; CaM: Calmodulina; CaMKK: Proteína cinasa 2 dependiente de calcio/calmodulina; PI3K: Fosfoinositol 3-cinasa; AC: Adenilato Ciclasa; PKA: Proteína cinasa A; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; CREB: Proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc 1; AKT: Proteína cinasa B; ERK: Cinasa regulada por señales extracelulares; NF- κ B: Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B activadas.

1.3 Estrés oxidativo

El incremento del estrés oxidativo durante la fase post isquémica proviene de diversas fuentes, las no-enzimáticas para la formación de ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) que es a través de la hemoglobina y la mioglobina, las cuales pueden liberarse en el líquido extracelular después del trauma (Tejero et al., 2019). Sin embargo, la mayor producción de ROS proviene de la conversión enzimática de oxígeno molecular, al ser reducido a anión superóxido, el cual es altamente reactivo, difusible y de vida media muy corta, durante la cual puede reaccionar con los

lípidos de la membrana y causar lipoperoxidación (LPO) (Granger and Kvietys, 2015). La LPO oxida ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), ácidos grasos de cadena larga con más de un doble enlace, incluidos los ácidos: linoleico (LA), araquidónico (AA) y docosahexaenoico (Higdon et al., 2012), estos se descomponen en aldehídos de cadena corta, los cuales se clasifican principalmente en tres familias: 2-alquenes, 4-hidroxi-2-alquenes y cetoaldehídos. Los derivados de los 4-hidroxi-2-alquenal, son el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), es un aldehído importante que se produce durante la peroxidación de ω 6-PUFA, como LA y AA. Por último, el malondialdehído (MDA) es conocido como el aldehído específico de peroxidación de lípidos más abundante, que son muy reactivos interaccionando con las proteínas, el DNA (Ácido desoxirribonucleico) y los fosfolípidos, alterando las interacciones lípido-lípido, la permeabilidad de la membrana, los gradientes iónicos, la fluidez y permeabilidad de la membrana (Catala and Diaz, 2016).

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un agente oxidante, pero no esencialmente reactivo, debido a que es altamente lipofílico y difunde rápidamente a través de las membranas y de esta forma puede alcanzar componentes celulares distantes desde su sitio de síntesis, también puede reaccionar con el anión superóxido, para generar el radical hidroxilo (Sies, 2017, Tejero et al., 2019). El radical hidroxilo es considerado una de las especies oxidantes más dañinas por su alta reactividad, tiene un tiempo de vida media corta y suele generar su efecto dañino cerca del sitio de donde es generado, la formación del radical hidroxilo puede lograrse por la reacción de Fenton y Haber-Weiss, la cual consiste en la reacción entre el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno, en presencia de metales (Raedschelders et al., 2012, Tejero et al., 2019).

El óxido nítrico (NO) ejerce su efecto patológico al reaccionar con oxígeno, el anión superóxido o centros de metales de transición (Pacher et al., 2007). Estas reacciones desencadenan reacciones nitrosativas adicionales (reacción de NO^+) induciendo modificaciones postraduccionales de proteínas (Stamler et al., 1992), al reaccionar con los grupos tioles de las cisteínas (Nitrosilación) (Martinez-Ruiz et al., 2013). Por

otra parte, el NO al reaccionar con el anión superóxido forma anión peroxinitrito (ONOO^-), una molécula con alto potencial tóxico a altas concentraciones (**Calabrese et al., 2009**), mientras que, a bajas concentraciones, el ONOO^- actúa como una molécula de señalización, en las vías de ERK y factor nuclear kappa B ($\text{NF-}\kappa\text{B}$) (**Liaudet et al., 2009**).

En el núcleo, el estrés oxidativo induce daño al DNA, promoviendo la relajación de la cromatina y, por lo tanto, una reducción global de la heterocromatina en las neuronas (**Frost et al., 2014**). Además, de modificar la estructura de las histonas, las cuales son glutacioniladas, lo que afecta su plegamiento y estabilidad, así como su capacidad para ser modificadas postraduccionalmente, lo que repercute en la expresión génica, la estabilidad del genoma y la replicación (**Kreuz and Fischle, 2016**).

1.4 Defensa antioxidante

Para contrarrestar el daño ocasionado por el estrés oxidativo, se lleva a cabo la activación de los sistemas antioxidantes endógenos de tipo no-enzimático y enzimático; los cuales ayudan a la desintoxicación del microambiente celular, contrarrestando la reactividad de las principales ROS (**Ahmadinejad et al., 2017**). El sistema enzimático antioxidante está regulado por la acción de la catalasa (CAT), cataliza la conversión de H_2O_2 en agua y oxígeno (**Chelikani et al., 2004**), la superóxido dismutasa (SOD), cataliza la ruptura del anión superóxido en oxígeno y H_2O_2 (**Nordberg and Arner, 2001, Sies, 2017**) y el sistema glutatión; el cual está formado por tres enzimas, la glutatión reductasa, glutatión transferasa y glutatión peroxidasa; así como moléculas de glutatión oxidado (GSSG) y glutatión reducido (GSH), contribuyendo en la ruptura del H_2O_2 e hidropéroxidos (**Rodríguez-Rodríguez et al., 2014**). El sistema glutatión se encuentra menos activo en neuronas, mientras que en los astrocitos se encuentra altamente expresado y de esta forma puede proteger a la neurona del daño oxidativo (**Davis and Pennypacker, 2017**).

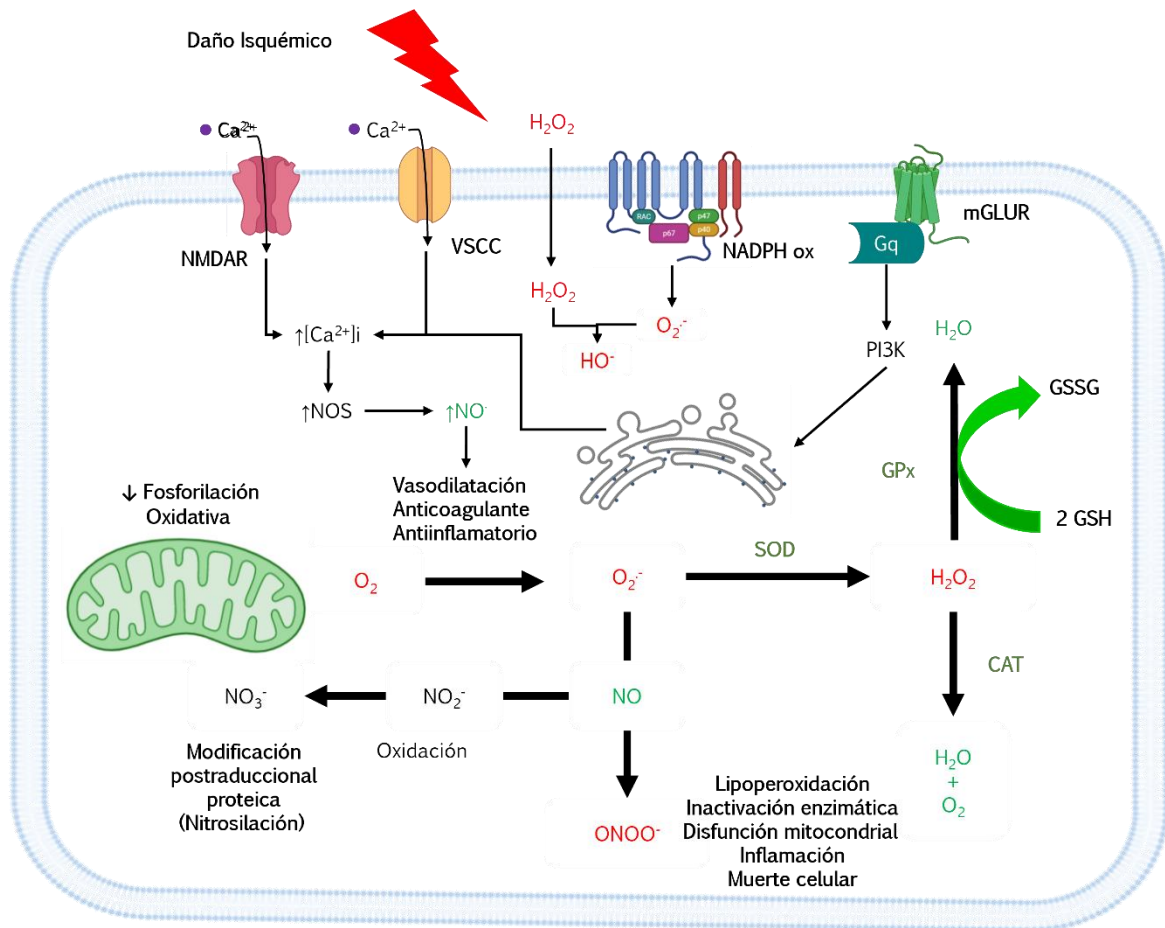


Imagen 3 Estrés oxidativo/nitrosativo y actividad antioxidante

Ca^{2+} : Calcio; Na^+ : Sodio; K^+ : Potasio; VCCG: Canales de Calcio dependientes de Voltaje; NMDAR: Receptor N-metil-D-aspartato; mGluR: Receptor metabotrópico de Glutamato; NADPHox: NADPH oxidasa; H_2O_2 : Peróxido de hidrogeno; HO^{\cdot} : Radical hidroxilo; $O_2^{\cdot-}$: Anión superóxido; NOS: Sintasa del óxido nítrico; NO: Óxido nítrico; O_2 : Oxígeno; NO_2^{\cdot} : Nitrito; NO_3^- : Nitrato; $ONOO^-$: Peroxinitrito; SOD: Superóxido Dismutasa; CAT: Catalasa; GPx: Glutatión Peroxidasa; GSH: Glutatión reducido; GSSG: Glutatión oxidado.

1.5 Proceso Inflamatorio

Ante el daño isquémico, la cascada inflamatoria inicia inmediatamente después de la oclusión de algún vaso sanguíneo (Iadecola and Anrather, 2011) y como resultado de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la presencia de células necróticas, las moléculas liberadas del contenido celular actúan como patrones moleculares asociados al daño (DAMPs) y factores proinflamatorios tempranos (Iadecola and Anrather, 2011).

De manera intravascular hay un incremento en la exposición de la selectina-P, la cual se encuentra en el endotelio y en las plaquetas, esta selectina-P actúa como una molécula “puente” favoreciendo la unión plaqueta-leucocito, incrementa la oclusión intravascular y contribuye al daño isquémico **(De Meyer et al., 2016)**.

La oclusión intravascular genera un incremento en las señales de inflamación, que inician con la trombina, la cual favorece la quimiotaxis de monocitos y neutrófilos, además de activar los componentes C3 y C5 del sistema del complemento (a activación de la respuesta humoral ante un daño isquémico, exacerba el daño causado en los pacientes **(Alawieh et al., 2015)** y la disrupción de la barrera endotelial **(Amara et al., 2008)**. La pérdida de la función endotelial en conjunto con la activación de la proteína C (inhibidor directo de múltiples factores de coagulación), el receptor de la proteína C y la proteína S (cofactor de la proteína C), forman un complejo anticoagulante y antiinflamatorio **(van der Meer et al., 2014)**, sin embargo, este efecto se ve superado al llevarse a cabo la activación del complemento (a través de la trombina) y los monocitos **(Anrather and Iadecola, 2016)**.

Las células inflamatorias (monocitos, leucocitos, neutrófilos, etc.) liberan diversos agentes citotóxicos como son metaloproteinasas de matriz (MMPs), óxido nítrico (NO) y ROS, conduciendo a la disrupción de la matriz extracelular y de la barrera hematoencefálica y exacerbando el daño a las células cerebrales **(Danton and Dietrich, 2003)**. La disrupción de la barrera hematoencefálica permite la entrada de sangre y otras sustancias séricas potencialmente neurotóxicas (prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas (PAF), citocinas y quimiocinas) **(Stanimirovic and Satoh, 2000)**, resultando en extravasación celular, edema intersticial y la transformación de un proceso isquémico a uno hemorrágico (transformación hemorrágica en el 8.5% de los pacientes) **(Lindley et al., 2004)** **(Kawabori and Yenari, 2015)**.

En el SNC (Sistema Nervioso Central), las neuronas, las células gliales (microglía y astrocitos) y los elementos vasculares, participan en el proceso de neuroinflamación,

a través de la liberación de sustancias proinflamatorias y antiinflamatorias como: citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión, que estimulan el remodelamiento neurovascular, la infiltración celular (Jin et al., 2010) e inducen neuro-regeneración en la fase tardía de la isquemia (An et al., 2014). Pese al daño que se puede generar por el proceso inflamatorio se ha demostrado que este es necesario ya que contribuye de manera positiva en la resolución del daño isquémico (Chamorro and Hallenbeck, 2006).

1.6 Microglía

Las células microgliales (macrófagos del cerebro) constituyen del 5-12% de las células del SNC (Lawson et al., 1990), durante el desarrollo hay una alta tasa de muerte celular por apoptosis en el SNC neonatal, esto favorece a la distribución diferencial de la microglía, incrementando el reclutamiento de monocitos, este proceso se mantiene hasta la etapa postnatal, sin embargo, se ha demostrado que este proceso es independiente de la muerte celular (Eyo et al., 2016); en el adulto la distribución de la microglía depende del micro ambiente celular.

En condiciones fisiológicas, la microglía está involucrada en el desarrollo, la homeostasis, el envejecimiento y el daño del SNC, tiene tres funciones esenciales: una función centinela, involucrada en la detección de cambios, una función de limpieza que promueve el bienestar neuronal y el funcionamiento normal, y una función de defensa necesaria para responder a tales cambios y proporcionar neuroprotección (Hickman et al., 2018).

Al mediar la defensa del SNC, la microglía se activa ante la presencia de patógenos infecciosos, proteínas dañinas como la β -amiloide ($A\beta$), agregados de α -sinucleína, huntingtina mutante, priones, SOD oxidada o mutada, mientras que a nivel nuclear Jmjd3 actúa como un regulador clave en la activación de la microglía (Penas and Navarro, 2018, Tao et al., 2019) a través de las vías de señalización de TrkA, Akt y CREB, disminuyendo la marca de metilación H3K27me3 (Alexaki et al., 2018).

Los marcadores inflamatorios tempranos (IL-1B, IL-6, IL-8 y TNF- α) (Morioka et al., 1993) dan paso a la respuesta celular inicial, la cual está mediada por la activación y el reclutamiento de la microglía, su transformación en células fagocíticas que liberan una variedad de sustancias citotóxicas y/o citoprotectoras (Khoshnam et al., 2017). Además, la programación de la microglía depende del estado metabólico/oxidativo de la célula, cuando incrementa el índice α -KG/succinato se activa el fenotipo M2, mientras que la disminución del índice induce el fenotipo proinflamatorio (M1) (Liu et al., 2017a), por lo que indirectamente, se puede sugerir que cualquier miembro de las KDMs de la Familia II (dependientes de α -KG) pueden regular el cambio de fenotipo de la microglía. Otro mecanismo es a través de la regulación transcripcional de Stat1 y Stat3 (Przanowski et al., 2014) o la sobreactivación de la vía de señalización Notch 1 paralelamente con NF- κ B (Na et al., 2017); en respuesta a estos estímulos se ha estudiado el papel de la microglía en diversas enfermedades neurodegenerativas, donde inicia la respuesta neuroinflamatoria, cuando esta respuesta se exagera induce neurotoxicidad, la cual conduce a la neurodegeneración (Hickman et al., 2018).

La quimiocina CX3CL1 se encuentra altamente relacionada con el proceso de activación y polarización de la microglía (Lauro et al., 2019, Mao et al., 2020, Guo et al., 2021), CX3CL1 en condiciones fisiológicas, al interactuar con su receptor CX3CR1 (Mao et al., 2020), promueve que la microglía se encuentre mediando la formación de las redes neurales (Bolos et al., 2018), la maduración de las conexiones sinápticas (Basilico et al., 2022) y la plasticidad neuronal (Sheridan et al., 2014). En condiciones de daño como la isquemia, la liberación de esta quimiocina ejerce un efecto protector (Cipriani et al., 2011), al disminuir la síntesis de factores proinflamatorios (Liu et al., 2019), induce la actividad antioxidante, previene la muerte neuronal (Noda et al., 2011) y el déficit neurológico; mientras que a nivel sistémico, regula la activación de las células inmunológicas y promueve la angiogénesis (Marchica et al., 2019, Liu et al., 2021). Sin embargo, existen evidencias de que el decremento en las concentraciones de CX3CR1, previene la

degeneración a nivel cortical y disminuye la neurotoxicidad (Tang et al., 2014), lo cual, resulta contradictorio ya que una disminución en los niveles del receptor alteraría el efecto benéfico reportado de esta quimiocina.

Así, el proceso inflamatorio puede estar regulado positiva o negativamente por la diferente polarización de la microglía; el efecto neuroprotector (M2) es ejercido por la generación de factores neurotróficos como IGF-1 (Factor de Crecimiento semejante a Insulina de tipo 1) y BDNF (Factor neurotrófico Derivado del Cerebro), este fenotipo expresa marcadores de superficie CD206 (Peng et al., 2017), IL-10 e Iba-1 (Liu et al., 2016); se ha demostrado que el fenotipo M2 tiene un efecto protector ante la degeneración, disminuyendo el proceso inflamatorio (Yu et al., 2019) incrementando la síntesis de CCL22 (recluta linfocitos T reguladores) (Hu et al., 2012), la muerte neuronal (Song et al., 2019), promueve la recuperación motora (Kobashi et al., 2020), este efecto benéfico puede ser llevado a cabo a través de un incremento en la fosforilación de Akt (Ser473) y GSK3 β (Ser9), la activación y acumulación nuclear de Nrf2 y la expresión de enzimas antioxidantes (HO-1 y NQO1) (Liao et al., 2020), y promover la supervivencia celular vía miR-124 exosomal y su blanco USP14 (Song et al., 2019).

La microglía citotóxica (M1) expresa marcadores como Iba-1, CD16 (Liu et al., 2016), MHC-II, CD86 y CD32 (Peng et al., 2017) puede liberar prostanoideos, ROS, NO principalmente por la isoforma inducible (iNOS), citocinas proinflamatorias como TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-4, que llevan a la inducción de moléculas de adhesión en el sistema vascular cerebral (Mrak and Griffin, 2005), se ha reportado que estos eventos ocurren dentro de las primeras 24 h del inicio del accidente cerebrovascular (Kawabori and Yenari, 2015). La sobreexpresión de quimiocinas como CCL2 conduce a la quimiotaxis de leucocitos (Emsley and Tyrrell, 2002) como: monocitos (Chen et al., 2003), linfocitos (Hurn et al., 2007) y macrófagos (Terao et al., 2009), exacerbando el daño neuronal e incrementando el reclutamiento de células inflamatorias (Chen et al., 2003), lo que a su vez aumenta la muerte neuronal (Fernandes et al., 2014).

1.7 Astrocitos

Los astrocitos comprenden aproximadamente la mitad del número total de células en el SNC completo; tradicionalmente el papel de los astrocitos era de soporte para las neuronas (Blanco-Suarez et al., 2017). Actualmente, se conoce que los astrocitos participan de forma activa en la homeostasis, defensa, nutrición, en el desarrollo y la plasticidad neuronal (Allen, 2014), siendo muy importantes en la sinapsis tripartita (Perea et al., 2009).

Los astrocitos se originan a partir del neuroepitelio durante el desarrollo embrionario del sistema nervioso mamífero, una vez que se ha llevado a cabo la mayor parte de la neurogénesis, las NSC que no proliferaron, empiezan a expresar marcadores de tipo glial (Sloan and Barres, 2014) para que dé inicio el proceso de gliogénesis, además, se requiere de la presencia de activadores como algunos miembros de la subfamilia IL-6, la cual incluye al factor neurotrófico ciliar (CNTF), factor inhibidor de leucemia (LIF) y cardiotrofina-1 (CT-1) (Rivera et al., 2008, Byun et al., 2020), los cuales favorecen la hetero-dimerización de los receptores LIFRB y gp130 (Barnabe-Heider et al., 2005), a través de la vía de señalización JAK/STAT (He et al., 2005), las moléculas de señalización BMP (Imura et al., 2008) y Notch (Piper et al., 2010).

En condiciones fisiológicas, los astrocitos se encuentran involucrados en la regulación de los incrementos de calcio en el espacio sináptico, la transmisión sináptica, mantiene la homeostasis del pH, la concentración iónica; además participa en la transmisión sináptica al liberar gliotransmisores (glutamato, ATP, adenosina, GABA (Ácido gamma-aminobutírico) y D-Serina), dicho proceso se lleva a cabo en respuesta a cambios en la actividad sináptica neuronal (Perea et al., 2009, Sofroniew and Vinters, 2010).

Los astrocitos regulan la formación y maduración de sinapsis excitatorias, a través de las trombospondinas 1 y 2 (TSP1 y TSP2) durante la sinaptogénesis y TSP4 en la etapa adulta, estas son proteínas de origen astrocítico, que se encuentran en la matriz extracelular y se encargan de promover la formación estructural de la sinapsis

(Christopherson et al., 2005), estas trombospondinas interactúan con neuroliginas, la subunidad $\alpha 2\delta$ -1 de los canales dependientes de voltaje y las integrinas para inducir el ensamble de las estructuras sinápticas, mientras que la síntesis de SPARCL1 favorece la formación de la sinapsis, SPARC tiene un efecto regulador sobre las sinapsis excitatorias (Kucukdereli et al., 2011). La formación de sinapsis inhibitorias se encuentra regulada por el incremento en el número de terminales presinápticas inhibitorias, la frecuencia de las corrientes postsinápticas inhibitorias (IPSCs) y la densidad sináptica del receptor GABA_A (Elmariah et al., 2005); así como el remodelamiento, causando la eliminación de aquellas sinapsis que no son necesarias dentro del circuito neural, el astrocito expresa una plétora de genes que se encuentran involucrados en la eliminación y fagocitosis de la sinapsis, principalmente se encuentran a CRKII y BAI1, estos se encargan de activar vías involucradas en el remodelamiento del citoesqueleto; a su vez MERTK interactúa con integrinas $\alpha\beta 5$ para regular a CRKII y por último RAC1, esta es una vía independiente que se encarga del reconocimiento y eliminación de restos celulares (Sokolowski et al., 2011, Clarke and Barres, 2013, Lagos-Cabre et al., 2017).

Posterior al daño isquémico, los astrocitos sufren numerosas alteraciones patológicas a lo largo del tiempo, incluido el edema y un incremento en la señalización de Ca²⁺. Los astrocitos también pueden volverse reactivos después de la isquemia, modificando su morfología y aumentando los niveles de expresión de GFAP (Proteína acida glial fibrilar). Los astrocitos reactivos eventualmente forman una cicatriz glial en la penumbra que delimita el núcleo isquémico (infarto) del tejido sano (Choudhury and Ding, 2016). Por mucho tiempo, se ha relacionado la astrogliosis reactiva con procesos dañinos, sin embargo, se sabe que, ante un daño isquémico, el astrocito capta glutamato, incrementa la producción de glutatión y con ello disminuye del estrés oxidativo, facilita la reparación de la BBB, reduce el edema vasogénico, restablece la homeostasis iónica y de fluidos (Sofroniew and Vinters, 2010).

Además, el astrocito secreta factores que ayudan a la neuro-restauración de la sinapsis después del daño. TSP-1 y TSP-2 se encuentran sobreexpresadas, en las neuronas del área peri-infarto (Li and Murphy, 2008), lo que conlleva a una recuperación gradual de las sinapsis perdidas, durante y después del proceso isquémico cerebral.

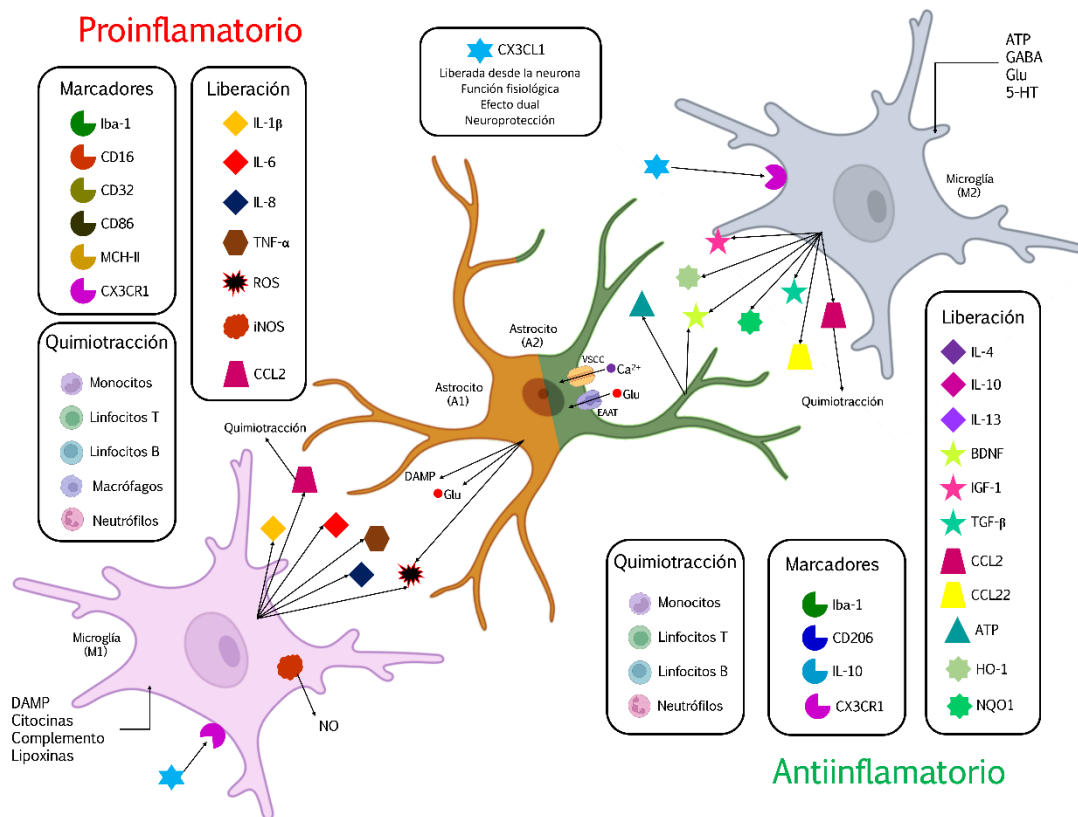


Imagen 4 Papel de la microglía y los astrocitos en la neuro regulación.

Iba-1: Molécula adaptadora de unión al calcio ionizado 1; CD16, 32, 86, 206: Cluster de diferenciación CD16, 32, 86, 206; MCH-II: Complejo principal de histocompatibilidad II; CX3CL1: Quimiocina con motivo C-X3-C ligando 1; CX3CR1: Receptor de la quimiocina CX3CL1; IL-1β, -4, -6 -8, -10, -13: Interleucina-1β, -4, -6 -8, -10, -13; TNF-α: Factor de necrosis tumoral-alfa; ROS: Especies Reactivas de Oxígeno; iNOS: Sintasa del óxido nítrico inducible; CCL2: Quimiocina con motivo C-C ligando 2; CCL22: Quimiocina con motivo C-C ligando 22; BDNF: Factor neurotrófico Derivado del Cerebro; IGF-1: Factor de Crecimiento semejante a Insulina de tipo 1; TGF-β: Factor de Crecimiento Transformante-beta; ATP: Adenosín Trifosfato; HO-1: Hemo oxigenasa 1 NQO1: NADPH deshidrogenasa quinona 1.

1.8 Muerte neuronal

La mitocondria juega un papel importante en la regulación de los mecanismos de muerte neuronal **(Kroemer and Reed, 2000)**. La apoptosis intrínseca se lleva a cabo en la mitocondria, esta se encuentra regulada en la membrana mitocondrial, en la cual se expresan diversas proteínas de la familia Bcl-2 **(Adams and Cory, 2007)** y es ejecutada por la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP) **(Kalkavan and Green, 2018)**. Algunas de estas proteínas tienen efecto anti-apoptótico (Bcl-2, Bcl-xl) y otras pro-apoptótico (Bax, Bad, Bid, Bcl-xs) **(Siddiqui et al., 2015)**.

Después del proceso isquémico cerebral, hay un incremento en la sobreexpresión de c-Jun que favorece la síntesis de proteínas que liberan Bad de sus secuestradores citoplásmicos y activan otras proteínas pro-apoptóticas como Bid **(Ning and Du, 2015)**. Esto permite su translocación a la mitocondria para aumentar su permeabilidad, de modo que el citocromo c (Cyt c) y Apaf-1 se liberan al citoplasma **(Wang, 2001)** se unen a la procaspasa 9, formando un complejo denominado apoptosoma **(Hill et al., 2004)** que permite la activación de caspasa 9 y la transformación de procaspasa 3 a caspasa 3 activa **(Rodriguez and Lazebnik, 1999)**. La caspasa 3 es la ejecutora de la apoptosis, corta a más de 1000 diferentes proteínas, induciendo su activación o degradación; esto afecta la remodelación de la cromatina, activación/inhibición de las vías de señalización, induce la deformación del citoesqueleto y la exposición de señales de fagocitosis **(Devreotes and Horwitz, 2015)**.

La disrupción del complejo II de la cadena transportadora de electrones y la producción de ROS, conduce a la activación de OMA1, la activación de esta proteasa puede iniciar la remodelación de las crestas mitocondriales e inducir la liberación de Cyt C por escisión y activación de OPA1 **(Jiang et al., 2014)**; este mecanismo se activa en condiciones de privación de oxígeno y glucosa, como la isquemia cerebral **(Baburamani et al., 2015)**.

Las proteínas BH3, son un grupo de proteínas pro-apoptóticas de la familia Bcl-2, los miembros de este grupo de proteínas son Bim, Bid y Puma **(Fricker et al., 2018)**,

los cuales se unen con una alta afinidad a las proteínas anti apoptóticas Bcl-2, desplazando a Bax, el cual se activa y se traslada hacia la mitocondria, favoreciendo la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (MOMP) y con ello la activación de la muerte celular **(Doerflinger et al., 2015, Dai and Lai, 2019)**.

Otro grupo de proteínas pro-apoptóticas liberadas son AIF, endonucleasa G y CAD, las cuales son liberadas en una etapa tardía que ocurre después de que la célula ha mandado la señal de muerte **(Nikoletopoulou et al., 2013)**, favoreciendo la degradación oligonucleosomal del DNA y a una mayor fragmentación de la cromatina. Este tipo de muerte neuronal ocurre principalmente en la zona de penumbra, y se prolonga hasta días después de ocurrido el proceso isquémico cerebral **(Wasser, 2013)**.

1.9 Neuroplasticidad

El proceso de neuroplasticidad se define como la reorganización de la estructura cerebral **(Allen, 2019)**, este se lleva a cabo por la capacidad de las células neurales de modificarse en respuesta a factores ambientales, experiencias, el envejecimiento y la neurodegeneración **(Shaffer, 2016)**. Estos cambios generan un efecto positivo o negativo en los circuitos neurales, modificando la longitud dendrítica, las proyecciones axonales y la sinapsis **(Mesulam, 2009)**, alterando los patrones de excitabilidad neural y la comunicación en el sistema nervioso; estas modificaciones generan un continuo remodelamiento a corto, mediano y largo plazo en cualquier etapa del desarrollo **(Duffau, 2016)**.

La neuroplasticidad puede generar cambios no perceptibles en el rendimiento conductual del individuo o favorecer cambios que sean demostrados solo bajo condiciones especiales y detectables, mediante pruebas de alto rendimiento, estos cambios son generados por la adquisición de sistemas funcionales complementarios **(Chanraud and Sullivan, 2014)**.

En términos generales, la neuroplasticidad se define como: “la capacidad del cerebro para cambiar”; Demarin en 2014 realiza una categorización al proceso de neuroplasticidad, dividiéndola en tipo estructural y funcional; la neuroplasticidad

estructural incluye procesos como plasticidad sináptica, sinaptogénesis, migración neuronal, neurogénesis y el desarrollo de las estructuras cerebrales; mientras que la neuroplasticidad de tipo funcional se encuentra relacionada con la comunicación neurona, dependiendo de dos procesos básicos, el aprendizaje y la memoria (**Demarin, 2014**); durante los cuales, se producen cambios permanentes en las relaciones sinápticas entre las neuronas debido a ajustes estructurales o procesos bioquímicos intracelulares (**Pascual-Leone et al., 2005**).

La neuroplasticidad se activa en respuesta a tratamientos farmacológicos (L-DOPA, fármacos antiepilépticos, antidepresivos, etc.), enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Huntington), epilepsia y accidentes cerebrovasculares **REF**.

En diferentes modelos de daño traumático cerebral se ha observado un daño axonal difuso, pérdida sináptica en CA1 con una significativa desafereenciación (interrupción de los impulsos aferentes) en la actividad eléctrica (**Gao et al., 2011**). En ratas jóvenes, se ha demostrado una disminución en la longitud y la ramificación dendrítica en CA1 en el hemisferio ipsilateral, cuando se compara con respecto al grupo control y al hemisferio contralateral (**Casella et al., 2014**). Semple en 2017, demostró que no hay cambios en el árbol dendrítico en las neuronas piramidales de la capa III en la región ipsilateral al daño. Sin embargo, hay una disminución de la estructura dendrítica en las neuronas del giro dentado del hipocampo en machos, mientras que en hembras no se encuentran cambios morfológicos en el grupo con TBI (Daño traumático cerebral), respecto al grupo control (**Semple et al., 2017**). Brown en 2008, reporta una disminución en la densidad de espinas dendríticas en las neuronas de la corteza motora en la etapa temprana (2 h) y en la fase aguda (24 h) posteriores al daño isquémico inducido por fototrombosis (**Brown et al., 2008**). En un modelo de obliteración bilateral de la arteria carótida común, se demostró que la irrupción del flujo sanguíneo no afecta la arborización dendrítica, el orden dendrítico y la densidad de espinas dendríticas en la región apical de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza, en la región ipsilateral al daño (**Papadopoulos et al., 2006**).

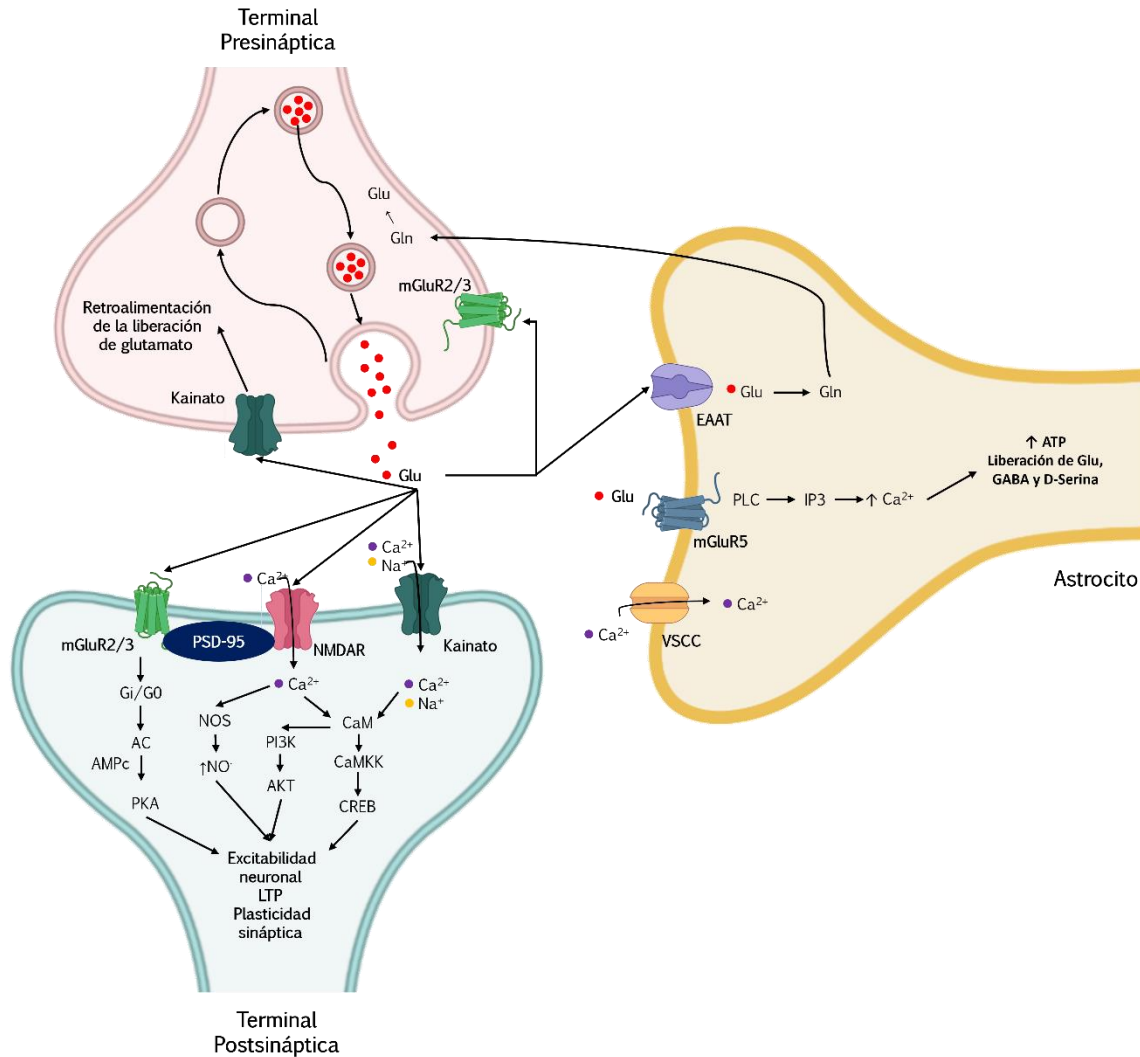


Imagen 5 mecanismos involucrados en la plasticidad

Glu: Glutamato; Ca^{2+} : Calcio; Na^{+} : Sodio; VSCC: Canales de Calcio dependientes de Voltaje; NMDAR: Receptor N-metil-D-aspartato; PSD-95: Proteína de densidad sináptica 95; mGluR2/3/5: Receptor metabotrópico de Glutamato de tipo 2/3/5; Calmodulina; CaMKK: Proteína cinasa 2 dependiente de calcio/calmodulina; PI3K: Fosfoinositol 3-cinasa; AC: Adenilato Ciclasa; PKA: Proteína cinasa A; AMPc: monofosfato de adenosina cíclico; CREB: Proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc 1; AKT: Proteína cinasa B; LTP: Potenciación a largo plazo; PLC: Fosfolipasa C; IP3: Inositol-1,4,5-trisfosfato; Gln: Glutamina; GABA: Ácido gamma-aminobutírico.

1.10 Efecto benéfico del ejercicio

Se ha demostrado que el ejercicio aeróbico tiene un efecto benéfico contra la neurodegeneración, mejorando la funcionalidad cerebral, incrementando la actividad cognitiva y motora (Pamplona-Santos et al., 2019). El efecto benéfico del ejercicio

se encuentra relacionado con la intensidad y la frecuencia con la que la actividad se lleva a cabo, de esto también depende los mecanismos de adaptación celular que se desencadenan, incrementar la respuesta antioxidante estimulada por la biogénesis mitocondrial (Camera et al., 2016, Kwon et al., 2020) ejerciendo un efecto preconditionante (Otsuka et al., 2021).

Este efecto protector se ha observado en diversos modelos de neurodegeneración como Alzheimer (Wu et al., 2018), atrofia muscular espinal (Chali et al., 2016), depresión (Marais et al., 2009), esclerosis lateral amiotrófica (Just-Borras et al., 2020) e isquemia (Austin et al., 2014). Los mecanismos por los cuales lleva a cabo este efecto protector en modelos de isquemia son diversos y se encuentran relacionados al área que se encuentra afectada (Mizutani et al., 2013, Zhang et al., 2019), si hay algún tratamiento conjunto con alguna otra molécula (Mao et al., 2017) o si el ejercicio se llevó a cabo antes (Vasconcelos et al., 2021) o después de la lesión (Yamaguchi et al., 2021).

El ejercicio principalmente induce la síntesis y liberación de factores de crecimiento (Just-Borras et al., 2020), como BDNF (Lee et al., 2020b), NGF (Factor de crecimiento nervioso) (Xing et al., 2019), y VEGF (Xie et al., 2019). Inhibe la muerte celular (Zhang et al., 2019), disminuye la liberación de marcadores proinflamatorios (Zhu et al., 2016, Liu et al., 2022), induce neurogénesis (Zhao et al., 2017, Cheng et al., 2020), angiogénesis (Tang et al., 2018), plasticidad sináptica (Xie et al., 2019, Yamaguchi et al., 2021), mejora las habilidades cognitivas-motoras (Stradecki-Cohan et al., 2017, Pan et al., 2021), previene la aparición de secuelas tardías como ansiedad (Zhang et al., 2017a, Fan et al., 2021) y depresión (Luo et al., 2019, Setiyowati et al., 2019).

Dentro de estos modelos de ejercicio, el nado es uno de los más utilizados en animales experimentales, mostrando incluso mejores efectos que el estímulo de correr (Totou et al., 2018). Se ha demostrado que someter a animales a un estímulo moderado (30 min de nado al día) genera un efecto benéfico, reduciendo la intensidad y frecuencia de ataques epilépticos (Aygün et al., 2019), el dolor causado

por el neuroma de Morton (**Sun et al., 2019**), incrementando el número de interneuronas positivas a calretinina (proteína de unión a Ca^{2+}) en ratas parkinsonianas (**Boraci et al., 2020**), e incluso se ha observado que el ejercicio de nado en hembras preñadas tiene efectos positivos en las crías, incrementando la biogénesis mitocondrial, la defensa antioxidante de tipo enzimática y no enzimática (**Marcelino et al., 2013, Sanches et al., 2021**). En machos adultos mejora la memoria de corto y largo plazo a través de cambios graduales, observándose el mejor desempeño a los 7 días después de que se finaliza el entrenamiento, sin observar cambios en tiempos posteriores (**Alomari et al., 2021**), disminuye el daño oxidativo, incrementa la defensa antioxidante (**Nonato et al., 2016**), la expresión de neurotrófinas (**Tian et al., 2018**), la densidad de sinaptofisina, el mGluR1, la expresión y síntesis de CREB, así como el patrón de metilación sobre la estructura de este gen (**Li et al., 2019**).

1.11 Neurogénesis

La neurogénesis en el adulto es un proceso que se lleva a cabo principalmente en la zona subgranular (SGZ) del hipocampo, este proceso está dado por la adición de nuevas neuronas funcionales a la estructura del giro dentado (**Toda and Gage, 2018**). Se ha demostrado, que la neurogénesis adulta, no solo se lleva a cabo en modelos animales, sino también en el humano; debido a que el hipocampo es una de las estructuras altamente relacionadas con el aprendizaje y la memoria, se ha sugerido que la neurogénesis juega un papel muy importante en la cognición (**Spalding et al., 2013**).

La neurogénesis es un mecanismo altamente regulado, por estímulos externos, como factores ambientales y biológicos (**Mirescu et al., 2004**). El número de nuevas neuronas en el hipocampo adulto es de aproximadamente 700 por día en el humano, esta proporción es menor al número de neuronas que componen el giro dentado, sin embargo, contribuyen de forma sustancial a la plasticidad funcional y estructural dentro del circuito tri-sináptico del hipocampo (**Spalding et al., 2013**).

La comunicación dentro del hipocampo se puede dividir en tres fases; en la primera la información surge en la corteza entorrinal y se traslada por la vía perforante, hacia las proyecciones de las células granulares del giro dentado (DG), las cuales proyectan sus axones hacia las neuronas piramidales de la región CA3. En la segunda, las neuronas piramidales de CA3 descargan la información a las neuronas piramidales de CA1 a través de la vía colateral de Schaffer. Por último, las neuronas piramidales de CA1 envían proyecciones hacia la corteza entorrinal, regresando la información hacia su lugar de origen **(Ribak and Shapiro, 2007, Druckmann et al., 2014, Olivares, 2015)**.

Además del hipocampo, se han identificado otras regiones cerebrales, en las cuales se lleva a cabo de forma natural el proceso de neurogénesis; la zona subventricular (SVZ), localizada en la pared lateral del cerebro, almacena a las células madre neurales (NSC), hasta que estas se convierten en neuroblastos (Tipo A) y migran hacia el bulbo olfatorio (OB), formando la vía migratoria rostral (RMS), aquí también se encuentran otro tipo de células, las cuales permanecen en el nicho neurogénico, células madre astrocíticas (Tipo B) y las células amplificadoras transitorias (Tipo C) **(Sanai et al., 2004, Bergmann et al., 2015)**. Los neuroblastos que migran hacia el bulbo olfatorio se diferencian a interneuronas e integran al circuito neuronal ya existente, estas nuevas neuronas están implicadas en la formación de la memoria olfatoria, discriminación de olores y la interacción social **(Ming and Song, 2011)**. La neurogénesis en el adulto, no solo se restringe a roedores, sino en diversas especies de mamíferos, incluyendo monos adultos **(Kornack and Rakic, 2001)**.

En un inicio la neurogénesis en el estriado se observaba en animales con daño isquémico, posteriormente se reportaron nuevas interneuronas CR+ en condiciones basales y de daño, estas nuevas neuronas se localizan en el área de asociación dorso-medial tipo caudado del cuerpo estriado **(Dayer et al., 2005)**. Debido a la localización adyacente de la SVZ con el estriado, se propone que las nuevas neuronas del estriado derivan de la SVZ, debido a la proximidad entre las regiones cerebrales. Otra posible explicación, es un cambio en la programación neurogénica

de los astrocitos adyacentes, al disminuir o inactivar la vía de señalización Notch1, dan origen a nuevas neuronas, esto ha sido observado en condiciones normales o ante un daño isquémico (**Magnusson et al., 2014**).

La neurogénesis comprende una serie de pasos para dar como resultado una neurona nueva, madura y funcional dentro del circuito neuronal. Todo inicia con la activación de las células madre neurales, la proliferación de los progenitores neurales amplificantes (ANP), la migración-diferenciación de los neuroblastos y la maduración de las nuevas neuronas (**Encinas and Sierra, 2012, Urban and Guillemot, 2014, Goncalves et al., 2016**). Cada una de estas etapas se encuentra regulada a diferentes niveles dentro de la célula: membranal (GluR, GABAR, Neurotrófinas y factores tróficos), citosólico (Notch, Wnt, Cdk5, BMP, DISC1 y Shh) y nuclear (CREB, factores de transcripción y cambios epigenéticos).

1.12 Precondicionamiento

El preconditionamiento isquémico remoto (RIPC), es un mecanismo neuroprotector intrínseco (**Stowe et al., 2011**), este se lleva a cabo por un breve episodio transitorio de isquemia/reperfusión, se activan diversos mecanismos celulares que lo vuelven resistente a un daño isquémico prolongado posterior (**Nyquist and Georgakis, 2019**).

Se han desarrollado diversos modelos de RIPC, el estímulo inicia por la oclusión de vasos sanguíneos, la deprivación de oxígeno minutos antes de la isquemia o la oclusión de arterias en piernas y brazos, mediante el uso de torniquetes (**Nyquist and Georgakis, 2019, Sprick et al., 2019**), anestésicos, hipertermia, depresión cortical extendida, toxinas mitocondriales o agentes proinflamatorios, como el lipopolisacárido (LPS) (**Gidday, 2006**).

El preconditionamiento activa mecanismos que se encuentran implicados en la neuroprotección, en la fase temprana, hay un incremento moderado en la producción de NO (**Orio et al., 2007**), Bcl-2 previene la acumulación de Bax y disminuye la muerte celular por apoptosis (**Wu et al., 2015**). El preconditionamiento hipóxico induce la expresión de HIF-1 que a su vez favorece la expresión del transportador de glucosa GLUT1, de VEGF y EPO (**Zhu et al., 2014, Lim et al., 2016**);

y Nrf-2 que, al translocarse al núcleo, induce la expresión de enzimas antioxidantes (tioredoxinas, GSH y NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato)), IL-10 (Piantadosi et al., 2011) y BDNF (Sakata et al., 2012).

Los suplementos de zinc en modelos sanos han demostrado un efecto de preconditionante (Kansal et al., 2015, Rao et al., 2017, O'Kane et al., 2018), observando un incremento en los niveles de lipoperoxidación con la sola administración de zinc, así como un incremento en el número de células picnóticas en las regiones CA1 y CA3 del hipocampo (Blanco-Alvarez et al., 2013).

1.13 Zinc

Uno de los bioelementos más importantes para el desarrollo de organismos unicelulares y pluricelulares, es el zinc (Zn^{2+}). A diferencia de otros iones metálicos, el zinc es esencial durante el desarrollo, favoreciendo la diferenciación, la homeostasis, mantiene la estructura y el crecimiento tisular, participa en la síntesis de DNA, transcripción de RNA, división y activación celular (Chasapis et al., 2012). Además, el zinc es necesario en el correcto funcionamiento del sistema inmune, la cicatrización, el metabolismo de carbohidratos, la acción de la insulina, y la sensación en el gusto y el olfato (Rabinovich and Smadi, 2020).

La importancia del zinc radica en las interacciones que forma con proteínas y ácidos nucleicos; formando parte estructural de las proteínas, en la actividad enzimática, tiene un papel catalítico, como coactivador y, actualmente se conoce que, de los 6 grupos de enzimas (oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas) todas requieren zinc (King, 2011).

El cuerpo humano contiene de 2-3 g de zinc, se encuentra principalmente en músculo y hueso (90%), el resto se encuentra distribuido en próstata, hígado, tracto gastrointestinal, riñón, piel, pulmón, cerebro, corazón y páncreas (Plum et al., 2010). En el SNC, la distribución de zinc es región dependiente, siendo más abundante en: hipocampo, (Pochwat et al., 2015), participa en la neurotransmisión, se encuentra almacenado y es liberado desde las vesículas presinápticas de las neuronas glutamatérgicas (Oteiza, 2012), como lo son las neuronas granulares del DG, las

neuronas piramidales de CA3 y las neuronas piramidales de CA1 (**Frederickson et al., 2000**). En otras regiones como la amígdala, la corteza y los bulbos olfatorios, el zinc se encuentra almacenado en las neuronas de la corteza perirrinal se proyectan ampliamente a través de la neocorteza y la alo corteza (**Martel et al., 2011**); en la amígdala el sistema amigdalofugal que contienen zinc se proyectan ampliamente al núcleo del lecho de la estría terminal, la corteza piriforme, el cuerpo estriado y las cortezas periamígdalas (**Christensen and Frederickson, 1998**); mientras que en el cuerpo estriado las fibras corticoestriatales que surgen de las neuronas piramidales pequeñas de las capas II-IV y la capa profunda VI contienen zinc (**Frederickson et al., 2000**).

El zinc se encuentra en tres principales formas dentro del organismo, libre, unido a proteínas o almacenado en vesículas (**Frederickson et al., 2000, Szewczyk, 2013**), para mantener el balance entre el zinc libre y el compartimentalizado, se necesitan transportadores de zinc específicos y no específicos, así como también por proteínas de unión a zinc (**Pochwat et al., 2015**). Los reguladores de zinc son los intercambiadores ZnT, los cuales disminuyen las concentraciones de zinc en el citosol y regulan el almacenamiento de zinc hacia compartimientos celulares, organelos y el espacio extracelular; los importadores ZIP, incrementan las concentraciones de zinc en el citosol, permitiendo el transporte de zinc desde el espacio extracelular o desde vesículas intracelulares (**Kambe et al., 2015, Baltaci and Yuce, 2018**).

Ante el proceso isquémico, la administración de zinc tiene un efecto dual, ya que puede disminuir o exacerbar el daño dependiendo de la concentración, el momento de la lesión y el tiempo de oclusión, por tal motivo se ha estudiado su participación en el proceso hipóxico-isquémico. Dentro de las primeras evidencias del zinc como un biometal altamente relacionado el daño isquémico, se reportó que hay una alteración en los niveles de este y otros metales a nivel sistémico y en el tejido afectado (**Boscolo and Carmignani, 1986, Oster et al., 1989**), regula la actividad

neuronal (Koh et al., 1996, Jalali-Yazdi et al., 2018) y previene la muerte celular (Matsushita et al., 1996, Ye et al., 2014).

Actualmente se ha demostrado que el principal efecto de zinc es como antioxidante y antiinflamatorio ante el daño isquémico, modulando la formación de ROS al inhibir al NMDAR mediante su unión a la subunidad GluN-2A (Anderson et al., 2015, Jalali-Yazdi et al., 2018), disminuye la reactividad del anión superóxido ya que forma parte estructural de la superóxido dismutasa citosólica (SOD1) (Jarosz et al., 2017), el zinc tiene un efecto regulador sobre Nrf2, el cual regula la transcripción de GSH, SOD, GST y HO-1 (Zhao et al., 2011, Ge et al., 2021), induce la expresión de BDNF (Travaglia and La Mendola, 2017), además de potenciar la vía de señalización BDNF-TrkB por activación de MMPs dependientes de zinc, que convierten el pro-BDNF a BDNF maduro (Huang et al., 2008), inhibe la vía de señalización NF- κ B a través de IKK β (von Bulow et al., 2007), la proteína A20 impide la activación de IKK β (Zhan et al., 2016) y Zip8 impide la formación del complejo IKK (Galvez-Peralta et al., 2014), además, incrementa la densidad de células proliferantes (Gower-Winter et al., 2013, Cope et al., 2016).

Al evaluar el efecto de zinc sobre la conducta o las habilidades motoras, se ha demostrado que previene la pérdida de memoria (Ueba et al., 2018), la aparición de conductas de tipo ansiedad y depresión (Carter et al., 2011, Cope et al., 2011, Cope et al., 2012) en modelos animales, mejora la marcha, disminuye el dolor e incrementa la actividad motriz (Cole et al., 2001, Cope et al., 2012, Li et al., 2017).

En el modelo de OACP de 10 min, la administración profiláctica subaguda de zinc mostró un efecto neuroprotector, disminuyendo el estrés nitrosativo y la muerte celular (Blanco-Alvarez et al., 2013), incrementa los niveles de quimiocinas y factores de crecimiento y favorece el aprendizaje y memoria en el laberinto acuático de Morris (Blanco-Alvarez et al., 2015), mientras que la administración crónica de zinc induce neuroinflamación (Tomas-Sanchez et al., 2016), cuando se realiza una administración combinada de zinc profiláctico y selenio terapéutico se ejerce un

efecto neuroprotector y antioxidante ante el daño hipóxico isquémico cerebral (Tomas-Sanchez et al., 2018).

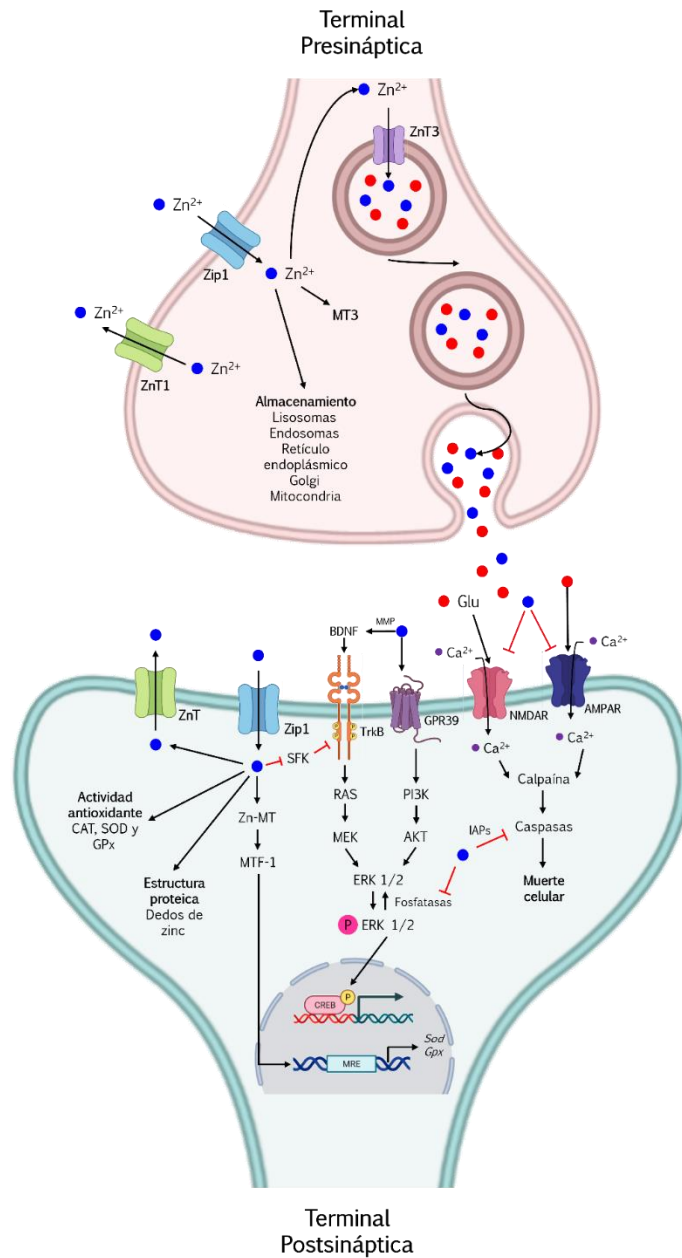


Imagen 6 Mecanismos en los que se encuentra relacionado el zinc (Revisión bibliográfica)

Zn²⁺: Zinc; Zip: Transportador de Zinc 1; ZnT1, 3: Transportador de Zinc 1, 3; MT3: Metalotioneína 3; Glu: Glutamato; Ca²⁺: Calcio; BDNF: Factor Neurotrófico derivado del cerebro; MMP: Metaloproteína de matriz; NMDAR: Receptor N-metil-D-aspartato; GPR39: Receptor acoplado a proteínas G 39; TrkB: Receptor de tropomiosina relacionado a la cinasa B; RAS: Proteína de señalización mitogénica; MEK: MAP cinasa; ERK: Cinasa regulada por señales extracelulares; PI3K: Fosfoinositol 3-cinasa; CREB: Proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc 1; AKT: Proteína cinasa B; MTF-1: Factor de

transcripción de respuesta a metales 1; *Sod*: Gen de superóxido dismutasa; *Gpx*: Gen de glutatión peroxidasa.

1.14 Selenio

El selenio es un elemento traza esencial, importante en múltiples funciones biológicas incluyendo el metabolismo de hormonas tiroideas (Schomburg and Kohrle, 2008), el sistema de defensa antioxidante (Brigelius-Flohe and Maiorino, 2013), el sistema inmunológico adaptativo, así como en la prevención de ciertos tipos de cáncer (Roman et al., 2014), la reproducción masculina, la función muscular, el sistema cardiovascular y el sistema nervioso central (Rayman, 2012, Avery and Hoffmann, 2018). En condiciones fisiológicas, el selenio se almacena principalmente en riñón, hígado, bazo, páncreas, corazón, cerebro, pulmón, hueso y músculo esquelético (Carlo, 2016).

El efecto de selenio se lleva a cabo a través de diferentes selenoproteínas (Benstoem et al., 2015), incorporado en un análogo de la cisteína (Imagen 7), la selenocisteína estructuralmente se forma por la sustitución del átomo de azufre por uno de selenio y funcionalmente confiere el incremento de la actividad enzimática antioxidante (Labunskyy et al., 2014); hasta el momento se conoce por completo la función de 25 selenoproteínas en el humano (Tabla 1), mientras que en los roedores se han identificado 24 (Guillin et al., 2019). Las enzimas dependientes del selenio participan en una amplia gama de funciones biológicas, como: respuesta antioxidante, regulación de la respuesta inflamatoria, proliferación y diferenciación de varias células inmunitarias (Khosro et al., 2015).

A pesar de ser un elemento esencial, no fue hasta 1957, que se determinó la importancia de la suplementación de selenio, la cual en bajas dosis previene la muerte celular por apoptosis de los hepatocitos de rata (Schwarz et al., 1959, Wrobel et al., 2016). Además, la suplementación de selenio incrementa la actividad y sobreexpresión de las selenoproteínas, pero no todas las selenoproteínas se ven afectadas de la misma forma (Davis et al., 2012), los niveles de mRNA de diversas

selenoproteínas como DIO1 y SelP se mantienen constantes ante situaciones deficientes de selenio, sin embargo, los niveles de expresión de Gpx1 disminuyen (Schomburg and Schweizer, 2009), la deficiencia de selenio incrementaría el daño causado por el estrés endógeno o exógeno y retrasar la recuperación funcional posterior a un daño isquémico cerebral **REF.**

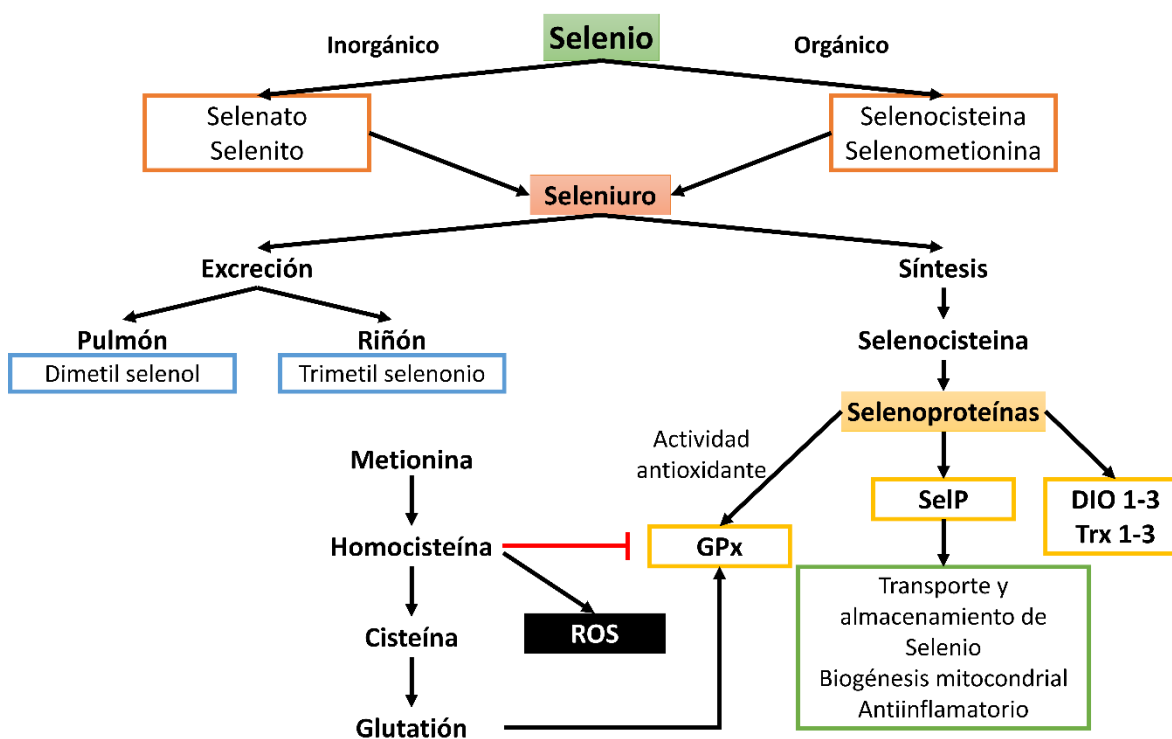


Imagen 7 Metabolismo de Selenio

SelP: Selenoproteína P; ROS; Especies reactivas de oxígeno; GPx: Glutatión peroxidasa; DIO 1-3: Yodotironina desiodinasa 1-3; Trx 1-3: Tiorredoxina reductasa 1-3.

Diversos estudios han demostrado el efecto protector de selenio, la adición de selenito de sodio de manera *in vitro* incrementa la tasa de viabilidad celular (Uguz et al., 2009), disminuye la producción de ROS (Zhou et al., 2009), la expresión de las Caspasas 3 y 9, lo cual estaría relacionado con la disminución de la muerte celular (Rusetskaya et al., 2019). La coadministración de eritropoyetina y selenito de sodio disminuye la lipoperoxidación a nivel sérico y tisular, además incrementa la actividad de SOD y GPx (Ardalan et al., 2013, Liu et al., 2015a), esto es indicativo

del efecto protector de selenio combinado con otros agentes protectores. El pretratamiento con selenito de sodio disminuye la lipoperoxidación y el número de células (+) a TUNEL, mientras que el post tratamiento induce la actividad antioxidante total de la SOD y de GSH (Yazici et al., 2015). El selenio también se encuentra involucrado en la modulación de diversas vías de señalización MAPK, TLR2, PI3K y NF-κB (Wang et al., 2018, Rusetskaya et al., 2019).

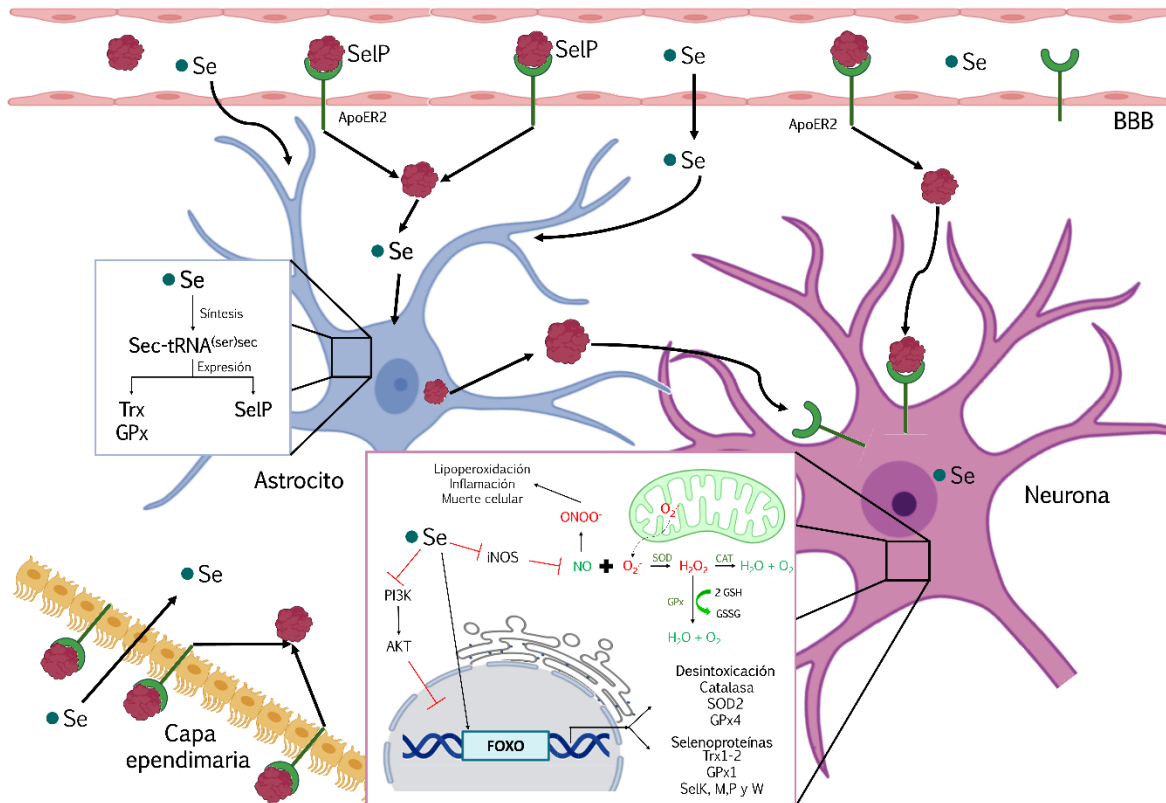


Imagen 8 Mecanismos en los que se encuentra relacionado Selenio (Revisión bibliográfica)

Se: Selenio; ApoER2: Apolipoproteína E receptora 2; GPx: Glutación peroxidasa; Trx: Tiorredoxina reductasa; SelP: Selenoproteína P; H₂O₂: Peróxido de hidrogeno; O₂⁻: Anión superóxido; iNOS: Sintasa del óxido nítrico inducible; NO: Óxido nítrico; O₂: Oxígeno; ONOO⁻: Peroxinitrito; SOD: Superóxido Dismutasa; CAT: Catalasa; GPx: Glutación Peroxidasa; GSH: Glutación reducido; GSSG: Glutación oxidado; PI3K: Fosfoinositol 3-cinasa; AKT: Proteína cinasa B; FOXO: Factores de transcripción de la caja forkhead.

Tabla 1 Selenoproteínas

Selena proteína	Nombre	Función	Referencias
DIO1	Yodotironina desyodasa 1	Lleva a cabo la desiodinación de T4 (3,5,3',5'-tetraiodotironina) a T3 (3,5,3'-triiodotironina) y convierte T3 a T2 (3,3'-diiodotironina). Incrementa los niveles de T3 en plasma a partir de T4 obtenida de hígado y riñón.	
DIO2	Yodotironina desyodasa 2	Lleva a cabo la desiodinación de T4 a T3. Incrementa los niveles de T3 en el cerebro en desarrollo.	
DIO3	Yodotironina desyodasa 3	Lleva a cabo la desiodinación de T4 a RT3 (3,3',5'-triiodotironina) y de T3 a T2. Regula y previene la exposición temprana del feto a las hormonas tiroideas maternas durante la gestación.	
GPx1	Glutación peroxidasa celular	Biomarcador diagnóstico y de pronóstico de diversos tipos de cáncer (mama, renal y leucemia) Participa en la defensa antioxidante de eritrocitos (oxidación de la Hgb) y plaquetas (metabolismo del ácido araquidónico).	(Sutherland et al., 2001, Cheng et al., 2019, Wei et al., 2020)
GPx2	Glutación peroxidasa gastrointestinal	Previene procesos inflamatorios intestinales como ileocolitis. Relacionada con el desarrollo de cáncer esofágico y cervical. Ejerce un efecto protector ante la ingesta de hidroperóxidos orgánicos (Perez et al., 2017).	(Esworthy et al., 2005, Lei et al., 2016, Wang et al., 2019)
GPx4	Glutación peroxidasa mitocondrial	Enzima antioxidante esencial que reduce el H ₂ O ₂ y los hidroperóxidos de fosfolípidos de las membranas y las lipoproteínas. Previene la ferroptosis. Participa en el metabolismo del ácido araquidónico en las plaquetas.	(Sutherland et al., 2001, Yang et al., 2014)

GPx3	Glutación peroxidasa plasmática (extracelular)	Cataliza la reducción de H ₂ O ₂ , peróxidos lipídicos e hidroperóxidos orgánicos.	(Nirgude and Choudhary, 2021)
GPx5	Glutación peroxidasa epidídimal secretoria	Protege la membrana espermática y el DNA del daño oxidativo y promueve la supervivencia.	(Chabory et al., 2009, Barranco et al., 2016, Vilagran et al., 2016)
GPx6	Glutación peroxidasa 6		
GPx7	Glutación peroxidasa 7	Actividad antioxidante contra las ROS y citocinas producidas a partir de la liberación de ácidos biliares, además de prevenir la ruptura de la dsDNA (DNA de doble cadena) en las células esofágicas.	(Peng et al., 2012, Peng et al., 2014)
GPx8	Glutación peroxidasa 8 (Putativa)	Promueve la migración y la invasión mediante la regulación de las características epiteliales en el cáncer de pulmón de células no pequeñas. Regula la muerte celular por apoptosis y la autofagia a través de las vías IRE1/JNK.	(Zhang et al., 2020, Yin et al., 2022)
MSRB	Metionin-R-sulfóxido reductasa B	Promueve la proliferación e invasión de células tumorales. Relacionada con la activación de células inmunes. Su deficiencia está asociada con déficit cognitivo.	(Lee et al., 2017, Shi et al., 2019, Lee et al., 2020a, Chen et al., 2021)
PRDX5	Peroxirredoxina 5	Ejerce un efecto antioxidante y antitumoral. Relacionado con la activación de Nrf2 y STAT3.	(Ismail et al., 2019, Ji et al., 2019, Bai et al., 2020, Chen et al., 2020, Kim et al., 2020, Cao et al., 2021)
SelH	Selenoproteína H (nuclear)	Regula el balance redox con acción de tipo tioredoxina. Se encuentra relacionada con supresión de la senescencia celular.	(Novoselov et al., 2007, Mendelev et al., 2009, Mendelev et al., 2011, Wu et al., 2014)

		Previene la muerte celular y favorece la biogénesis mitocondrial.	
SelI	Selenoproteína I	Se localiza en el núcleo, citoplasma y en el retículo endoplásmico. Participa en la síntesis de fosfatidiletanolamina (PE) y algunos otros derivados como plasmanil- y plasmenil-PE, por lo que se encuentra asociada a procesos de mielinización.	(Varlamova et al., 2017, Horibata et al., 2018)
SelK	Selenoproteína K	Regula el estrés oxidativo a nivel del retículo endoplásmico y regula los niveles de Ca^{2+} a través de la palmitoilación de los IP3R (Receptor del Inositol-1,4,5-trisfosfato). Inhibe la adhesión y migración celular.	(Du et al., 2010, Ben et al., 2015, Fredericks and Hoffmann, 2015)
SelM	Selenoproteína M	Se encuentra relacionada con la disminución en la agregación de la proteína amiloide- β . Promueve la proliferación de células de carcinoma a través de las vías de señalización PI3K/AKT/mTOR. Mantenimiento del sistema antioxidante (degradación de H_2O_2) e inmunológico (neutrófilos y linfocitos).	(Hwang et al., 2008, Chen et al., 2013, Du et al., 2013, Garcia-Triana et al., 2016, Jiang et al., 2019)
SelN	Selenoproteína N	Se encuentra en la membrana del retículo endoplásmico y participa en la homeostasis de Ca^{2+} , la regulación de los receptores de rianodina y el desarrollo del musculo esquelético. Altamente expresado en el periodo embrionario (Castets et al., 2012) .	(Jurynech et al., 2008, Arbogast et al., 2009, Castets et al., 2012)
SelO	Selenoproteína O	Cataliza la AMPilación de los residuos de Ser, Thr y Tyr de las proteínas. Relacionada con el equilibrio redox a nivel mitocondrial.	(Han et al., 2014a, Fichman et al., 2018, Sreelatha et al., 2018)

		Involucrada en el sistema de desintoxicación de ROS en los cloroplastos.	
SelP	Selenoproteína P	Participa en el transporte de selenio, hacia el plasma y el SNC. Asociada con diversas patologías como Alzheimer, hepatocarcinoma, hígado graso no alcohólico, infarto al miocardio, entre otras. Recientemente asociada con COVID-19 como un posible biomarcador.	(Burk and Hill, 2015, Solovyev et al., 2018, Schomburg et al., 2019, Buttner et al., 2020, Polyzos et al., 2020, Solovyev, 2020, Wang et al., 2020, Heller et al., 2021)
SelS	Selenoproteína S	Regula la adipogénesis a través de la vía de señalización IRE1 α -XBP1. Ejerce un efecto protector en pacientes con diabetes al disminuir las secuelas macrovasculares ante la muerte celular por apoptosis a través de las vías de señalización PKC β II/JNK/Bcl-2. Relacionada con el metabolismo de la glucosa y lipoproteínas.	(Yu et al., 2016, Ye et al., 2018, Yu et al., 2018, Men et al., 2020, Hunter et al., 2021)
SelT	Selenoproteína T	Tiene actividad oxidorreductasa, previene el daño oxidativo y la apoptosis en las neuronas dopaminérgicas y las nefronas.	(Boukhzar et al., 2016, Huang et al., 2020)
SelV	Selenoproteína V	Altamente involucrada en la espermatogénesis en la pubertad. Posee actividad de tipo glutatión peroxidasa y tiorredoxinoreductasa.	(Varlamova and Novoselov, 2012, Varlamova et al., 2015)
SelW	Selenoproteína W	Actividad antioxidante dependiente de glutatión.	(Yao et al., 2013)
SEPHS1	Selenofosfato sintetasa 1 y 2	Síntesis de Selenofosfato a partir de Seleniuro y ATP.	
SEPHS2			
TrxR1	Tiorredoxina reductasa 1	Enzimas con actividad Tiorredoxina, glutarredoxina y glutatión reductasa, previenen la formación de especies de ROS a nivel mitocondrial y la apoptosis.	(Prasad et al., 2014, Moradi et al., 2018, Meng et al., 2020, Joardar et al., 2021)
TrxR2	Tiorredoxina reductasa 2		
TrxR3	Tiorredoxina reductasa 3		

		Participan en procesos de proliferación celular y en la maduración de los espermatozoides.	
--	--	--	--

1.15 Zinc y Selenio en la neuroplasticidad

Se ha reportado que las lesiones cerebrales agudas, como lo es la isquémica, desencadenan fenómenos de diasquisis, este es un fenómeno fisiológico que genera una pérdida repentina y reversible de conexiones anatómicas, afectando funciones que se encuentran relacionadas al área lesionada (**Font et al., 2010**). El proceso de regeneración está dado por cambios a largo plazo, se basan en la activación de sinapsis silenciadas, en la regeneración axonal, en la forma, número y el tipo de sinapsis (**Calabresi et al., 2003**) y con todo esto restaurar la funcionalidad neuronal.

El proceso isquémico altera las redes neurales existentes, las cuales deben ser reparadas para restablecer la funcionalidad, se ha demostrado que los mecanismos de reparación se ven alterados ante el daño isquémico, debido a un incremento en la producción de inhibidores de la regeneración neural, el crecimiento y la plasticidad; dichos componentes están asociados a la mielina (Nogo-A y glicoproteínas asociadas a la mielina) y moléculas guía (efrinas y semaforinas) (**Alia et al., 2017**). Además, se ha reportado un incremento de marcadores de crecimiento axonal como, GAP43, CAP23 y c-Jun (**Carmichael et al., 2005**), esto podría compensar en efecto inhibitorio que se produce ante el daño isquémico. Sin embargo, esto no siempre es así, ya que se ha demostrado que no se logra la recuperación completa del sistema nervioso central persistiendo el daño axonal, reducción del árbol dendrítico, pérdida sináptica y la desaferenciación (**Gao et al., 2011, Casella et al., 2014**).

El proceso de neuroplasticidad es regulado a diferentes niveles, desde la membrana hasta el nivel epigenético, generando una vía de activación que realiza cambios a largo plazo. El zinc se encuentra involucrado a diferentes niveles en esta vía. Se

ha demostrado que la adecuada ingesta de zinc en la dieta ayuda a mantener procesos y actividades neuronales, ya que una deficiencia en la ingesta de zinc se encuentra relacionada a enfermedades como la depresión y la esquizofrenia, en las cuales hay una alteración en la morfología neuronal (**Silva-Gomez et al., 2003, Vazquez-Roque et al., 2012**); la ingesta de zinc mejora el estado de ánimo en pacientes con depresión resistente a tratamiento y en los pacientes control (**Siwek et al., 2009**). A nivel membranal, el zinc puede actuar como un neuromodulador del receptor NMDA, al interactuar con las subunidades NR1/NR2B y de esta forma disminuir la activación del receptor; se ha demostrado que la administración de zinc en ratones disminuye el número de receptores NMDA (**Szewczyk et al., 2010**).

Entre los principales factores tróficos que son necesarios para que se lleve a cabo el proceso de neuroplasticidad se encuentra el BDNF, la expresión de este puede estar siendo regulada por zinc, el cual al interactuar con el receptor GPR39, estimula vías de señalización como PKA, PKC, CAMK y MAPK (**Wang et al., 2013, Khan, 2016**) estas vías convergen en la fosforilación y activación de CREB un factor de transcripción ya descrito para BDNF (**Hashimoto et al., 2004**).

2. Justificación

La enfermedad cerebrovascular (ECV) ocupa el tercer lugar en mortalidad y el primer lugar en discapacidad a nivel mundial, la mayoría de los pacientes presentan síndrome metabólico, diabetes, hipertensión, trombosis y aterosclerosis. El conocer el efecto de zinc y selenio sobre los mecanismos de daño causados por la obliteración de la arteria carótida primitiva (OACP), nos permitirá conocer como llevan a cabo su efecto neuroprotector. El grupo de trabajo ha estudiado diferentes modelos de severidad del proceso hipóxico-isquémico y diferentes estrategias que nos permitan dar a conocer, sí el zinc y el selenio de forma individual o combinada ejercen un efecto neuroprotector potenciado, sobre el estrés nitrosativo, la actividad antioxidante. Además, de reportar la acción de zinc y selenio sobre la remodelación neuronal, ya que actualmente no existen reportes a cerca de ello, por lo que en este trabajo evaluaremos la morfología neuronal y la densidad dendrítica por la tinción de Golgi-Cox.

3. Hipótesis

La administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio en conjunto con el aprendizaje-memoria modifican la actividad antioxidante, la activación glial y la morfología neuronal inducida por un modelo de infarto cerebral severo.

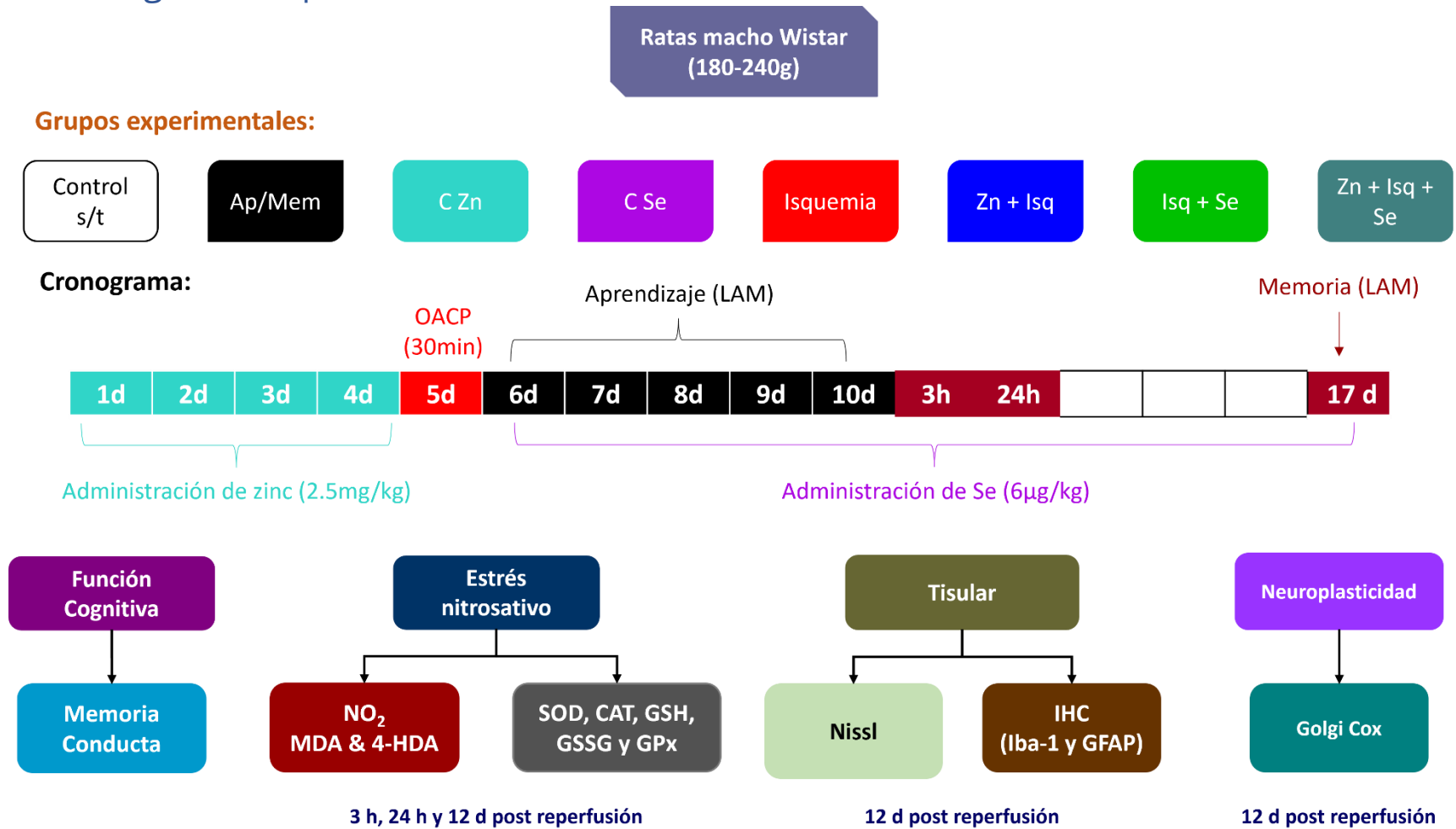
4. Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio en conjunto con el aprendizaje-memoria sobre la actividad antioxidante, la activación glial y la morfología neuronal inducida por un modelo de infarto cerebral severo.

4.1 Objetivos específicos

1. Evaluar efecto de la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio sobre la actividad enzimática de SOD, CAT y GPx en corteza e hipocampo.
2. Evaluar el efecto del aprendizaje y memoria sobre la activación de la microglía y los astrocitos en hipocampo.
3. Evaluar el efecto de la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio sobre la activación de la microglía y los astrocitos en hipocampo en ratas con aprendizaje y memoria.
4. Evaluar el efecto del aprendizaje y memoria sobre la neuroplasticidad en hipocampo.
5. Evaluar el efecto de la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio sobre la neuroplasticidad en hipocampo en ratas con aprendizaje y memoria.

5. Diagrama experimental



6. Metodología

6.1 Animales

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 180-240 g, provenientes del bioterio del CINVESTAV, los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y temperatura de 22 °C, con acceso de agua y alimento *ad libitum*. Se siguieron todos los protocolos para el uso y manejo de animales de laboratorio de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999, el Protocolo para el uso de Animales (UPEAL) del Cinvestav y el reglamento del Bioterio “Claude Bernard” de la BUAP.

6.2 Grupos experimentales

Los animales de experimentación fueron divididos al azar en diferentes grupos de acuerdo con el tratamiento: 1) Control sin tratamiento (C s/t), 2) Isquemia por OACP de 30 min (Isq), 3) Control con administración de selenio (C Se) (6 µg/kg vía i.p. cada 24 horas), 4) Control con administración subaguda de zinc (C Zn) (2.5 mg/Kg vía i.p. cada 24 horas durante 4 días), 5) Isquemia más terapéutica con selenio (Isq + Se), 6) Administración subaguda de zinc más isquemia (Zn + Isq) y 7) Administración de zinc más isquemia más terapéutica con selenio (Zn + Isq + Se). Estos grupos serán utilizados para realizar pruebas cognitivas (aprendizaje y memoria), evaluar, actividad antioxidante (SOD, CAT, GSSG, GSH y GPx), cito arquitectura (Nissl), activación celular (GFAP e Iba-1) y neuroplasticidad (tinción de Golgi Cox).

6.3 Administración profiláctica subaguda de zinc

Los animales de experimentación fueron administrados por vía intraperitoneal con solución madre de ZnCl₂ (5 mg/mL) a dosis de 2.5 mg/kg de peso, cada 24 horas durante 4 días consecutivos (Matsushita et al., 1996, Blanco-Alvarez et al., 2015).

6.4 Administración terapéutica de Selenio

La administración de Selenio se realizó una hora antes de la OACP y se continuó hasta el día del sacrificio; la solución de Na₂SeO₃ (6 µg/mL) fue administrada por

vía intraperitoneal a una dosis de 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso cada 24 h (Tomas-Sanchez et al., 2018).

6.5 Obliteración de la arteria carótida primitiva (OACP)

Las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de ketamina/xilacina a una concentración de 100 mg/mL de ketamina y de 100 mg/mL de xilacina, de esta solución se administraron 0.2 mL/Kg (i.p.), se les colocó en una camilla, se rasuró el cuello y se limpió con benzal al 2%. Se realizó una incisión de 2 cm, se disectaron los músculos que cubren la arteria carótida primitiva izquierda, separando el nervio vago. Se colocó una pinza arterial (buldog), para bloquear el flujo sanguíneo cerebral (FSC) durante 30 minutos, una vez transcurrido el tiempo, se retiró la pinza y se restableció el flujo sanguíneo. Se suturo la herida quirúrgica y posteriormente la rata se mantuvo bajo estrecha vigilancia, hasta su completa recuperación.

6.6 Ensayo para la cuantificación de la actividad enzimática de la enzima superóxido dismutasa (Gao, 1998)

Cuantificamos la actividad enzimática de la Superóxido dismutasa total (tSOD). Se ha reportado que a pH básico (8.2), el pyrogallol sufre autooxidación e incrementa la propagación de radicales favoreciendo el incremento de su autooxidación, dicha reacción es detectada a 420 nm. En la mezcla de reacción utilizamos buffer TRIS-HCl (0.05 M y pH 8.2), una solución de pyrogallol (7.37 mM), también una solución de ácido tetraaminoacético disódico (60 mM). Para evitar el incremento de la reacción colocamos el sobrenadante de las muestras y para inhibir la autooxidación del pyrogallol. Registramos el cambio de absorbancia durante dos minutos con un espectrofotómetro Lambda EZ-150, PerkinElmer Company. Los resultados obtenidos fueron reportados como U/min de proteína.

6.7 Ensayo para la cuantificación de la actividad enzimática de Catalasa (Aebi, 1984)

Realizamos la cuantificación de la actividad enzimática de la catalasa en homogenizado de corteza e hipocampo. Utilizamos 75 μL de homogenizado (corteza

e hipocampo), agregamos 330 μL de peróxido de hidrógeno (30 mM) y completamos el volumen a un mililitro de reacción final con buffer de fosfatos pH 7.4. Llevamos a cabo el registro del cambio de absorbancia en la reacción por la descomposición del peróxido de hidrógeno durante 90 s a 240 nm en un espectro Lambda EZ-150, Perkin Elmer Company. Los resultados de la actividad enzimática fueron reportados como U/mg proteína.

6.8 Ensayo para la cuantificación de la actividad enzimática de la Glutación peroxidasa (GPx)

La corteza temporoparietal y el hipocampo fueron homogeneizados con 200 μL de solución tampón para muestra GPx 10X (Tris-HCl 50 mM, pH 7,5, EDTA 5 mM y DTT 1 mM). Para el ensayo, utilizamos 3 controles de ensayo en los cuales colocamos 70 μl de un buffer de ensayo GPx (10X), 50 μL de la mezcla de cosustrato y 50 μL de NADPH. Para los controles positivos de GPx depositamos 50 μL de un buffer de ensayo, 50 μL de una mezcla de cosustrato, 50 μL de NADPH, y 20 μl de un control GPx diluido. Para nuestras muestras utilizamos 70 μL de un buffer de ensayo, 50 μL de la mezcla de cosustrato, 50 μL de NADPH, 20 μL de sobrenadante y 20 μL de hidroperóxido de cumeno, como catalizador de la reacción. Se registró la absorbancia a 340 nm cada minuto durante 5 min, utilizando el nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Los resultados de la actividad enzimática (degradación de H_2O_2) fueron presentados como GPx ($\text{NADPH nmol}/\text{min}^{-1}/\text{mL}$).

6.9 Ensayo para la cuantificación de Glutación total (GGSG y GSH) (Rahman et al., 2006)

Las muestras se homogenizaron en una solución que contiene Triton-X al 0,1 % (n.º de catálogo 9002-93-1 o X100; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y ácido 5-sulfosalicílico dihidrato al 0,6 % (catálogo # 247006; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) en proporciones iguales y centrifugaron a 8000 x g durante 10 min a 2-4 °C.

Para llevar a cabo la cuantificación de Glutación, se depositaron 20 μL de sobrenadante en una placa de 96 pozos, se agregaron 60 μL de DNTB (5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico), catálogo # D8113; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y 60 μL de glutación reductasa (catálogo # G3664; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.), se incubo durante 30 s a T.A. y se agregaron 60 μL de $\beta\text{-NADPH}$ (catálogo n.º N1630; Sigma-Aldrich) se leyó inmediatamente la formación de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico a 412 nm cada 30 s durante 2 min usando un lector de microplacas (Bechmark™, Bio-Rad, Hercules, California 94547, EE. UU.).

Como blancos, se utilizaron tres pozos que contenían 20 μL de KPE (tampón K_2HPO_4 EDTA, n.º de catálogo E9884; Sigma-Aldrich). La concentración total de glutación se determinó por interpolación a partir de una curva estándar de glutación (26,4–0,4125 nM; n.º de catálogo PHR1359; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.).

6.10 Laberinto acuático de Morris

A los grupos experimentales se les evaluó el proceso de aprendizaje y memoria de referencia espacial en el laberinto acuático de Morris (LAM) un día después del proceso isquémico cerebral. El LAM consta de una tina circular (piscina de nado) de un diámetro de 200 cm y una altura de 75 cm, la plataforma de escape mide 10 cm de diámetro. La tina se llenó con agua (19-22 °C), tomando como referencia la plataforma, un centímetro arriba de esta. La piscina de nado se encuentra dividida en 4 cuadrantes Norte (N), Sur (S), Este (E) y Oeste (O), en las paredes internas de la tina se colocan dos dibujos, los cuales sirven de orientación y ubicación de la plataforma.

Se realizaron 4 ensayos por día, uno en cada cuadrante, las ratas tuvieron 60 segundos (s) para encontrar la plataforma (tiempo de latencia), una vez que la encontraron y se ubicaron en ella, se les dejó sobre la plataforma 30 s, posteriormente fueron retiradas de la plataforma y se esperaron 30 minutos para iniciar el ensayo en el siguiente cuadrante, siguiendo el orden de N, O, S y E durante 5 días consecutivos.

La memoria se evaluó siete días después del último día de ensayo de aprendizaje, para esto se realizó un solo ensayo durante 60 s desde el cuadrante más lejano a la posición de la plataforma, contabilizando el número de veces que la rata pasaba por el sitio donde se encontraba la plataforma de escape, así como el segundo en el que lo realiza y el tiempo que permanece en el cuadrante.

6.11 Nissl

Los cortes de 40 μm de grosor fueron colocados en portaobjetos gelatinizados, posteriormente, fueron lavados con agua destilada y teñidos con solución de violeta de cresilo (Merck KGaA; San Luis, Misuri, EUA) al 0.1% en solución de ácido acético al 0.25% durante 30 min. Posteriormente, los cortes fueron deshidratados en concentraciones crecientes de etanol, aclarados con xileno (Hycel; CDMX, México) y se utilizó resina de Entellan (Merck KGaA; Darmstadt, Alemania), como medio de montaje.

6.12 Inmunohistoquímica

El cerebro de cada uno de los grupos fue crio-protegido con sacarosa al 30% y se realizaron cortes sagitales de 40 μm equidistantes 1:6, fueron lavados con TBS-1X y pre-incubando con solución de H_2O_2 al 3% por 30 min, para bloquear peroxidasa endógenas. Después de retirar el exceso de H_2O_2 con lavados de TBS-1X, las rebanadas fueron bloqueadas con TBS ++ durante 30 min a TA, se incubaron con el anticuerpo primario anti-GFAP y anti-Iba-1 toda la noche a 4°C. Posteriormente, usando el método del sistema ABC peroxidasa (el anticuerpo secundario conjugado con biotina y 3,3' diaminobenzidina (DAB) como revelador). Las células GFAP+ e Iba-1+ fueron digitalizadas con un objetivo 10X para su posterior análisis.

6.13 Tinción de Golgi Cox

Los animales fueron anestesiados y posteriormente sometidos a perfusión cardiaca con solución Hartman por 15 minutos. Los cerebros fueron colocados en la solución de impregnación reposando por 45 días, posteriormente, los cerebros fueron colocados en solución de sacarosa al 30 % por 7 días. El cerebro fue colocado

en la platina del vibratomo (MA752; Campden Instrument, Leicester, United Kingdom) con orientación coronal y se sumergió en solución de sacarosa al 6% hasta cubrirlo completamente, los cortes fueron de un grosor de 200 μm , que se colocaron en portaobjetos gelatinizados al 4 %. Las laminillas fueron colocadas en una cámara húmeda (con agua destilada) en oscuridad máximo un 1 día antes del revelado. El revelado se realizó usando fijador kodak al 50 %, se deshidrató el tejido con concentraciones crecientes de etanol, 50 %, 70 %, 95 %, alcohol absoluto y xilol; por último, se cubrieron los tejidos con resina sintética y se almacenaron de 3-4 días en oscuridad (Vazquez-Roque et al., 2012, Aguilar-Hernandez et al., 2020).

6.14 Análisis de Sholl

El análisis fue realizado en neuronas granulares del giro dentado y piramidales de las regiones CA1 y CA3 del hipocampo dorsal, la selección consistió en incluir neuronas completamente impregnadas, sin truncamiento aparente del eje dendrítico. El árbol dendrítico se generó por reconstrucciones secuenciales bidimensionales para cada neurona a través de la observación en el microscopio (DMLS Leica Microscope). Los trazados dendríticos se cuantificaron mediante análisis de Sholl; el cual se realiza con un acetato transparente con anillos concéntricos equidistantes (10 μm) se centró sobre los trazados de los árboles dendríticos, y se utilizó el número de intersecciones de anillos para estimar la arborización dendrítica, el orden y la longitud dendrítica total. Para calcular la densidad de espinas, se trazó la parte distal de la dendrita (al menos 30 μm de longitud), se calculó la longitud exacta del segmento dendrítico y se contó el número de espinas a lo largo de la longitud (para obtener el # de espinas / 10 μm).

6.15 Análisis estadístico

Los valores son la media \pm error estándar de la media (SEM). La diferencia de latencia de escape se analizó con ANOVA de dos vías y pruebas de comparaciones múltiples post hoc de Bonferroni, mientras que la latencia de escape en la prueba de memoria se analizó con Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn. Se utilizó ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett para analizar los resultados bioquímicos, la

densidad óptica de la tinción de Nissl y el número de células Iba-1 positivas en las áreas del hipocampo. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Prism (GraphPad Prism; San Diego, CA, EE. UU.; RRID: SCR_0158070). Los valores experimentales se compararon con sus respectivos grupos Control sin tratamiento (*), LAM (Φ) y OACP (†). $P < 0,05$ fue significativo.

7. Resultados

El modelo de OACP de 30 min causa estrés nitrosativo al incrementar los niveles de nitritos y MDA & 4-HDA en la corteza temporoparietal en la fase temprana al daño (3 y 24 h post reperusión). En el grupo isquemia disminuyen los niveles de nitritos ($38.2 \pm 16.9\%$, $P = 0.0109$), esta disminución se mantiene con la administración de zinc (3 h: $62.5 \pm 2.78\%$, $P = 0.0002$) y la combinación con selenio (3 h: $39.2 \pm 2.62\%$, $P = 0.0091$; 24 h: $35.5 \pm 2.93\%$, $P = 0.0284$). Con la OACP de 30 min incrementa la lipoperoxidación ($214 \pm 134\%$, $P = 0.0110$), efecto que no es revertido con la sola administración profiláctica de zinc ($514 \pm 48\%$, $P = 0.0001$) o en combinación con la administración terapéutica de selenio ($148 \pm 22\%$, $P = 0.0007$). Mientras que en el hipocampo no se observan diferencias estadísticamente significativas en los niveles de nitritos y MDA & 4-HDA en los tiempos de estudio propuestos. Por lo que, nuestro siguiente objetivo fue determinar la actividad antioxidante en la fase temprana al daño.

La actividad de SOD, CAT, GSSG y GSH (moléculas con capacidad de oxidarse y reducirse por acción de la GPx); fue analizada en los grupos control como en los experimentales después de la OACP de 30 min. En la corteza temporoparietal; la actividad enzimática de la SOD total (**Fig. 1a**) muestra un decremento a las 3 h en los grupos C Zn ($53.65 \pm 5.17\%$, $P = 0.0001$) y Se ($48.68 \pm 11.52\%$, $P = 0.0003$), cuando se compara respecto al grupo Control sin tratamiento. El grupo OACP de 30 min no modificó los niveles de SOD. La administración combinada de zinc y selenio disminuye la actividad de SOD cuando se compara con el control sin tratamiento ($31.56 \pm 6.74\%$, $P = 0.0025$) y al grupo OACP ($33.27 \pm 6.57\%$, $P = 0.0289$). A las 24 h post reperusión, la administración profiláctica subaguda de zinc (C Zn) incrementa la actividad de SOD cuando se compara con el C s/t ($64.53 \pm 17.78\%$, $P =$

0.0037) y al grupo Isquemia ($55.19 \pm 16.77\%$, $P = 0.0342$); la actividad enzimática de CAT no mostró cambios a las 3 y 24 h en ninguno de los grupos experimentales (Fig. 1b).

En el hipocampo los niveles de SOD (Fig. 1c) no se ven modificados a las 3 h en ningún grupo experimental, mientras que a las 24 h hay una disminución en el grupo que recibe la administración profiláctica subaguda de zinc del $51.49 \pm 4.47\%$ ($P = 0.0478$) comparado con el grupo control sin tratamiento. Mientras que los resultados no muestran cambios estadísticamente significativos a las 3 y 24 h en la actividad enzimática de CAT (Fig. 1d).

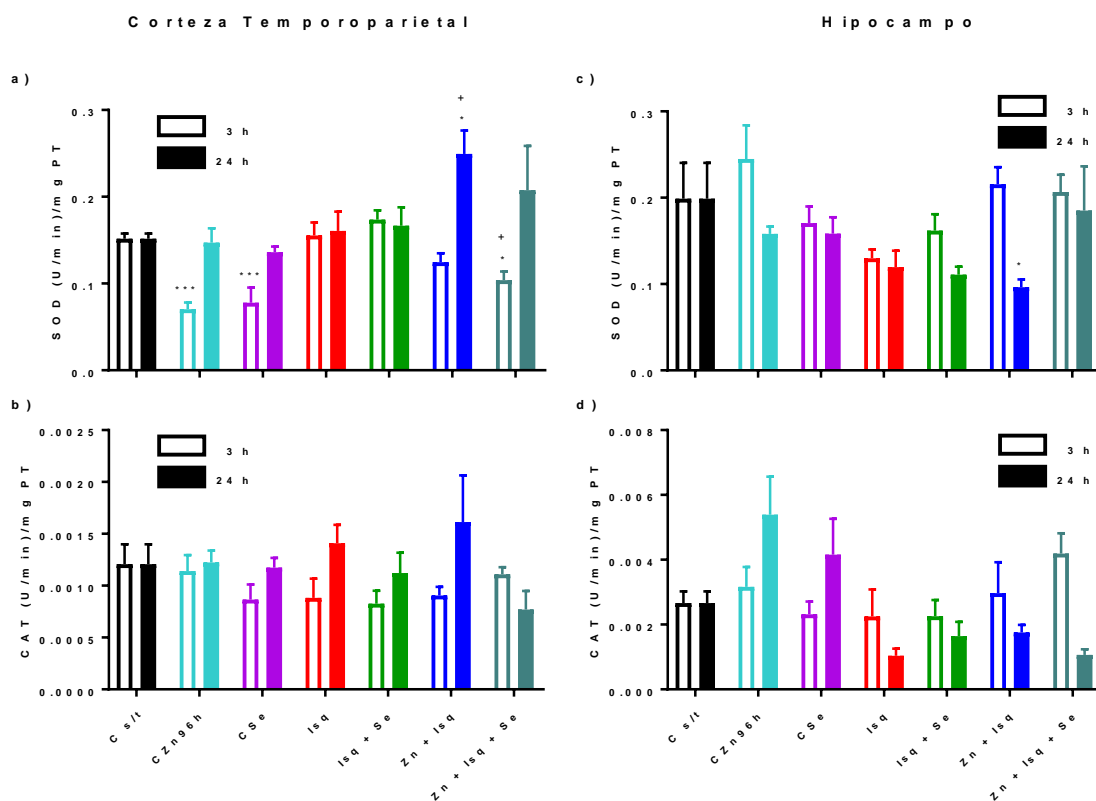


Fig. 1 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio en un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en la actividad enzimática de CAT y SOD.

Cada barra representa la media \pm SEM (n=3). * Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al grupo C s/t. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia. $P < 0.05$.

Al determinar los valores de GSH, GSSG y el índice GSSG/GSH en la corteza temporoparietal, observamos que los niveles de GSSG (**Fig. 2a**), no muestran cambios estadísticamente significativos a las 3 h en ninguno de los grupos experimentales. Mientras que, todos los grupos experimentales a las 24 h disminuyen los niveles GSSG en la corteza temporoparietal al comparar con el grupo Control sin tratamiento. Los niveles de GSH disminuyeron a las 3 h con los tratamientos de zinc y selenio en ausencia de daño (**Fig. 2b**). En presencia del daño isquémico, la administración profiláctica de zinc sola o en combinación con selenio incrementa los niveles de GSH a las 24 h post reperusión cuando se compara con el grupo control sin tratamiento y al grupo OACP. Al evaluar el índice GSSG/GSH (**Fig. 2c**), los resultados indican que la administración de selenio a las 3 h en ausencia de daño incrementa, el ambiente oxidante comparado con el grupo control sin tratamiento. Mientras, todos los grupos experimentales a las 24 h disminuyen el índice GSSG/GSH, mostrando un ambiente antioxidante en la corteza temporoparietal cuando se compara con el grupo control sin tratamiento (**Tabla 2**).

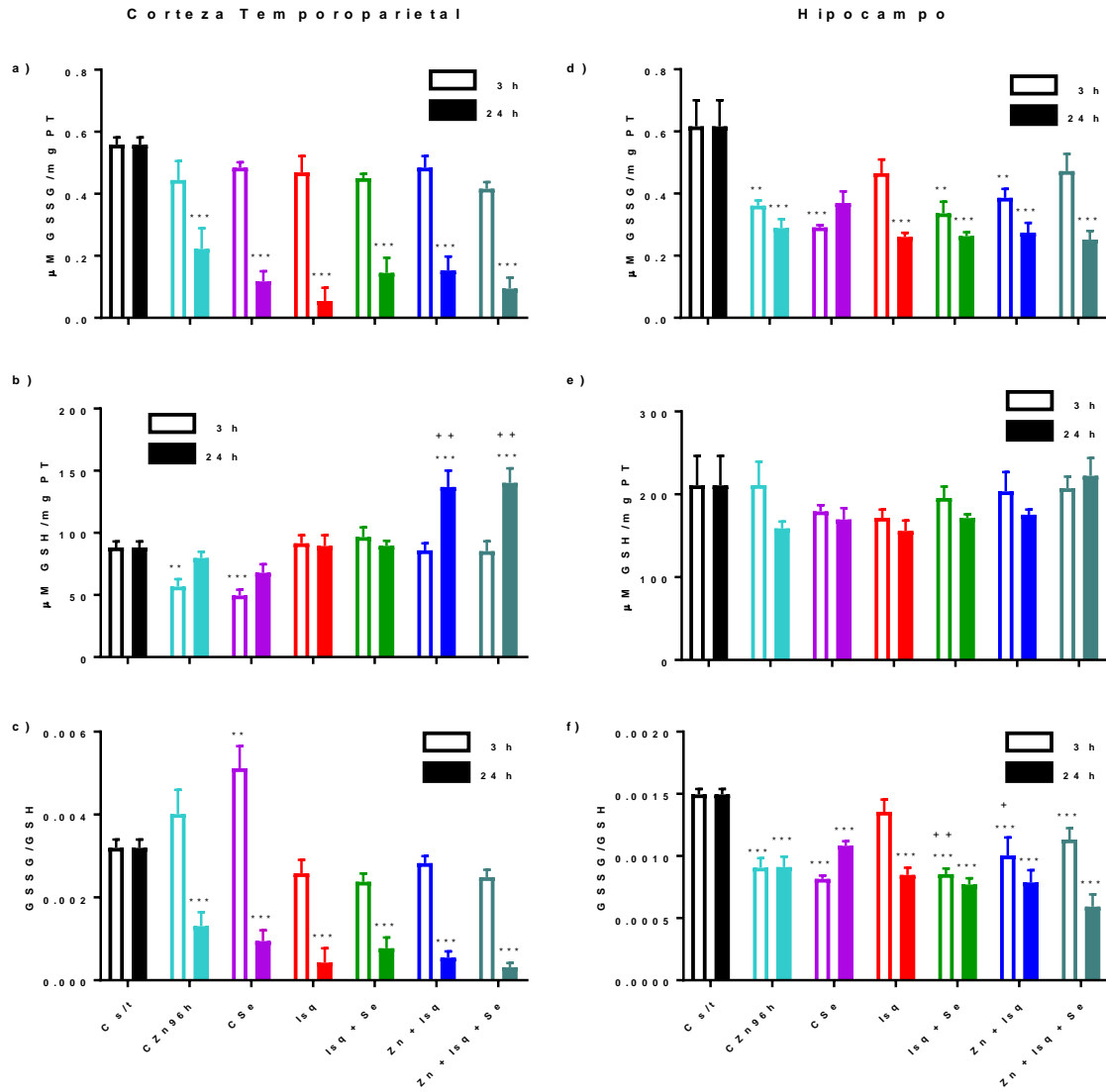


Fig. 2 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio ante un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en los niveles de GSSG, GSH y el índice GSSG/GSH.

Cada barra representa la media \pm SEM (n=3). * Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al grupo C s/t. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia. $P < 0.05$.

Tabla 2 Estadística de las determinaciones en la Corteza temporoparietal

	GSSG		GSH		GSSG/GSH	
	3h	24h	3h	24h	3h	24h
CZn96h	N.S.	-60.21 ± 11.92%	-35.74 ± 6.70%	N.S.	N.S.	-59.07 ± 10.35%
CSe	N.S.	-78.95 ± 5.91%	-43.82 ± 5.20%	N.S.	60.02 ± 16.60%	-70.45 ± 8.21%
Isq	N.S.	-90.27 ± 7.65%	N.S.	N.S.	N.S.	-86.57 ± 10.69%
Isq + Se	N.S.	-74.0 ± 8.71%	N.S.	N.S.	N.S.	-75.79 ± 8.07%
Zn + Isq	N.S.	-72.57 ± 7.90%	N.S.	55.03 ± 14.82%	N.S.	-82.83 ± 4.59%
Zn + Isq + Se	N.S.	-83.10 ± 6.29%	N.S.	58.84 ± 13.16%	N.S.	-90.21 ± 3.32%

Los valores de porcentajes son la media ± SEM cuando se compara con el control sin tratamiento.

Mientras que, en hipocampo los niveles de GSSG (**Fig. 2d**), disminuyeron a las 3 h en los grupos que recibieron la administración de zinc y selenio en ausencia de daño, así como la administración de cada elemento ante el daño isquémico cerebral, cuando se compara con el grupo control sin tratamiento. Además, los niveles de GSSG a las 24 h en todos los grupos experimentales disminuyeron (**Tabla 2**). No hubo cambios estadísticamente significativos en los niveles de GSH (**Fig. 2e**) en ninguno de los tiempos evaluados. Mientras, que todos los tratamientos experimentales en presencia o ausencia del daño isquémico disminuyen el índice GSSG/GSH (**Fig. 2f**), lo que nos sugiere un balance redox hacia el ambiente antioxidante a las 3 y 24 h de evaluación (**Tabla 3**).

Tabla 3 Estadística de las determinaciones en el Hipocampo

	GSSG		GSH		GSSG/GSH	
	3h	24h	3h	24h	3h	24h
CZn96h	-41.39 ± 2.70	-53.11 ± 4.63%	N.S.	N.S.	-39.40 ± 5.10%	-39.05 ± 5.59%
CSe	-52.76 ± 1.24	-39.96 ± 6.05%	N.S.	N.S.	-45.47 ± 1.83%	-27.55 ± 2.43%
Isq	N.S.	-57.78 ± 2.18%	N.S.	N.S.	N.S.	-43.32 ± 3.92%
Isq + Se	-45.44 ± 6.13	-57.31 ± 2.05%	N.S.	N.S.	-42.86 ± 2.96%	-48.38 ± 3.26%
Zn + Isq	-37.33 ± 4.66	-55.45 ± 5.12%	N.S.	N.S.	-32.81 ± 9.71%	-47.29 ± 6.56%
Zn + Isq + Se	N.S.	-59.15 ± 4.54%	N.S.	N.S.	-24.22 ± 6.06%	-60.37 ± 6.58%

Los valores de porcentajes son la media ± SEM cuando se compara con el control sin tratamiento.

Al cuantificar los niveles de actividad enzimática de GPx (**Fig. 3**) a las 24 h post tratamiento y post reperusión en la corteza temporoparietal (**Fig.3a**) observamos un incremento en el grupo isquémico (112.62 ± 41.4 ; $P = 0.0027$) cuando comparamos respecto al grupo C s/t, mientras que la administración profiláctica subaguda de zinc disminuye la actividad (39.29 ± 4.69 ; $P = 0.0298$) respecto al grupo Isq. En el hipocampo (**Fig.3b**) el grupo Zn + Isq incrementa la actividad enzimática respecto al grupo C s/t (133.1 ± 16.17 ; $P = 0.0077$) e Isq (188.64 ± 20.03 ; $P = 0.0023$).

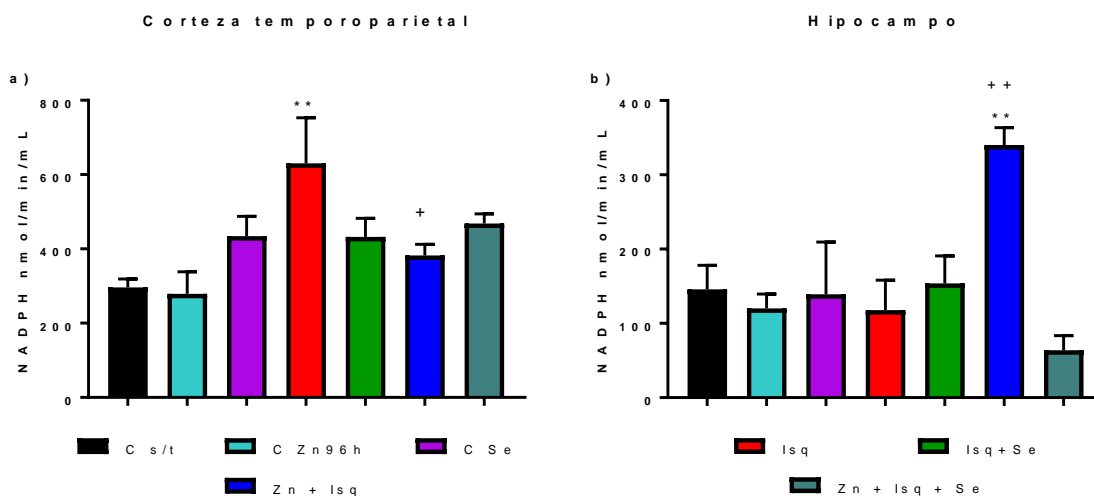


Fig. 3 Efecto de la administración profiláctica subaguda de zinc y terapéutica de selenio ante un proceso isquémico cerebral de 30 minutos en la actividad enzimática de GPx en la corteza temporoparietal e hipocampo a las 24 h post reperusión.

Cada barra representa la media \pm SEM ($n=4$). * Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al grupo C s/t. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia. $P < 0.05$.

Los procesos funcionales-cognitivos en el modelo isquémico y tratamientos de zinc y selenio fueron evaluados por el aprendizaje y la memoria en el LAM (Fig. 4). La administración subaguda de zinc en ausencia de daño no modifica el proceso de aprendizaje respecto al grupo control (Fig. 4a); la administración de selenio en ausencia de daño incrementa el tiempo de llegada a la plataforma de escape en los últimos dos días de entrenamiento en un $51.9 \pm 16.03\%$ ($P = 0.0342$) y $90.91 \pm 19.37\%$ ($P = 0.0018$), respectivamente (Fig. 4b), al comparar el grupo isquémico respecto al grupo control se observa un incremento significativo al quinto día de entrenamiento en un $55.4 \pm 27.09\%$ ($P = 0.0407$) (Fig. 4c); cuando se administra selenio de forma terapéutica ante el daño isquémico cerebral se observa un incremento de $38.19 \pm 12.03\%$ ($P = 0.0476$) en la latencia de llegada a la

plataforma de escape en el cuarto día de aprendizaje (Fig. 4d); la curva de aprendizaje se ve modificada con la administración profiláctica subaguda de zinc al disminuir el tiempo de llegada a la plataforma de escape al tercer (32.38 ± 9.46%, $P = 0.0261$) y quinto (52.38 ± 10.21%, $P = 0.0099$) día de aprendizaje, cuando se compara respecto al grupo isquémico (Fig. 4e); finalmente, la administración combinada profiláctica de zinc y terapéutica de selenio disminuye el tiempo de llegada a la plataforma el tercer día de aprendizaje en un 30.4 ± 9.17% ($P = 0.0335$), esto respecto al grupo isquémico (Fig. 4f).

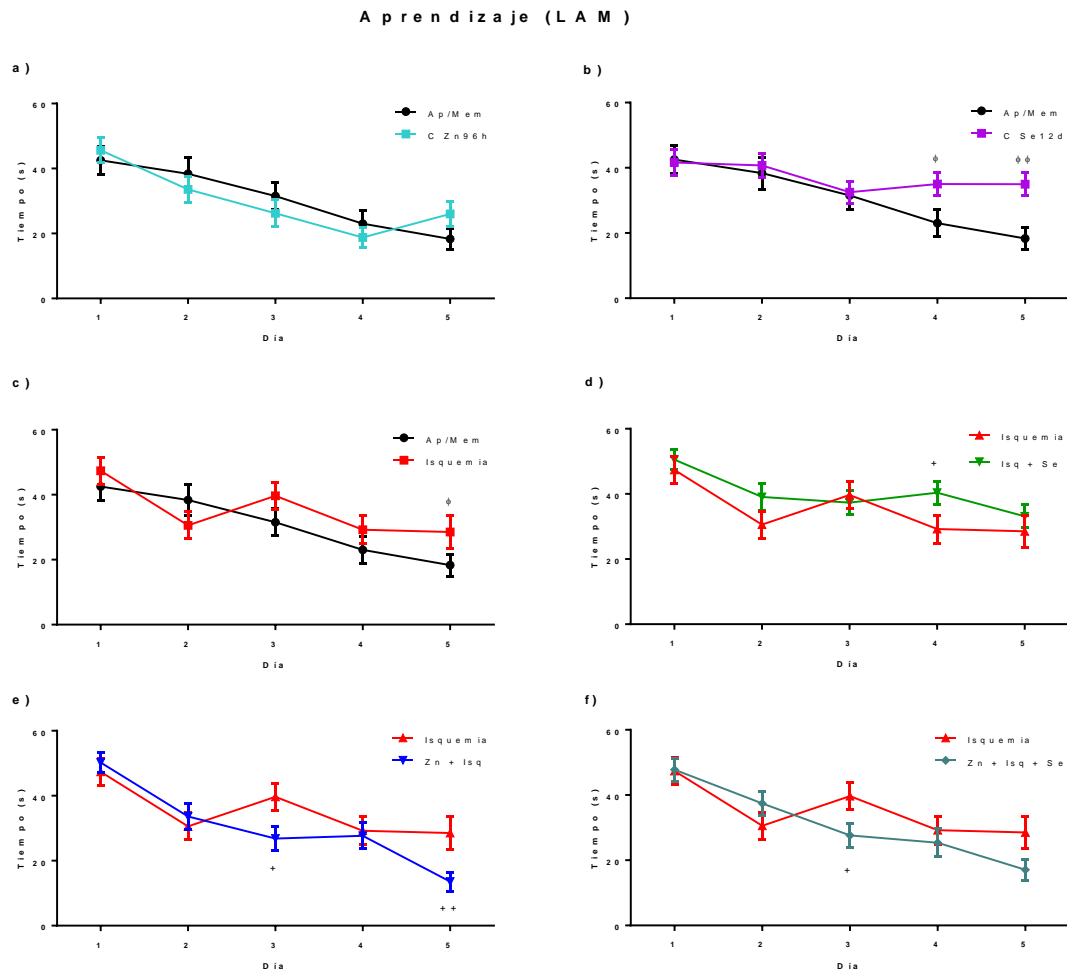


Fig. 4 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre el aprendizaje en el LAM.

Se muestran las curvas de aprendizaje para cada grupo experimental, cada punto representa cada día de la evaluación, en cada día de evaluación se realizaron 4 ensayos por animal de experimentación. Cada punto de la gráfica representa la media \pm SEM (n=12). ϕ Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al grupo control ApMem. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia. $P < 0.05$.

La memoria de largo plazo se evaluó siete días después de haber finalizado la etapa de aprendizaje (**Fig. 5a**), los grupos control con zinc y de selenio no mostraron diferencias significativas en el primer registro de ingreso en la zona donde se encontraba la plataforma; la OACP de 30 minutos causó un incremento del $103.44 \pm 17.81\%$ ($P = 0.0001$) en el tiempo de llegada al cuadrante SE a los 12 días posteriores al daño, mostrando un daño en la recuperación. La pérdida de la memoria causada por OACP fue revertida con los tratamientos, disminuyendo un $39.02 \pm 14.36\%$ ($P = 0.014$) con la administración terapéutica de selenio, $60.07 \pm 4.85\%$ ($P = 0.0001$) con la profiláctica de zinc y $47.49 \pm 8.07\%$ ($P = 0.0001$) con la combinación de ambas revierte el déficit causado por el daño isquémico. La OACP disminuyó $44.16 \pm 8.84\%$ ($P = 0.0249$) el número de veces que los animales de experimentación pasan por la zona donde se encontraba la plataforma al comparar respecto al control. La administración profiláctica de zinc incrementa el número de visitas al cuadrante SE en un $114.88 \pm 17.8\%$ ($P = 0.0001$) al grupo isquemia, (**Fig. 5b**).

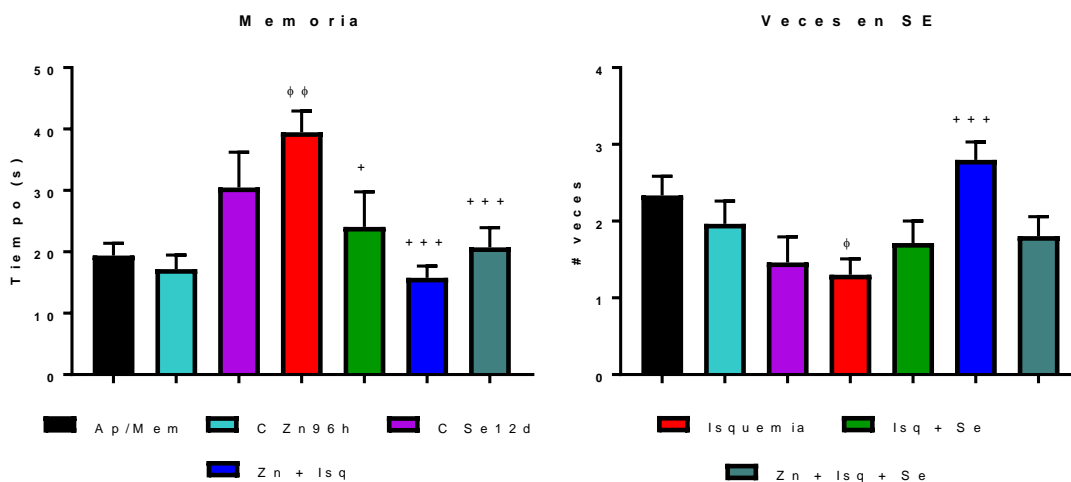


Fig. 5 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre la memoria de largo plazo en el LAM.

a) Latencia a la zona donde se encontraba la plataforma de escape. b) Número de veces que cruza por el cuadrante donde se encontraba la plataforma. Cada barra representa la media \pm SEM (n=12). ϕ Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al grupo control ApMem. $P < 0.05$. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia.

Para evaluar el efecto de nuestros tratamientos ante el daño isquémico en combinación con ejercicio de nado en los niveles de MDA & 4-HDA en la corteza temporo-parietal en animales con aprendizaje y memoria a los 12 días post reperusión (**Datos no mostrados**), hay un incremento significativo en los grupos control ApMem ($1118.2 \pm 67\%$, $P = <0.0001$), C Zn ($591.3 \pm 120\%$, $P = 0.0025$), Isquemia ($643.2 \pm 40\%$, $P = 0.0022$) y Zn + Isq ($560.3 \pm 108\%$, $P = 0.0038$), respecto al grupo C s/t; mientras que en hipocampo no se encuentran cambios. Al cuantificar los niveles de nitritos (NO_2^-) no se observan cambios estadísticamente significativos en ninguna de las regiones evaluadas. La OACP transitoria de 30 min en animales con aprendizaje y memoria en el LAM no genera cambios estadísticamente significativos en los

niveles de SOD, mientras que incrementa la actividad de CAT (**Fig. 6**) en la corteza temporoparietal ($242 \pm 17.8\%$, $P = 0.0354$) (**Fig. 6a y b**) y en el hipocampo (**Fig. 6c y d**) a los 12 días post reperusión. Además, la administración profiláctica de zinc y la administración terapéutica de selenio no modifican la actividad enzimática de la SOD total (**Fig. 6a y c**). Al cuantificar la actividad de la CAT, observamos que la administración profiláctica de zinc sola ($77.15 \pm 6.6\%$, $P = 0.0204$) o en combinación con selenio ($74.49 \pm 11.8\%$, $P = 0.0439$) disminuye la actividad enzimática en la corteza temporoparietal cuando se compara respecto al grupo que recibió la OACP de 30 min (**Fig. 6b**). En hipocampo no se observan cambios estadísticamente significativos en la actividad de SOD y CAT en ningún grupo experimental (**Fig. 6c y d**).

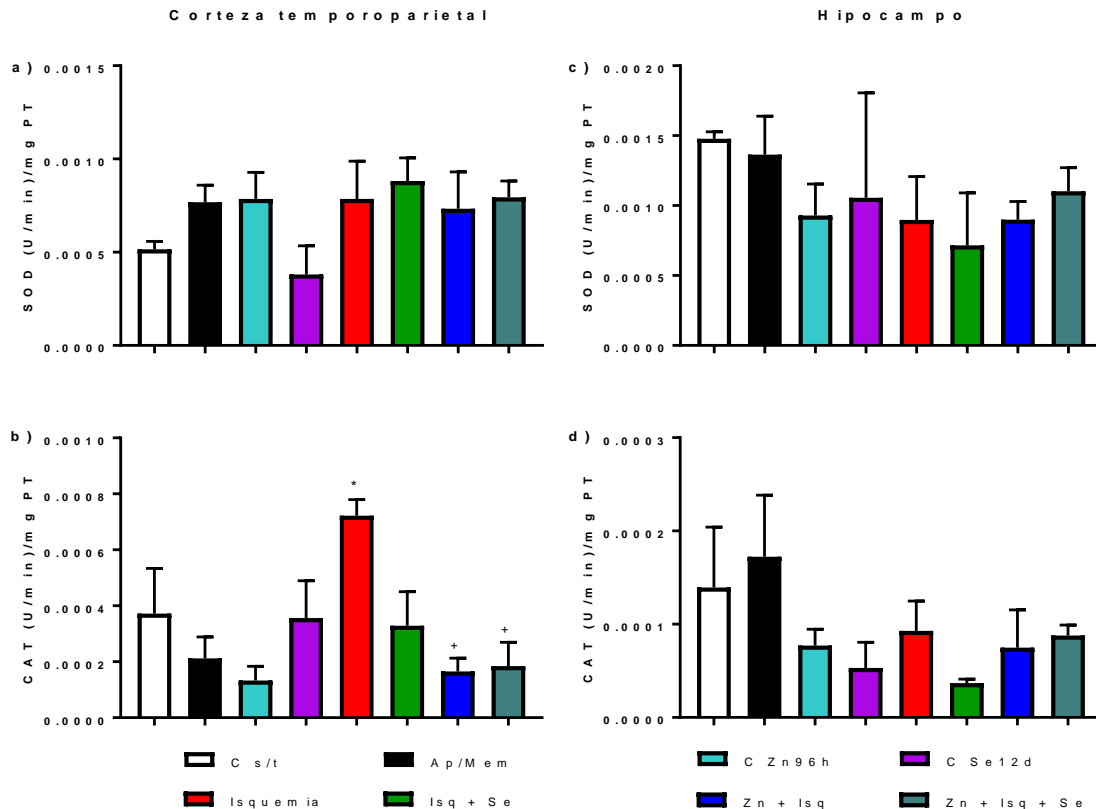


Fig. 6 Efecto de la administración de zinc, selenio y la OACP de 30 min sobre la actividad enzimática de la SOD y Catalasa a los 12 días post reperusión.

Cada barra representa la media \pm SEM ($n=3$). * Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparando todos los grupos respecto al control. $P < 0.05$. + Analizado con ANOVA de 1 vía para datos no paramétricos, comparado todos los grupos respecto al grupo isquemia.

Para evaluar la citoarquitectura de la corteza temporoparietal e hipocampo utilizamos la tinción de Nissl y un análisis densitométrico por píxeles. La corteza temporoparietal (**Fig. 7**) fue dividida de acuerdo a la distribución de las capas corticales neuronales, al comparar al grupo que se le realizó a OACP de 30 min no se obtuvieron diferencias respecto al control sin tratamiento; en el grupo que recibió la administración terapéutica de selenio frente a la OACP se observa un incremento del $85.13 \pm 19.24\%$ ($P = 0.0032$) de la densidad de píxeles en la región comprendida entre LI, LII & LIII; en

LIV y LV, mientras que no se encuentran cambios estadísticamente significativos en ningún grupo experimental; además en el grupo que recibió la administración profiláctica de zinc se encontró un incremento del $41.26 \pm 3.52\%$ ($P = 0.0381$) en LVI.

En el giro dentado del hipocampo (**Fig. 8**) la OACP de 30 min disminuye el número de pixeles ($27.66 \pm 4.9\%$, $P = 0.0027$), efecto que se mantiene con la administración profiláctica de zinc y terapéutica de selenio ($31.52 \pm 5.2\%$, $P = 0.0008$) cuando se compara respecto al grupo control ApMem, la administración profiláctica de zinc la incrementa ($41.21 \pm 10.9\%$, $P = 0.0013$) cuando se compara respecto al grupo isquemia. Este mismo comportamiento se observa en la región CA3, por último, que en la región CA1 los tratamientos no modifican la cito arquitectura.

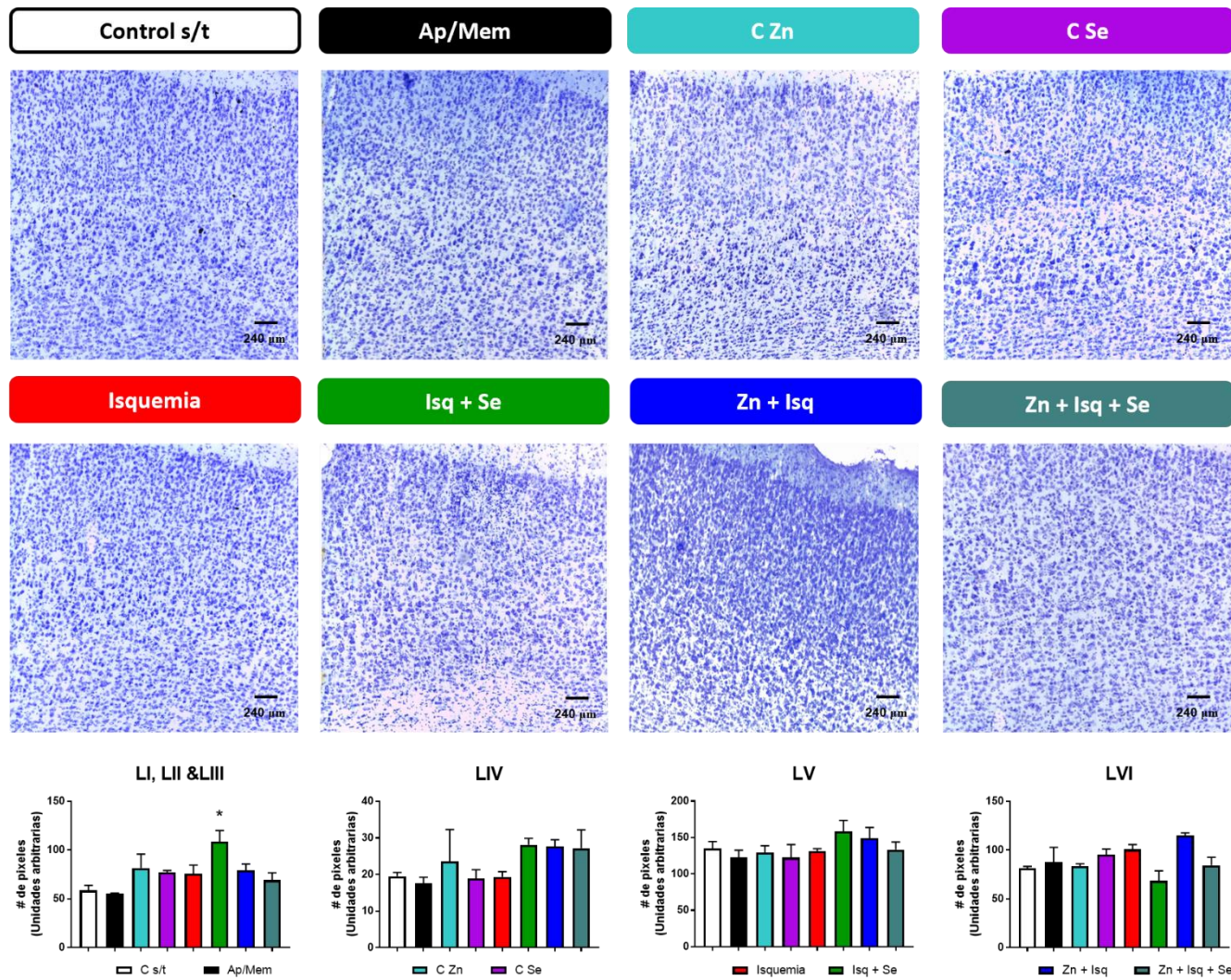


Fig. 7 Tinción de Nissl en la corteza temporoparietal a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 50 µm, tomando un corte cada 300 µm del hemisferio ipsilateral completo. Los valores son la media ± SEM, n=3. * $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs C s/t. La barra corresponde a 240 µm.

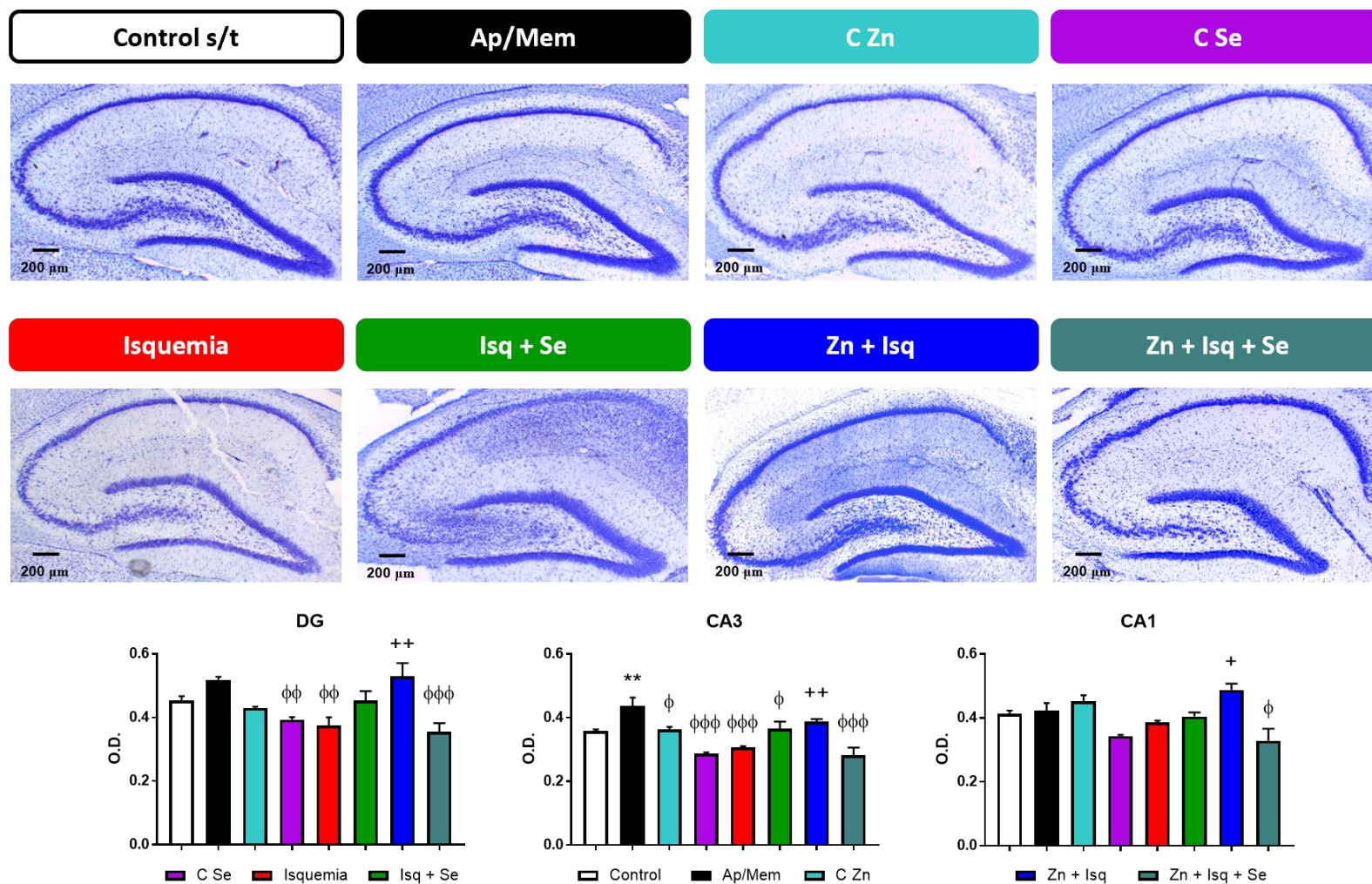


Fig. 8 Tinción de Nissl en hipocampo a los 12 días post reperfusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 50 μm , tomando un corte cada 300 μm del hemisferio ipsilateral completo. Los valores son la media \pm SEM, $n=3$. * $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs C s/t. ϕ $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs Isq. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs Isq. La barra corresponde a 200 μm .

Al realizar la inmunohistoquímica contra la proteína acida glial fibrilar (GFAP) (Fig. 9 y 10), un marcador específico de astrocitos, en el *subiculum* se encontró una disminución del $24.22 \pm 4.49\%$ ($P = 0.0131$) en la inmunorreactividad con la administración profiláctica de zinc ante el daño isquémico cerebral (Fig. 10). En el giro dentado del hipocampo, observamos un incremento en la inmunorreactividad en los grupos que recibieron la sola administración terapéutica de selenio ($24.97 \pm 2.54\%$, $P = 0.004$) y la administración profiláctica de zinc ($25.11 \pm 2.98\%$, $P = 0.004$), cuando se compara respecto al grupo isquémico (Fig. 10). En el *stratum lacunosum moleculare* (SLM) se observa un incremento del $29.18 \pm 4.50\%$ ($P = 0.0001$) de la reactividad a GFAP en el grupo Isq+Se, esto respecto al grupo que recibió la OACP (Fig. 10).

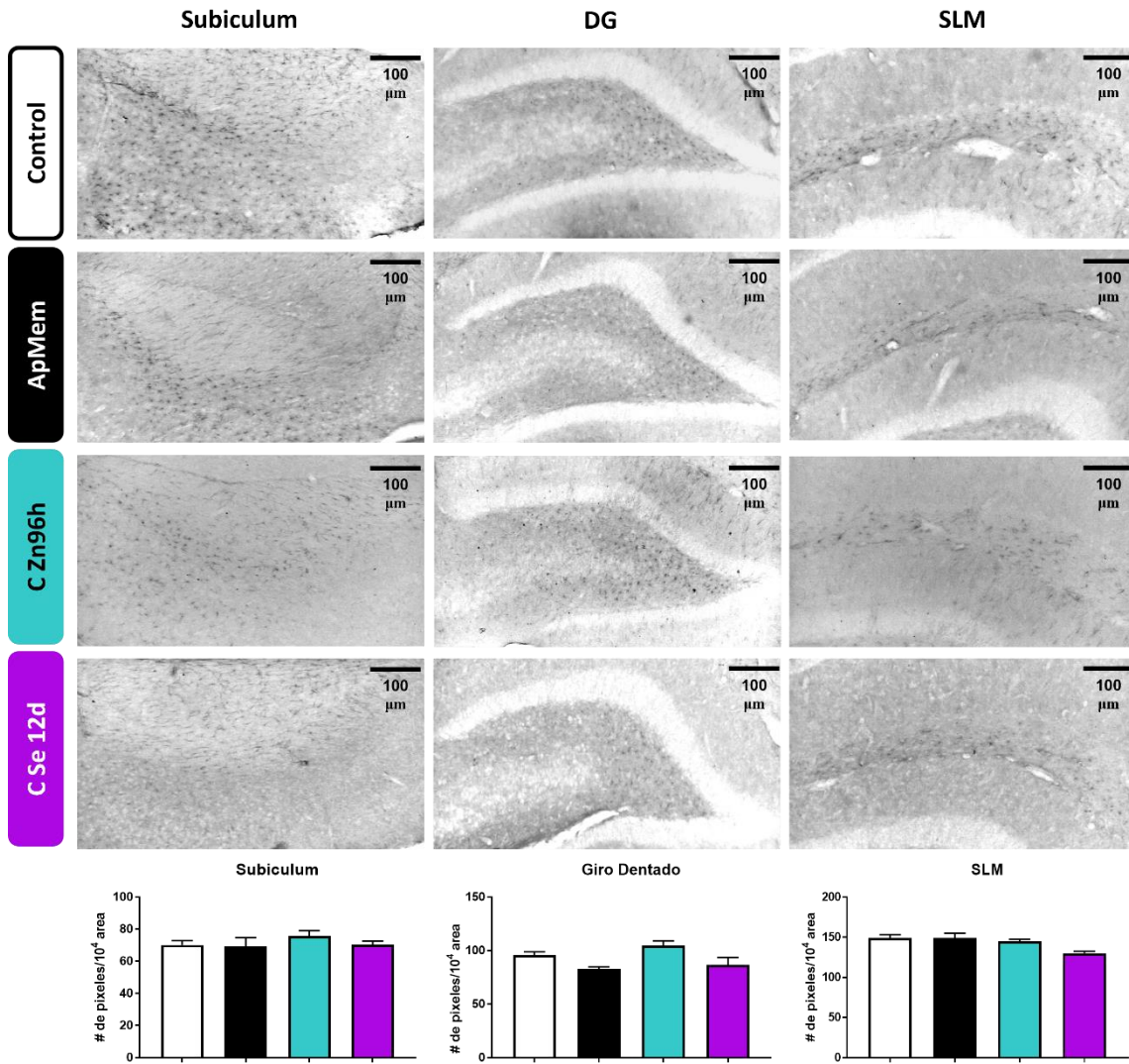


Fig. 9 La administración profiláctica de zinc o terapéutica de selenio incrementa la inmunorreactividad a GFAP en giro dentado a los 12 días post reperfusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 40 µm, tomando un corte cada 300 µm del hemisferio ipsilateral completo. Los valores son la media ± SEM, n=3. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett. Las imágenes fueron adquiridas a 20X. La barra corresponde a 100 µm

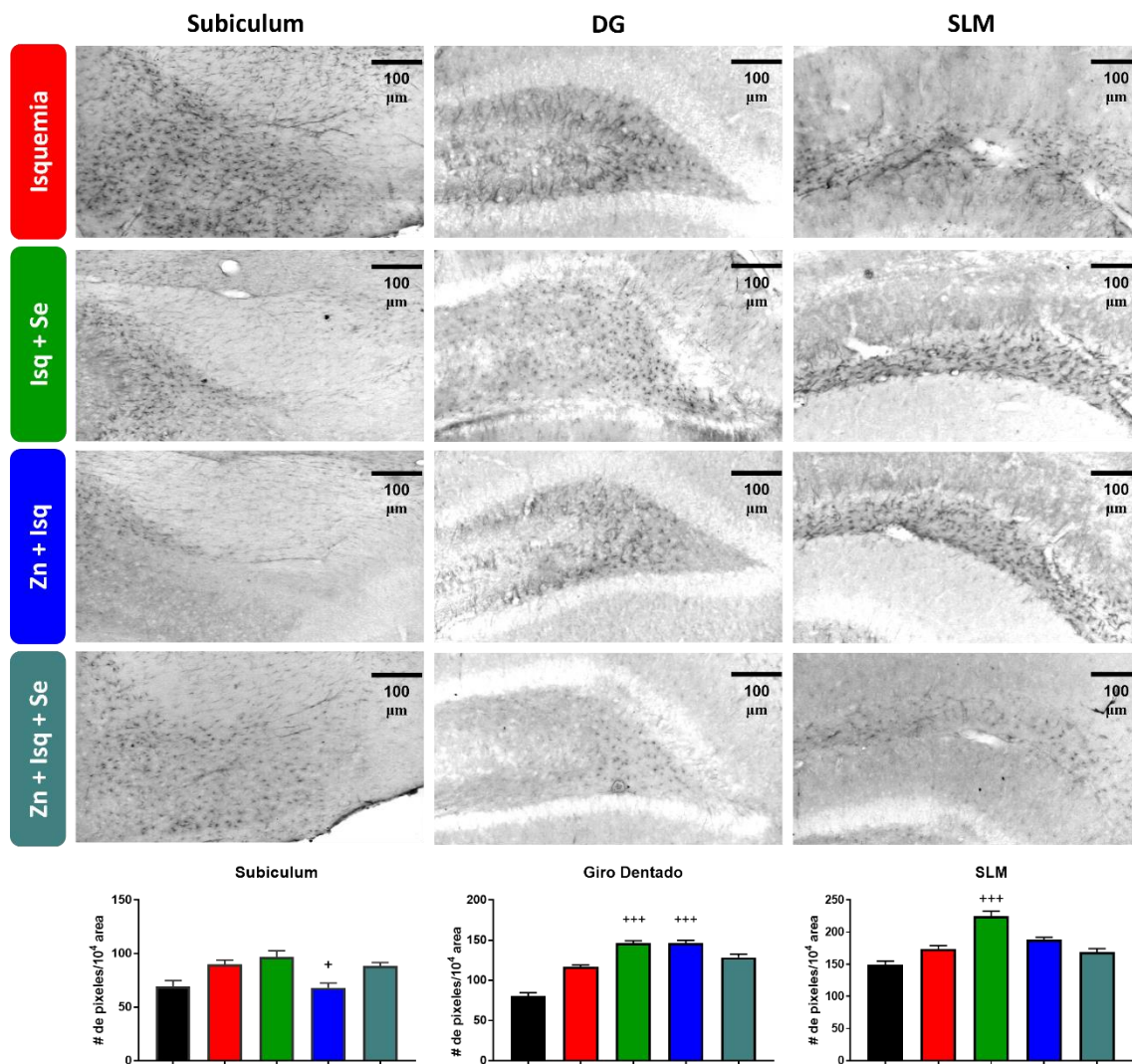


Fig. 10 La administración terapéutica de selenio causó un incremento en la inmunorreactividad para GFAP en el stratum lacunosum moleculare a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 40 μm , tomando un corte cada 300 μm del hemisferio ipsilateral completo. Los valores son la media \pm SEM, $n=3$. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs Isq. Las imágenes fueron adquiridas a 20X. La barra corresponde a 100 μm .

Al evaluar el efecto de nuestros tratamientos ante el daño isquémico en combinación ejercicio de nado sobre la inmunorreactividad a Iba-1 en el hipocampo, observamos que esta marca se encuentra en DG, CA3 y CA1 (Imagen 9). Al analizar las ampliaciones observamos que la OACP a los

12 días post reperusión no genera cambios en la inmunorreactividad contra Iba-1 en hipocampo (**Fig. 11 y 12**) cuando se compara respecto al grupo control sin tratamiento. Al comparar los grupos experimentales respecto al grupo isquémico, se observa que la sola administración terapéutica de selenio ante el daño isquémico incrementa la inmunorreactividad en GD ($77.01 \pm 1.42\%$, $P = 0.0001$), CA1 ($54.73 \pm 5.03\%$, $P = 0.0001$) y CA3 ($138.09 \pm 3.71\%$, $P = 0.0001$); la administración profiláctica subaguda de zinc incrementa la reactividad a Iba-1 en las tres regiones del hipocampo en GD ($25.64 \pm 4.19\%$, $P = 0.0003$), CA1 ($27.18 \pm 3.8\%$, $P = 0.0116$) y CA3 ($125.06 \pm 1.92\%$, $P = 0.0001$); por último, la administración combinada de ambos agentes, incrementa la reactividad en GD ($59.43 \pm 3.43\%$, $P = 0.0001$) y en CA3 ($123.5 \pm 4.45\%$, $P = 0.0001$).

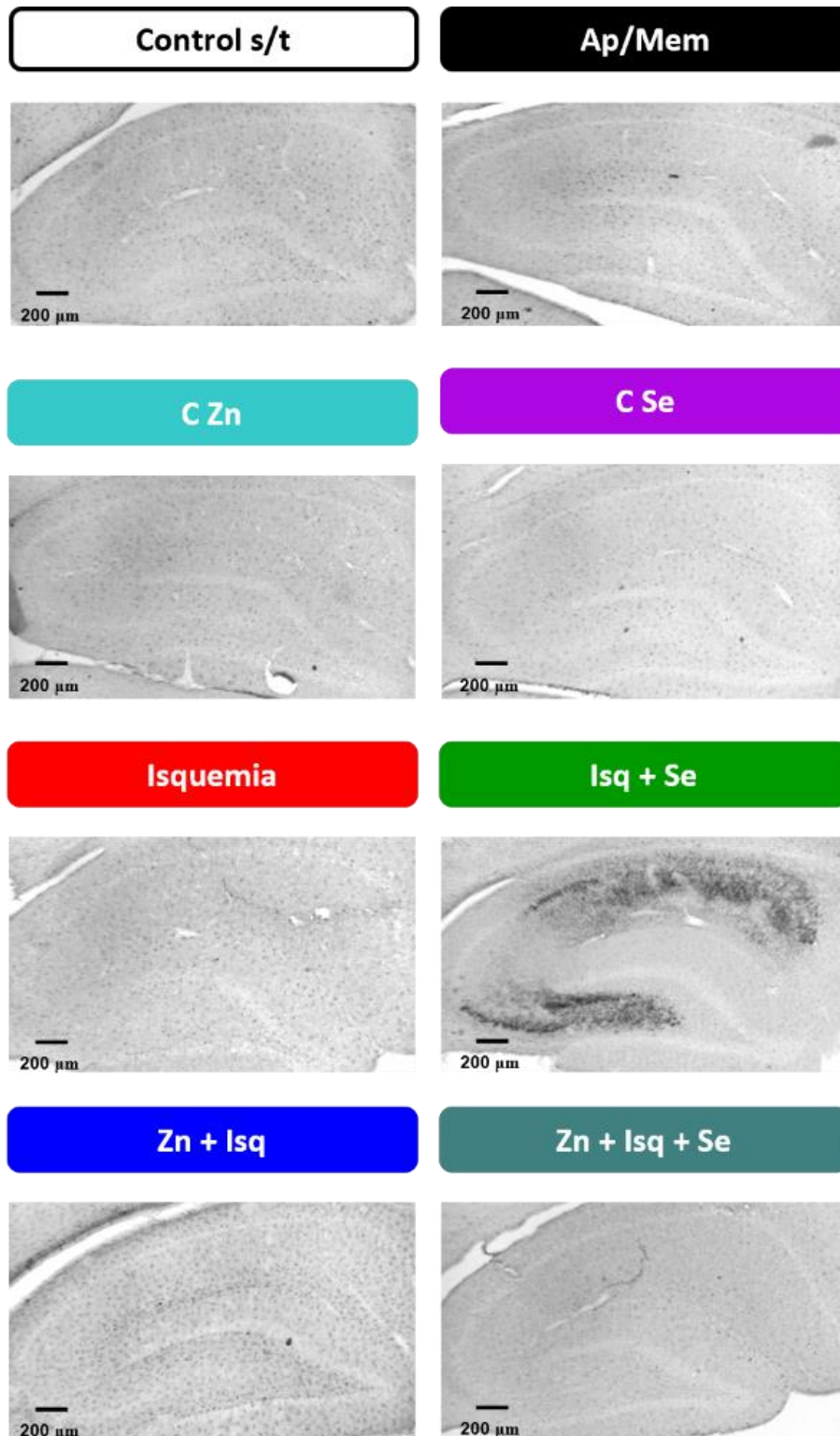


Imagen 9 Efecto de los tratamientos de zinc y selenio en la activación de la microglía en el hipocampo a los 12 d post reperfusión

Las imágenes fueron adquiridas a 20X. La barra corresponde a 200 μm .

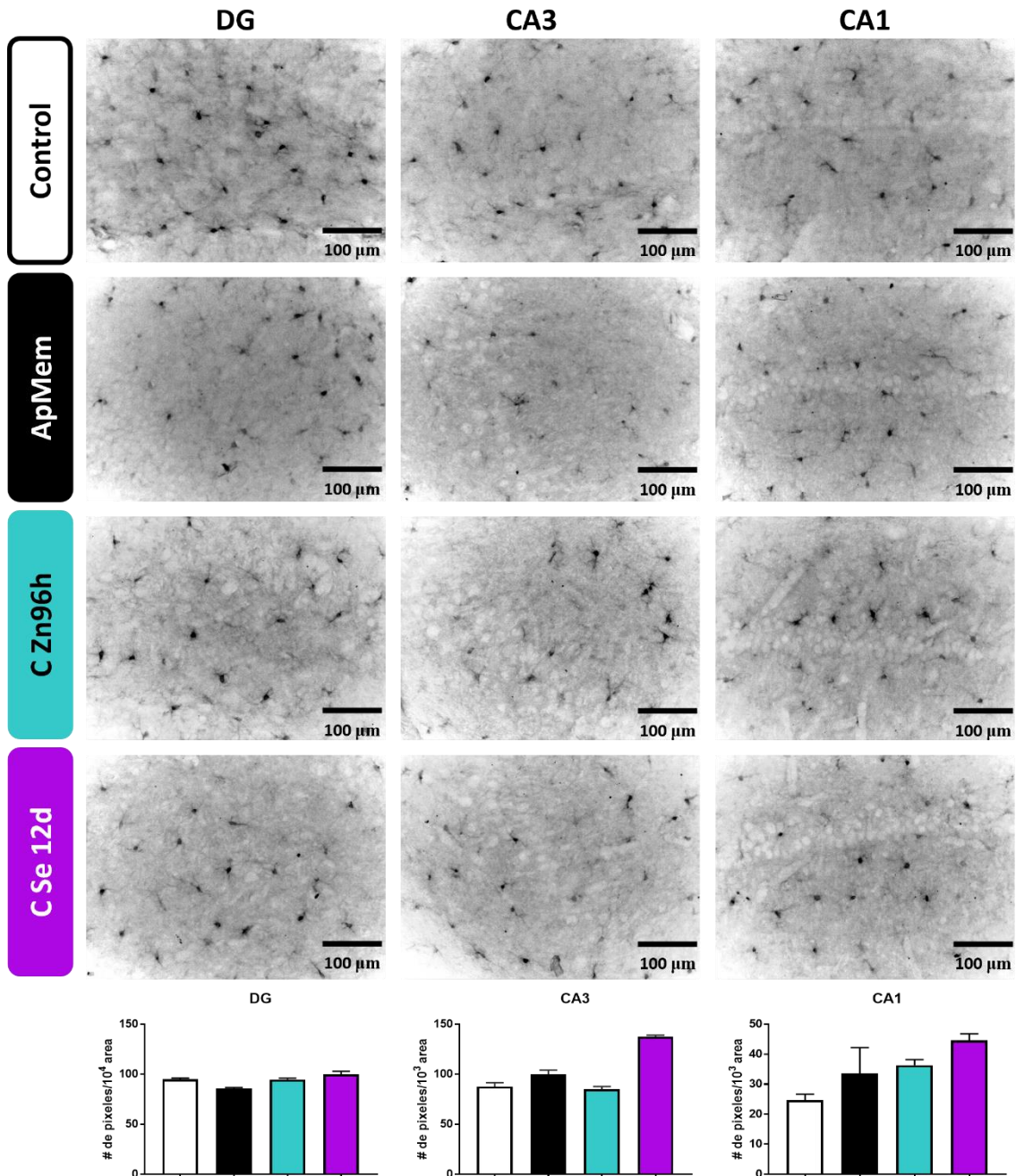


Fig. 11 Los tratamientos de selenio y/o zinc promueven la inmunorreactividad a Iba-1 en el hipocampo a los 12 días post reperfusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 40 μm , tomando un corte cada 300 μm del hemisferio ipsilateral completo. Las imágenes fueron adquiridas a 60X. La barra corresponde a 200 μm . Los valores son la media \pm SEM, $n=3$. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett. La barra corresponde a 100 μm .

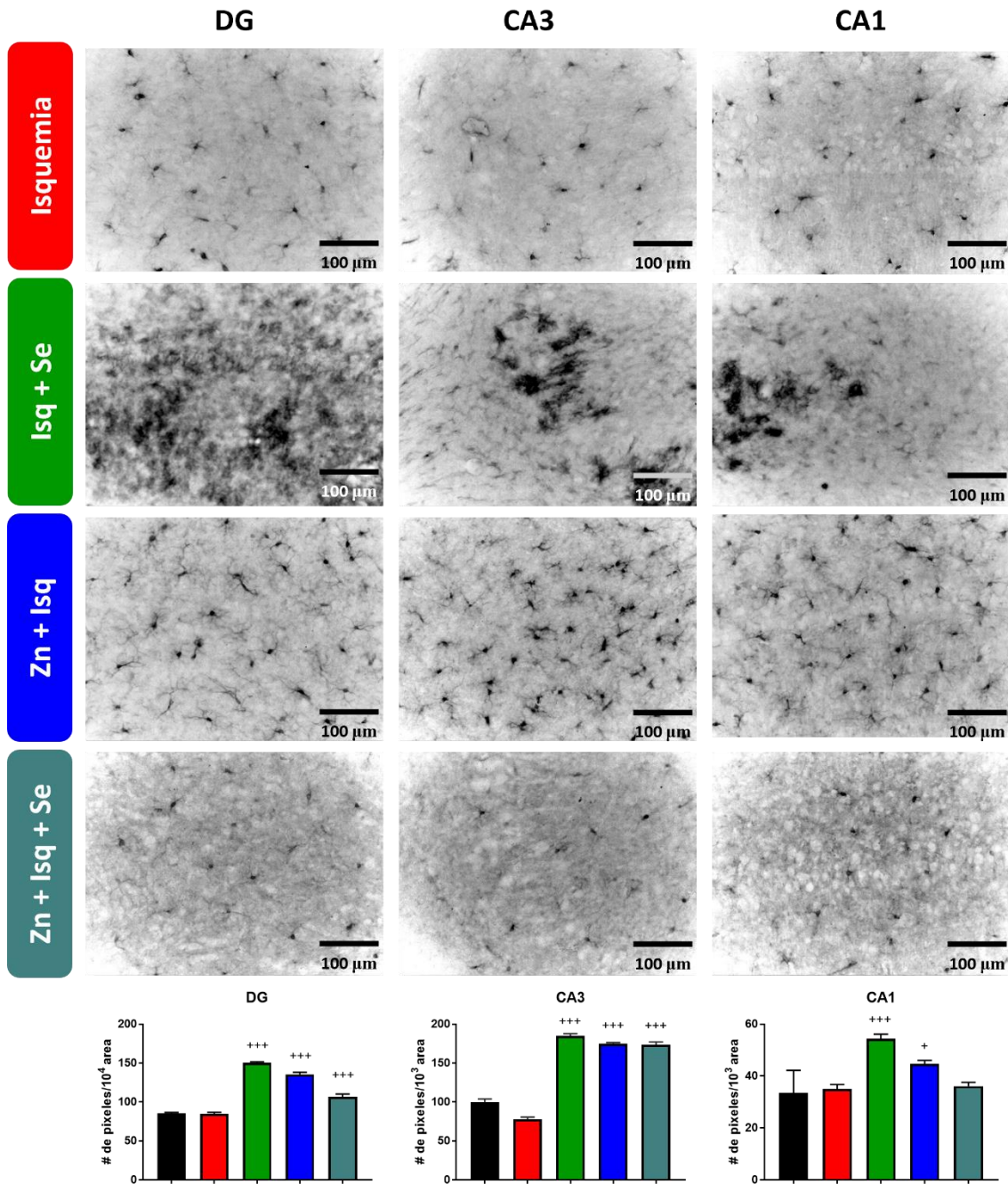


Fig. 12 Los tratamientos de selenio y/o zinc promueven la inmunorreactividad a Iba-1 en el hipocampo a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los cerebros de las ratas fueron fijados y cortados en criostato de forma sagital en rebanadas de 40 μm , tomando un corte cada 300 μm del hemisferio ipsilateral completo. Las imágenes fueron adquiridas a 60X. La barra corresponde a 200 μm . Los valores son la media \pm SEM, $n=3$. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 1 vía y posthoc Dunnett vs Isq. La barra corresponde a 100 μm .

Para conocer el efecto del proceso isquémico de 30 minutos por OACP a los 12 días post reperusión, sobre la neuroplasticidad en el hipocampo dorsal, realizamos un análisis morfológico empleando la técnica de Golgi-Cox; la cual nos permite evaluar la arborización dendrítica, un parámetro que nos indica la forma en la que se encuentra dispuesta la neurona en el espacio.

El aprendizaje y la memoria en el LAM no causó cambios en la morfología de las neuronas granulares del DG (**Fig. 13**), y de las piramidales de CA3 (**Fig. 14**) y CA1 (**Fig. 15**), en arborización, orden y longitud dendríticos. El análisis estadístico de la interacción por ANOVA de dos vías indica que se encontró diferencias estadísticamente significativas en el número de orden de arborización, y orden dendrítico en las tres regiones del hipocampo (**estadística descrita en la Tabla 4**), indicando que existe una de distribución similar de tipo Gaussiano.

Tabla 4 Análisis estadístico de los grupos C s/t y ApMem.

	Arborización			Orden dendrítico		
	Interacción	No. de orden	Tratamiento	Interacción	No. de orden	Tratamiento
DG	0.5308	<0.0001	0.7133	0.9815	<0.0001	0.7159
CA1	0.9994	<0.0001	0.7998	0.8879	<0.0001	0.4134
CA3	0.9995	<0.0001	0.8878	0.5880	<0.0001	0.8815

ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs C s/t.

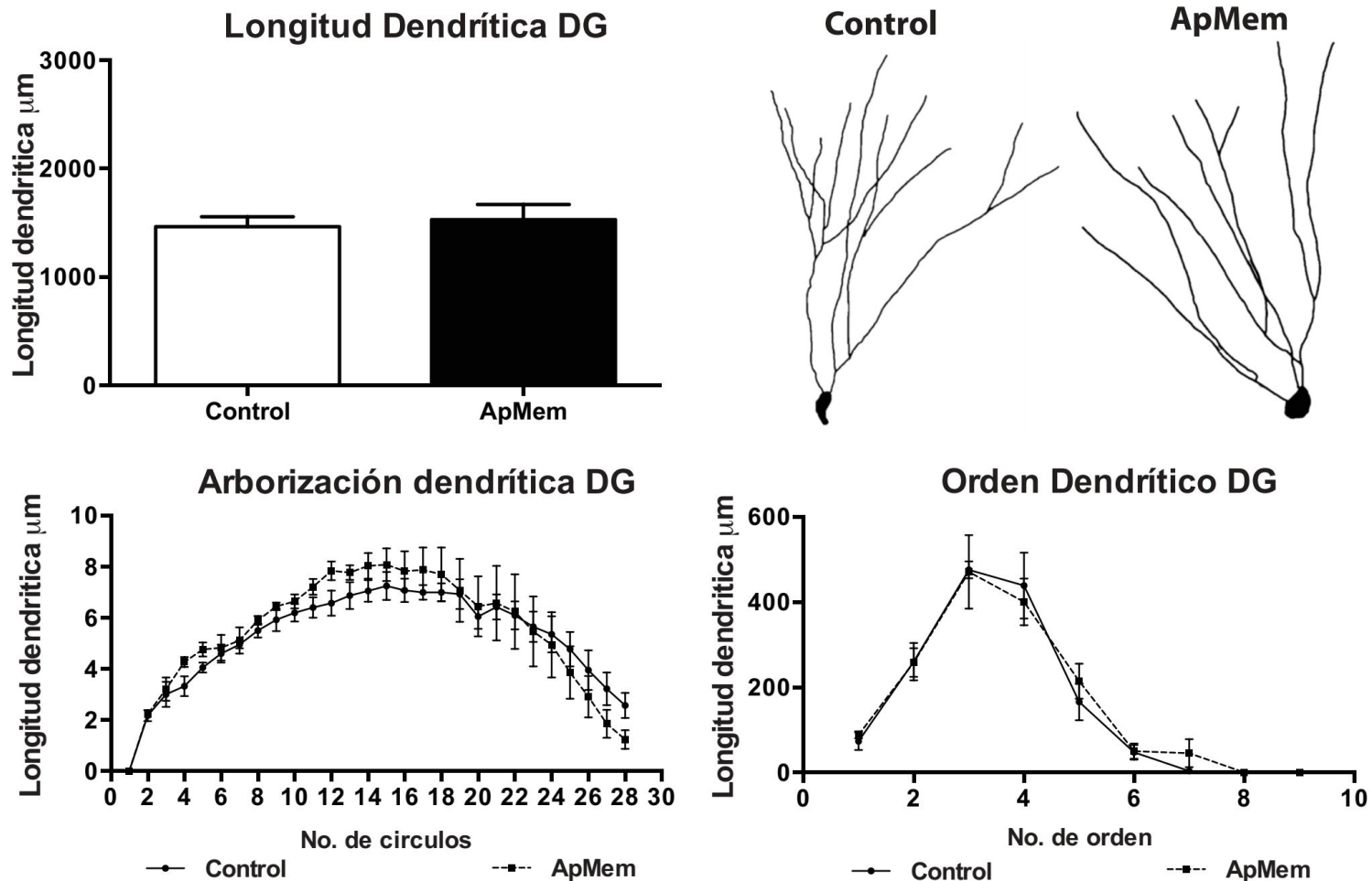


Fig. 13 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas granulares del Giro dentado del hipocampo.

Los valores son la media ± SEM, n=5. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs C s/t.

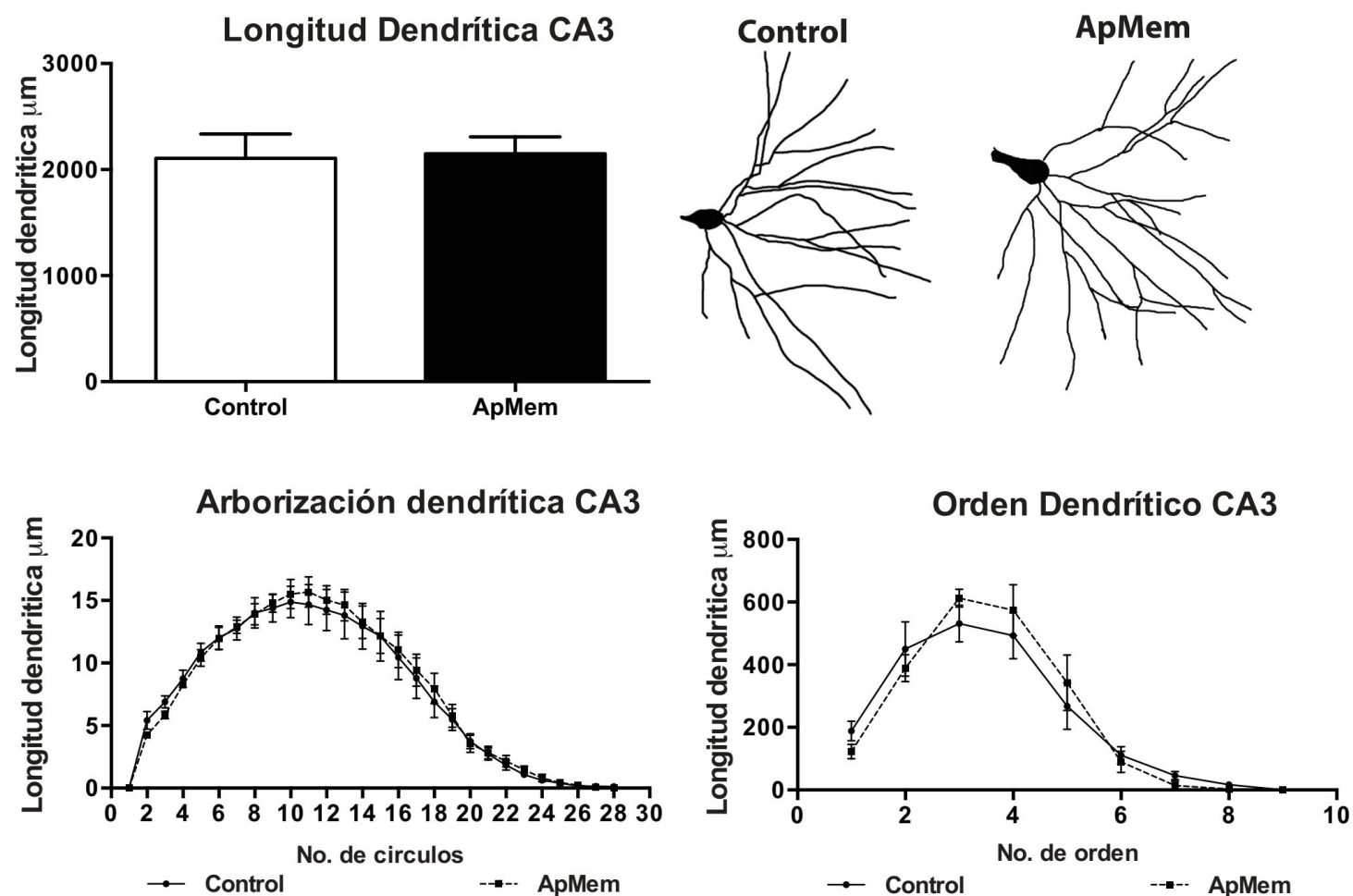


Fig. 14 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo.

Los valores son la media \pm SEM, $n=5$. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs C s/t.

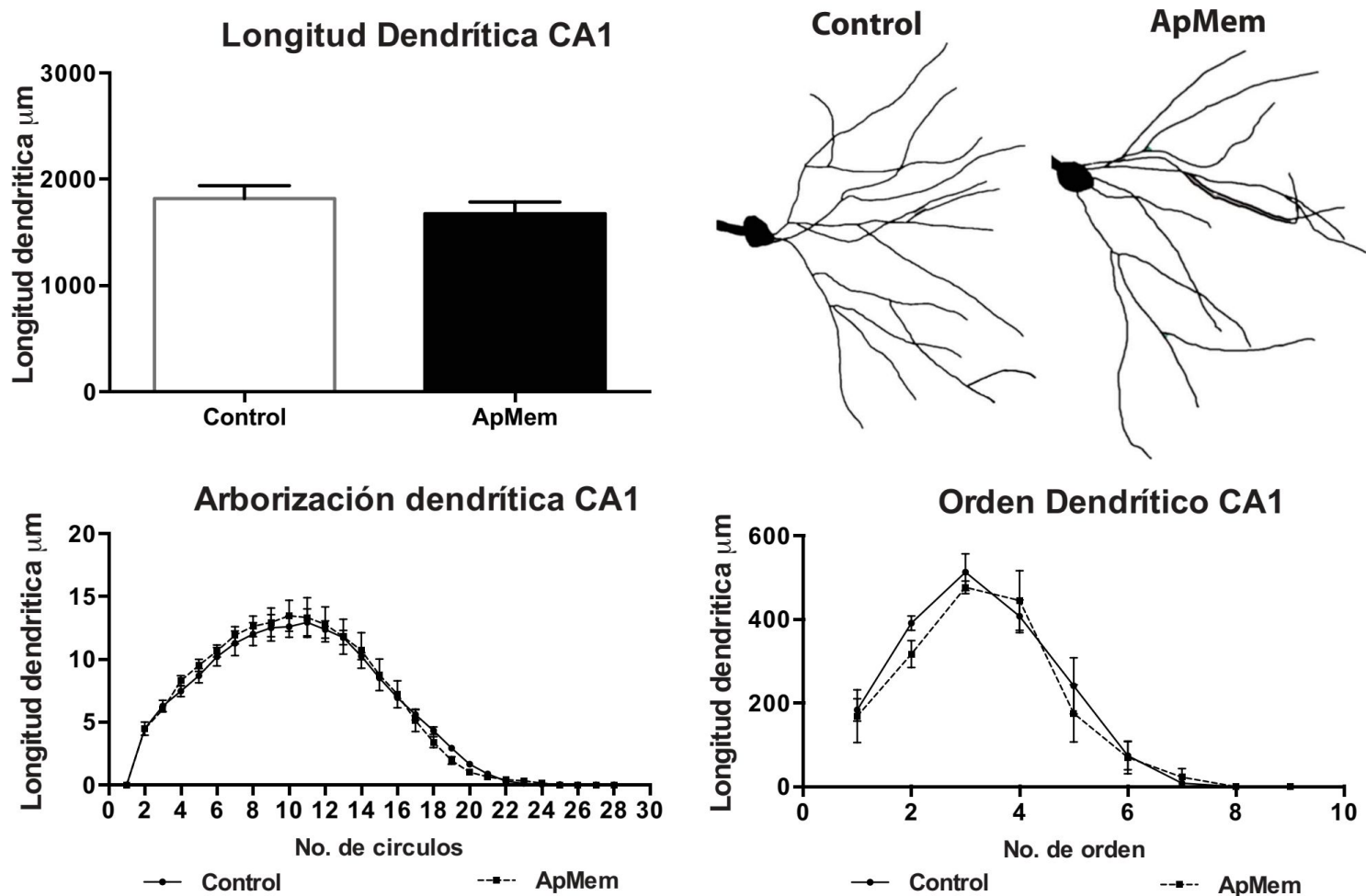


Fig. 15 Efecto del Aprendizaje y memoria en el Laberinto Acuático de Morris sobre la morfología de las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo.

Los valores son la media \pm SEM, $n=5$. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs C s/t.

Al evaluar la morfología de las neuronas granulares del giro dentado (**Fig. 16**) del hipocampo, observamos que el grupo que recibió la administración de selenio en ausencia de daño y el grupo con la OACP de 30 minutos no muestran cambios estadísticamente significativos en la arborización, el orden dendrítico, la longitud dendrítica total y en la densidad de espinas dendríticas; mientras que la administración subaguda de zinc modifica la arborización distal al incrementar a partir de las proyecciones 22 ($29.85 \pm 8.9\%$), 23 ($35.83 \pm 10.45\%$), 24 ($36.91 \pm 12.29\%$), 25 ($55.33 \pm 18.97\%$), 26 ($79.91 \pm 25.61\%$), 27 ($128.1 \pm 43.35\%$) y 28 ($165.05 \pm 68.06\%$) ($P = 0.0001$), cuando se compara respecto al grupo ApMem.

Al evaluar la morfología de las neuronas piramidales de la región CA3 (**Fig. 17**) del hipocampo, observamos que la administración subaguda de zinc, selenio y la OACP de 30 min no generan cambios en ninguno de los parámetros morfológicos evaluados, cuando se compara respecto al grupo control. ApMem a los 12 días post reperfusión. Observamos este mismo comportamiento en la morfología de las neuronas piramidales de la región CA1 (**Fig. 18**). del hipocampo.

El análisis estadístico de interacción, el número de orden y la correlación de nuestros tratamientos (ApMem, C Zn, C Se e Isquemia) en CA1 y CA3, muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los controles con tratamiento, manteniendo la morfología celular. En el DG mostró diferencias en la comparación entre los tratamientos en la arborización neuronal, ya que el tratamiento CZn96h incrementa la arborización distal en las neuronas del DG. Las curvas de distribución de la arborización y orden dendrítico mantienen el comportamiento Gaussiano en las tres regiones del hipocampo en todos los grupos. (**estadística descrita en la Tabla 5**).

Tabla 5 Análisis estadístico de los grupos ApMem, C Zn, C Se e Isquemia.

	Arborización			Orden dendrítico		
	Interacción	No. de orden	Tratamiento	Interacción	No. de orden	Tratamiento
DG	0.7074	<0.0001	<0.0001	0.7605	<0.0001	0.3646
CA1	>0.9999	<0.0001	0.6323	0.9450	<0.0001	0.7031
CA3	0.6283	<0.0001	0.1594	0.2882	<0.0001	0.1584

ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs ApMem.

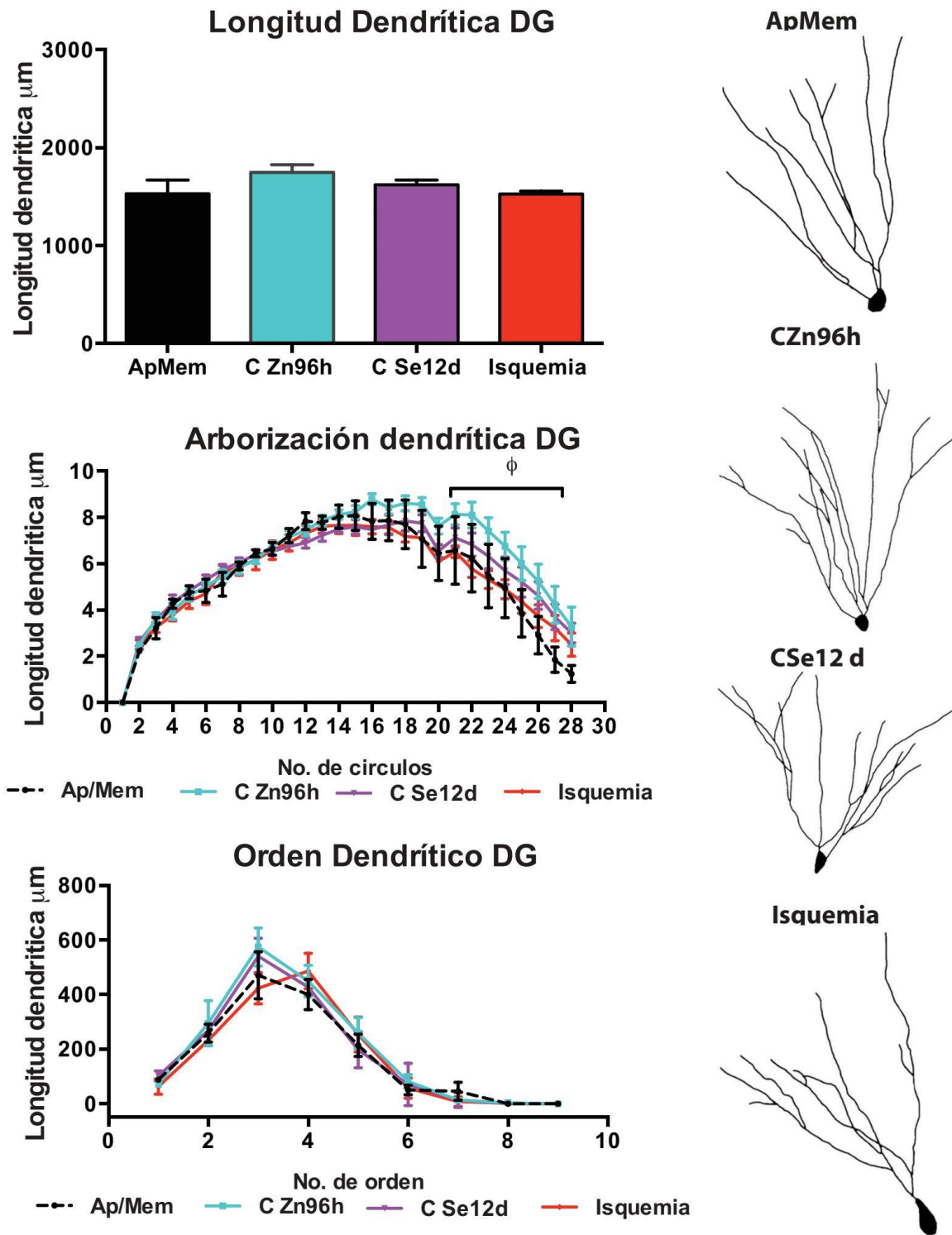


Fig. 16 La administración de zinc incrementa las proyecciones distales de las neuronas granulares del giro dentado a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media ± SEM, n=5. $\phi P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs ApMem.

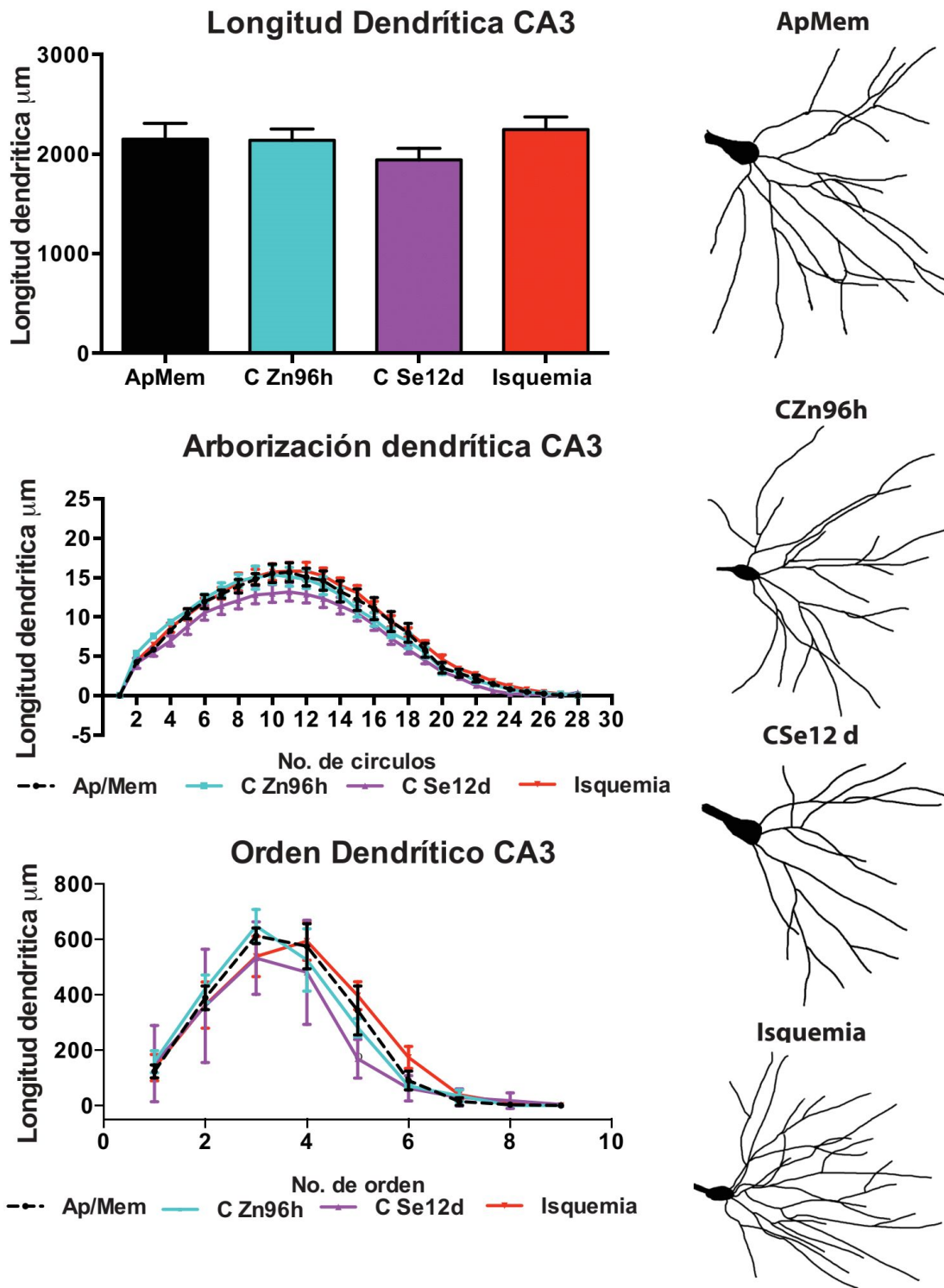


Fig. 17 La administración de zinc y selenio no modifica la morfología de las neuronas piramidales de CA3 a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media ± SEM, n=5. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías posthoc Tukey vs ApMem.

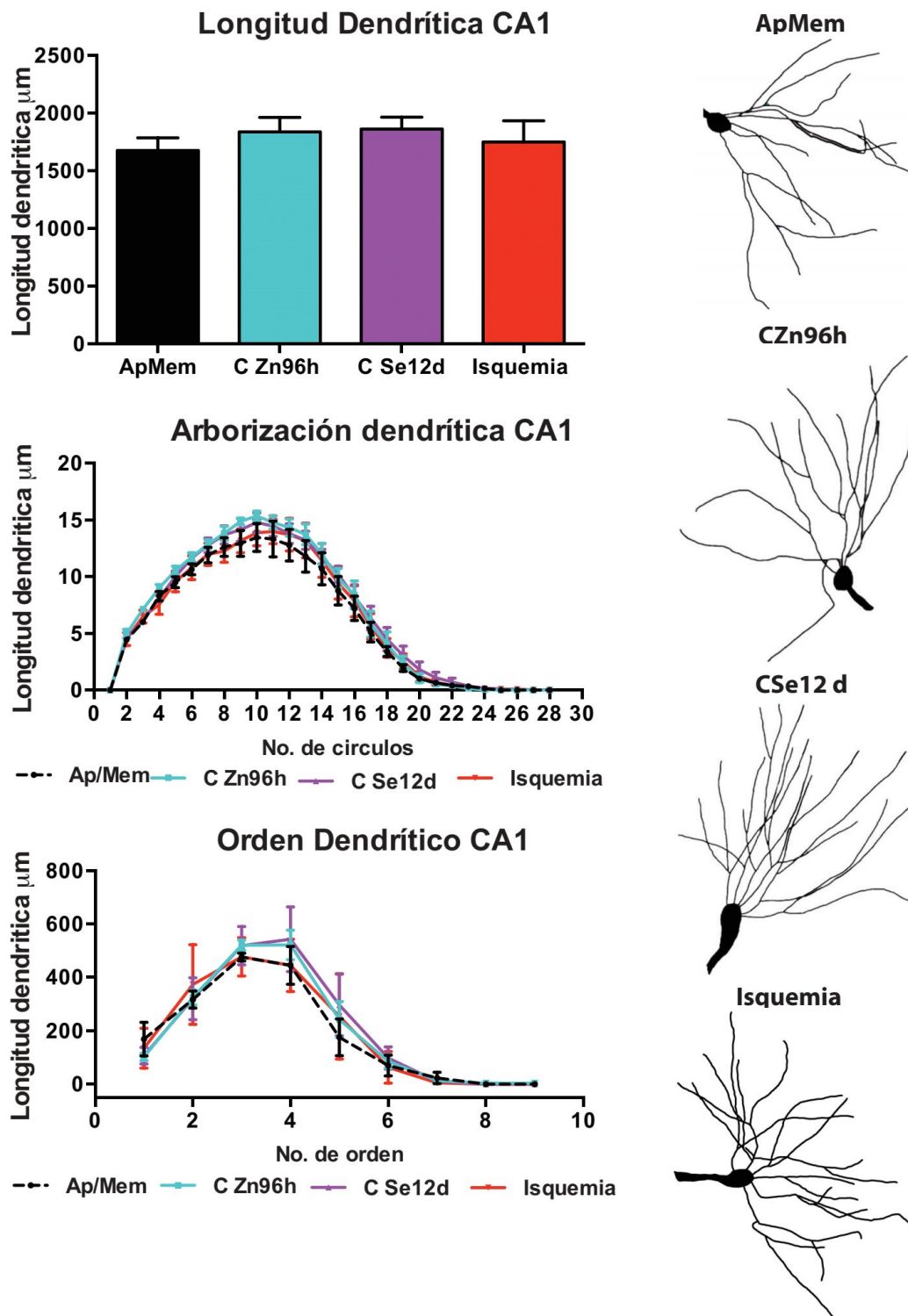


Fig. 18 La administración de zinc y selenio no modifica la morfología de las neuronas piramidales de CA1 a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media \pm SEM, $n=5$. $P \geq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías posthoc Tukey vs ApMem.

Al comparar el efecto de los tratamientos en presencia del daño isquémico, sobre la morfología de las neuronas granulares (**Fig. 19**), observamos que la sola administración de zinc ante el daño isquémico disminuye la arborización distal a partir de 26 ($41.91 \pm 18.76\%$), 27 ($56.77 \pm 16.72\%$) y 28 ($61.72 \pm 18.41\%$), además de disminuir las dendritas de quinto orden cuando se compara respecto al grupo que recibió la OACP en un $35.78 \pm 11.93\%$.

Este efecto se ve revertido con la administración combinada de zinc profiláctico y selenio terapéutico, la cual incrementa la arborización dendrítica distal desde 22 ($30.19 \pm 10.04\%$; $35.14 \pm 10.43\%$), 23 ($33.45 \pm 11.56\%$; $50.21 \pm 13.01\%$), 24 ($37.75 \pm 12.05\%$; $76.25 \pm 15.42\%$), 25 ($39.33 \pm 12.57\%$; $104.92 \pm 18.49\%$), 26 ($43.71 \pm 19.07\%$; $147.43 \pm 32.84\%$), 27 ($49.06 \pm 16.38\%$; $244.88 \pm 37.90\%$) y 28 ($60 \pm 21.04\%$; $317.97 \pm 54.96\%$) ($P = 0.0001$), cuando se compara respecto al grupo Isquemia y Zn + Isq, respectivamente. Además de incrementar el orden dendrítico de orden 4 en un $36.81 \pm 19.55\%$ y 5 en un $101.25 \pm 24.8\%$ ($P = 0.0001$); e incrementar la longitud dendrítica total en un $20.52 \pm 5.07\%$ ($P = 0.088$), esto respecto al grupo Zn + Isq, sin observar cambios en la densidad de espinas dendríticas en las neuronas del giro dentado del hipocampo.

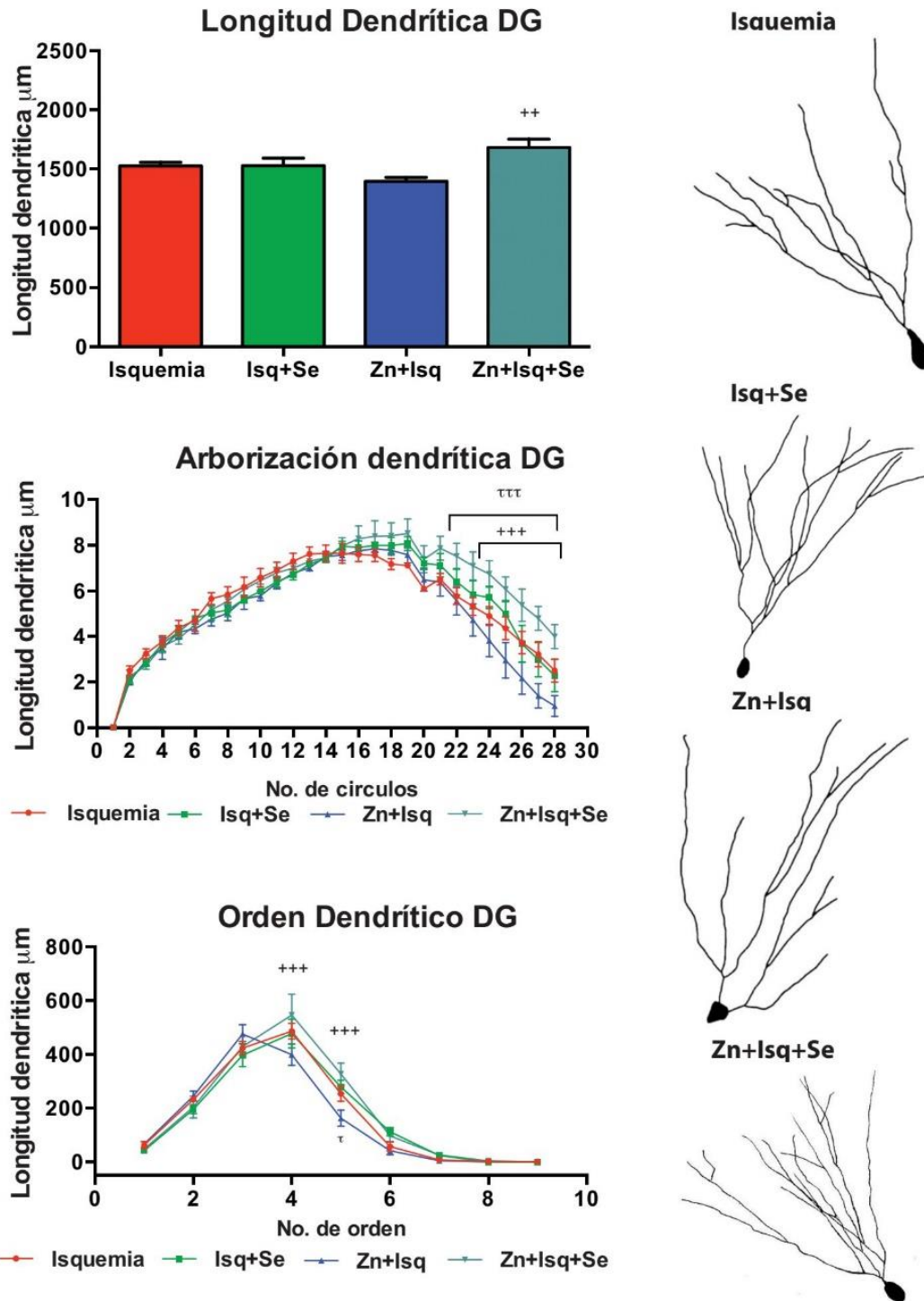


Fig. 19 La administración combinada de zinc y selenio incrementa las dendritas excitatorias de las neuronas granulares del giro dentado a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media ± SEM, n=5. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías posthoc Tukey vs Isq. τ $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs Zn + Isq.

Al comparar el efecto de los tratamientos sobre la arborización de las neuronas piramidales de CA3 (**Fig. 20**), observamos que la administración profiláctica de zinc combinada con la terapéutica de selenio disminuye la arborización medial 15 ($20.43 \pm 5.82\%$), 17 ($31.17 \pm 7.06\%$; $37.84 \pm 6.38\%$), 18 ($41.54 \pm 8.11\%$; $47.72 \pm 7.25\%$), 19 ($46.67 \pm 8.45\%$; $56.1 \pm 6.96\%$) y 21 ($72.4 \pm 7.02\%$) ($P = 0.0001$), cuando se compara respecto al grupo isquémico e Isq + Se, respectivamente.

Al analizar el efecto de los tratamientos en el orden dendrítico, observamos que la administración individual de selenio ante el daño isquémico, incrementa la longitud dendrítica de tercer orden en un $23.83 \pm 10.93\%$, mientras que la administración profiláctica de zinc disminuye el orden dendrítico medial en 5 ($61.9 \pm 26.7\%$) y 6 (82.9 ± 17.12) al comparar respecto al grupo con la OACP; por último, la administración combinada de zinc y selenio disminuye la longitud dendrítica de cuarto orden ($22.45 \pm 5.6\%$) cuando se compara respecto al grupo Isq + Se y las de quinto orden incrementan ($99.05 \pm 24.1\%$), respecto al grupo Zn + Isq. Por último, no se observan cambios estadísticamente significativos en ningún grupo experimental en la longitud dendrítica total y en la densidad de espinas dendríticas.

En el análisis morfológico de las neuronas piramidales de CA1 (**Fig. 21**), hay cambios en la arborización dendrítica en el grupo que tiene la administración profiláctica de zinc, al ser comparado respecto al grupo OACP, disminuyendo la longitud de la arborización medial 10 ($39.1 \pm 0.1\%$) y 12 ($41.1 \pm 0.14\%$); la administración combinada de zinc y selenio ante el daño isquémico incrementa la arborización medial 15 en un $33.7 \pm 3.3\%$, esto respecto al grupo que recibió la OACP de 30 min.

Finalmente, en el grupo Zn + Isq + Se hay un incremento de la longitud en las dendritas 5 ($75.2 \pm 8.0\%$), 6 ($82.06 \pm 3.0\%$), 7 ($61.6 \pm 7.7\%$), 8 ($77.1 \pm 6.06\%$), 9 ($78.5 \pm 4.4\%$), 10 ($89.2 \pm 9.08\%$), 11 ($84.35 \pm 8.07\%$), 12 ($98.8 \pm 7.7\%$), 13 ($95.5 \pm 8.4\%$), 14 ($68.6 \pm 11.2\%$) y 15 ($70.5 \pm 4.2\%$) al comparar respecto al grupo Zn + Isq. Sin encontrar cambios estadísticamente significativos en el orden dendrítico, la longitud dendrítica total y en la densidad de espinas dendríticas a los 12 días posteriores al daño isquémico.

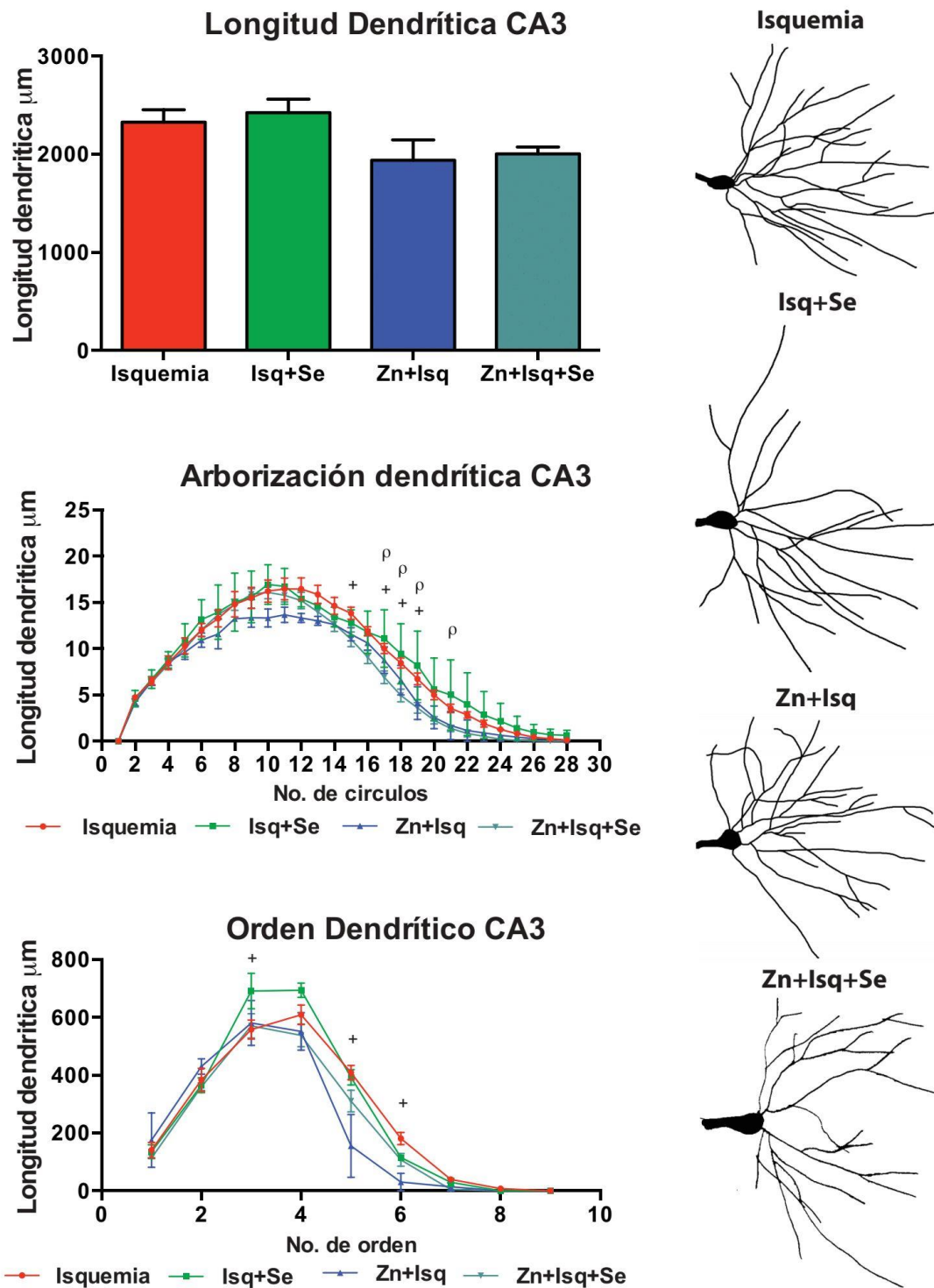


Fig. 20 La administración combinada de zinc y selenio disminuye el orden dendrítico de las neuronas piramidales de CA3 a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media ± SEM, n=5. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs Isq. ρ $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs Zn + Isq.

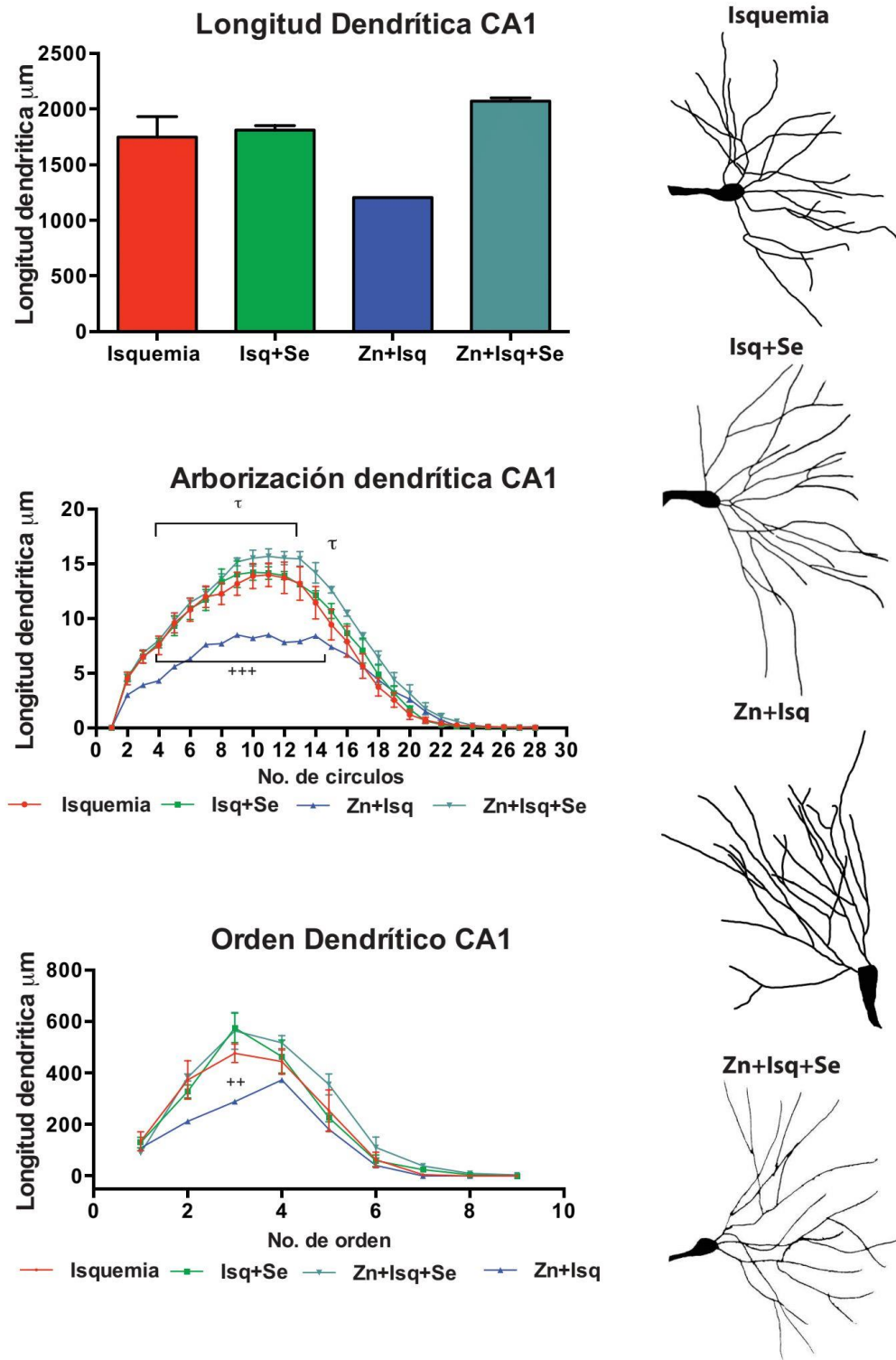


Fig. 21 La administración profiláctica de zinc o terapéutica de selenio no modifica el orden dendrítico de las neuronas piramidales de CA1 a los 12 días post reperusión de la OACP.

Los valores son la media ± SEM, n=5. + $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías posthoc Tukey vs Isq. τ $P \leq 0.05$, analizado con ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs Zn + Isq.

Todos los tratamientos modificaron los parámetros dendríticos ante la OACP. El análisis estadístico de la interacción, el número de orden y la correlación con nuestros tratamientos (Isq, Isq + Se, Zn + Isq y Zn + Isq + Se). En DG muestra diferencias entre los tratamientos y el orden dendrítico, en todos los tratamientos (profiláctico de zinc, terapéutico de selenio o la combinación de ambos metales), causando cambios morfológicos en las neuronas granulares. En las neuronas piramidales de la región CA1, solo mantiene diferencia entre los tratamientos en la arborización, causando cambios morfológicos en toda la neurona, pero no en el orden dendrítico, mientras que CA3 hay diferencias en el orden dendrítico, indicando cambios en el estado activo de la neurona (**estadística descrita en la Tabla 6**).

Tabla 6 Análisis estadístico de los grupos Isquemia, Isq + Se, Zn + Isq y Zn + Isq + Se.

	Arborización			Orden dendrítico		
	Interacción	No. de orden	Tratamiento	Interacción	No. de orden	Tratamiento
DG	<0.0001	<0.0001	0.0221	0.0279	<0.0001	0.0153
CA1	<0.0001	<0.0001	0.0872	0.6658	<0.0001	0.0866
CA3	0.4766	<0.0001	0.0628	0.0050	<0.0001	0.0661

ANOVA de 2 vías y posthoc Tukey vs Isquemia.

8. Discusión

La OACP de 30 min incrementó la lipoperoxidación en la corteza temporoparietal en la etapa temprana de la hipoxia-isquemia, manteniendo la actividad antioxidante de SOD y CAT, en un ambiente no oxidante por la disminución de los niveles de GSSG a las 3 y 24 h post reperfusión, lo que nos sugiere que no hay cambios en las enzimas antioxidantes ante el daño isquémico a estas horas post reperfusión. Mientras que la administración profiláctica subaguda de zinc sola o en combinación con selenio incrementa la actividad de SOD y los niveles de GSH en la corteza temporoparietal, indicando un incremento del sistema antioxidante.

Sin embargo, a pesar de haber un sistema antioxidante este no es capaz de prevenir el daño por estrés oxidativo, debido a que, la OACP de 30 min incrementó la lipoperoxidación en la fase temprana (3 h), acompañado de un decremento en los niveles de NO_2 en la corteza temporoparietal. La administración profiláctica subaguda de zinc no fue capaz de prevenir la producción de lipoperoxidación. Mientras, que la administración profiláctica de zinc combinada con la administración terapéutica de selenio previene el estrés nitrosativo a las 3, 24 y 168 h post reperfusión en la corteza temporoparietal ipsilateral al daño, lo que nos sugiere que la administración combinada de zinc y selenio tiene el efecto antioxidante en la fase aguda ante la OACP de 30 min.

La OACP de 30 min causó la disminución de NO a las 3 horas post reperfusión, la presencia del NO tras el proceso isquémico podría participar en la vasodilatación para restablecer el flujo sanguíneo que ha sido interrumpido, pero ante el ambiente oxidante también podría participar en el proceso de lipoperoxidación (Jin and Loscalzo, 2010), tratando de compensar la pérdida de flujo sanguíneo ocasionado por la OACP en la región afectada. Mientras que en hipocampo no se observan cambios significativos en la fase temprana. Sin embargo, en la fase tardía (168 h), encontramos incremento en las concentraciones de NO_2 , este NO en la corteza y en el hipocampo, podría estar participando en el proceso

de angiogénesis, y en la reparación del tejido dañado (**Forstermann and Sessa, 2012**).

Además, observamos que la sola administración de zinc ante el daño isquémico (Zn + Isq) no ejerce un efecto protector, esto puede ser debido a que un proceso isquémico severo causa una despolarización masiva de las neuronas glutamatérgicas y con ello un incremento en la concentración de zinc en el espacio sináptico (**Koh et al., 1996, Medvedeva et al., 2017**), en el citoplasma a través de los NMDAr, AMPAr (**Inoue et al., 2015**), de canales de calcio y transportadores de zinc Zip (1 o 3) (**Hancock et al., 2014**), favoreciendo la producción de especies reactivas por la privación de oxígeno y glucosa, lo que induce la muerte neuronal excitotóxica (**Wang et al., 2015**).

Por otra parte, la administración de zinc y selenio en ausencia de daño isquémico disminuyen la actividad de SOD en la corteza temporoparietal a las 3 h post tratamiento, efecto que se ve relacionado con la disminución de la lipoperoxidación, esto explicaría la disminución en la actividad enzimática de SOD en la corteza, donde la administración subaguda de zinc previene el incremento de la lipoperoxidación (**Blanco-Alvarez et al., 2013**). La regulación transcripcional de SOD es dependiente de zinc; a través de la proteína SP-1, la cual se une directamente al DNA en motivos ricos en GC, que se encuentran presentes en el promotor de las tres isoformas de *Sod* (**Xu et al., 2002**) y AP-1/AP-2, los cuales al unirse directamente al DNA regulan negativamente la expresión de la SOD-Cu/Zn y la SOD-Mn (**Zhu et al., 2001, Baldelli et al., 2008**). Además, Egr-1 interactúa con SP-1 y HDAC1 en la región del promotor proximal de *Sod2*, impidiendo la acetilación de los residuos de histona disminuyendo la expresión de la SOD-Mn (**Maehara et al., 2002**). El incremento del estrés oxidativo conduce a la nitración de residuos de tirosina en la SOD (**Crow et al., 1997**), provocando cambios bioquímicos estructurales en el sitio de unión del zinc en la SOD (**Roberts et al., 2007, Miao and St Clair, 2009**), y la estabilidad de SOD.

Nuestros resultados muestran que la OACP de 30 min en la fase temprana no causa diferencias en la actividad enzimática de la CAT en la corteza temporoparietal e hipocampo en el curso temporal evaluado. Lafemina et al, demostraron que el modelo de hipoxia isquemia, no favorece la acumulación de H₂O₂ y no modifica la actividad de CAT en las primeras 24 h post reperusión (Lafemina et al., 2006). A diferencia de otros trabajos, en los que se ha demostrado que la isquemia bilateral y menor tiempo *in vivo* (Islekel et al., 1999) e *in vitro* (Armogida et al., 2011), causa un incremento de CAT, el cual es necesario para atenuar el daño oxidativo en la fase temprana post isquémica.

La administración de zinc y selenio en ausencia o presencia del daño por OACP de 30 min en la fase aguda, no ejercen efecto significativo sobre la actividad de la CAT en los tiempos de estudio propuestos, en condiciones de baja ingesta proteica, la suplementación de zinc y selenio previene el decremento en la actividad enzimática (Adebayo et al., 2016). El zinc puede estar regulando la actividad de CAT por un posible mecanismo postranscripcional, mediado por el decremento en la fosforilación de ERK 1/2 (Patrushev et al., 2012), así como se encontró con la administración de moléculas con propiedades antioxidantes (*M. oleífera* y Vitamina C) no modifica la actividad de CAT en la corteza, hipocampo y el estriado (Kirisattayakul et al., 2013).

Todos los tratamientos propuestos a evaluar disminuyeron los niveles de GSSG y GSH en la corteza temporoparietal e hipocampo en la fase temprana. Ante el daño oxidativo, la concentración de tioles es un factor importante para bloquear la formación de ROS de origen mitocondrial (Adebayo et al., 2016), se ha demostrado que el desbalance o la total depleción de GSH está involucrada en diversos desordenes neurológicos (Frye and James, 2014), como el autismo, síndrome en el cual se hipotetiza que el déficit de GSH y GSSG, acompañado de un incremento del índice GSH/GSSG, inducen fallo mitocondrial y un incremento en la formación de ROS (Frye et al., 2013).

La administración profiláctica de zinc sola o combinada con la terapéutica de selenio incrementa el ambiente reductor a través de los niveles de GSH disminuyendo el estado oxidativo y disminuyendo los niveles de GSSG a las 24 h post reperusión en la corteza temporoparietal. En condiciones fisiológicas, altas concentraciones de zinc inducen la depleción intracelular de GSH, induciendo muerte neuronal (**Chen and Liao, 2003**). Un mecanismo por el cual, el zinc puede estar regulando los niveles de GSH, es a través de la regulación transcripcional de las enzimas involucradas en su síntesis. De forma indirecta en células endoteliales, se ha observado que el NO actúa como antioxidante ante el H₂O₂, induciendo la expresión de la subunidad catalítica de la glutamato cisteína ligasa (GCLC), la cual requiere de zinc y Nrf2 (**Cortese-Krott et al., 2009**). El mecanismo molecular de regulación es a través de elementos consenso NF-κB, Sp-1, AP-1, AP-2, MRE y ARE en el promotor, se encontró que AP-1 es necesario para la transcripción de GCLG en situaciones de estrés oxidativo (**Rahman et al., 1998, Lu, 2013**).

Al evaluar las habilidades cognitivas en el LAM a los 12 días post reperusión, observamos que la administración de zinc en ausencia de daño no modifica el aprendizaje y la memoria espacial a largo plazo. Sin embargo, se ha demostrado que el zinc se almacena en altas concentraciones en el hipocampo y juega un papel importante en la modulación del aprendizaje y memoria espacial. El efecto de zinc depende de la dosis, el tiempo y la vía de administración, Piechal et al., reportan que la suplementación de Sulfato de Zinc (ZnSO₄) a concentraciones de 16 y 32 ppm no modifica la fase de adquisición de información, sin embargo, encontraron un incremento en el número de cruces, así como el tiempo que gastan los animales en el cuadrante donde se encontraba la plataforma en el día de la memoria, mientras que en el laberinto elevado en T hubo un comportamiento cruzado con la suplementación de zinc (**Piechal et al., 2012, 2016**). Mientras que Yang en 2013 reporta que la suplementación crónica oral de zinc a altas concentraciones (60 ppm), genera déficit cognitivo en la memoria en el laberinto elevado en T y en pruebas de discriminación (**Yang et al., 2013**).

En modelos de daño, la suplementación de zinc en altas concentraciones (180 ppm) previno el déficit cognitivo en el LAM inducido por TBI, efecto que no se observa a dosis óptimas (30 ppm) o deficientes de zinc (5 ppm) (Cope et al., 2011). En condiciones inflamatorias, la administración de nanopartículas de ZnO, no previene el déficit cognitivo, mientras que, en ausencia de daño no hay cambios en el proceso cognitivo, sin embargo, el ZnO modifica la LTP en el giro dentado del hipocampo (Xie et al., 2012). En modelos de isquemia cerebral de 10 min, la administración profiláctica de ZnCl₂ revierte el déficit cognitivo en el LAM, cuando este es administrado de forma subaguda (Blanco-Alvarez et al., 2015) o crónica (Tomas-Sanchez et al., 2018), este efecto protector puede estar dado por el incremento en la expresión de quimiocinas, factores de crecimiento y la actividad de enzimas antioxidantes como SOD y GPx4 (Blanco-Alvarez et al., 2015, Tomas-Sanchez et al., 2018).

La administración de selenio en animales controles incrementa el tiempo de llegada a la plataforma de escape en la fase de aprendizaje y memoria, ante el daño isquémico estos incrementos se revierten de forma parcial, generándose una mejora respecto al grupo isquémico, lo que nos sugiere que hay una mejora en la recuperación de la información en el LAM. Se ha demostrado que la suplementación crónica de selenio no revierte el déficit cognitivo causado por la intoxicación crónica de plomo, sin embargo, tiene un efecto benéfico cuando el tiempo de exposición al Pb es menos prolongado (Han et al., 2014b). En un modelo de Alzheimer inducido con Estreptozotocina (SZT), la administración profiláctica de selenio revirtió el déficit cognitivo generado con el modelo de daño, esto a través del incremento del sistema antioxidante GPx4 en hipocampo y corteza cerebral (Ishrat et al., 2009).

En estudios previos observamos que el estímulo del aprendizaje y memoria incrementa los niveles de lipoperoxidación en la corteza temporoparietal en todos los grupos experimentales. Este incremento puede ser debido al incremento en la formación de ROS, principalmente el anión superóxido el cual se encuentra involucrado en la activación de la LTP a través de la PKC; además es necesario

para la activación y el mantenimiento de vías de señalización involucradas con la adquisición y consolidación de la información (**Massaad and Klann, 2011**), lo cual nos ayudaría a explicar el incremento de MDA & 4-HDA en los grupos control.

Al cuantificar la actividad de los sistemas antioxidantes SOD y catalasa en corteza e hipocampo a los 12 días post reperusión ante el estímulo del aprendizaje y la memoria en el LAM, observamos que no hay cambios estadísticamente significativos, esto puede ser debido a que el pico máximo de actividad antioxidante se encuentra a las 24 h posteriores al daño isquémico transitorio (**Yoon et al., 2006**). Por otro lado, en modelos de daño crónico en ratas jóvenes y adultas, no se encuentran cambios en la actividad de la catalasa (**Rhoads et al., 2012**). Mientras que, el consumo de bebidas energizantes en altas y bajas dosis combinado con alcohol, incrementa los niveles de MDA en el sistema nervioso central adulto, sin modificar la actividad de la catalasa, sin embargo, incrementa la actividad de la SOD y la GPx (**Reis et al., 2017**), mostrando una especificidad en la actividad antioxidante dependiente del daño o dosis.

En estudios previos observamos que el modelo de OACP de 30 min genera núcleos de infarto en la corteza, el hipocampo y los núcleos subcorticales a las 24 h post reperusión, con lo que corroboramos que nuestro modelo genera daño tisular. Se ha reportado que hay un incremento en la muerte neuronal por necrosis en el núcleo de infarto y por apoptosis en la zona peri-infarto en las primeras horas posteriores al daño y hasta varios días posteriores al daño isquémico cerebral, (**Broughton et al., 2009**), el tipo de muerte celular que predomine depende del grado y el tipo de daño isquémico, se ha observado que ante un daño moderado, la apoptosis disminuye con el tiempo, mientras que ante un daño severo la apoptosis se mantiene hasta los 7 días post reperusión (**Liu et al., 2015b**). Al evaluar la citoarquitectura en la corteza cerebral, observamos que la OACP de 30 min con nado en LAM no produce muerte celular a los 12 días post reperusión, lo que nos sugiere que en este punto de estudio, el tejido dañado por la isquemia sufrió un proceso de recuperación espontánea, como lo reportó Li et al., el cual

observa que hay una disminución en el tamaño del núcleo de infarto a partir del décimo día posterior al daño isquémico, acompañado de un incremento en la proliferación en las capas II y III de la corteza (Li et al., 2014). Sin embargo, si encontramos daño estructural en la región CA3 del hipocampo, lo cual puede estar relacionado con la afección en la memoria en el LAM, esta región se ha reportado ser la más susceptible al daño isquémico, debido a la presencia de neuronas zincérgicas (Schmidt-Kastner and Hossmann, 1988, Yin et al., 2002).

En el grupo que recibió la administración profiláctica subaguda de zinc, observamos que se revierte el daño causado por la OACP de 30 min en la región CA3, incrementando la densidad óptica en la capa celular. En estudios previos demostramos que la administración profiláctica subaguda (Blanco-Alvarez et al., 2013) y crónica de zinc (Tomas-Sanchez et al., 2016) previenen el daño celular causado por la OACP de 10 min en las regiones del giro dentado, CA1 y CA3 del hipocampo a los 7 días post reperfusión. Mientras que, la administración terapéutica de selenio sola o en combinación con zinc previene la pérdida neuronal en el hipocampo al comparar respecto al grupo control. Se ha reportado que la administración de selenio en forma terapéutica ejerce un efecto neuroprotector al prevenir la muerte neuronal en modelos de Alzheimer (Zhang et al., 2016) y de isquemia cerebral (Tomas-Sanchez et al., 2018), en el bulbo olfatorio y la corteza respetivamente, sin embargo, con intoxicación con plomo no previene el daño (Han et al., 2014b).

Ante el daño isquémico la resolución o exacerbación del proceso inflamatorio, juega un papel muy importante en la recuperación del tejido dañado, se ha reportado que desde la fase temprana al daño, hay un incremento en la liberación de moléculas proinflamatorias, la quimioatracción/extravasación de células del torrente sanguíneo, así como la activación de los astrocitos y la microglía dentro del SNC, observamos que nuestro modelo de OACP de 30 min en animales con Ap/Mem en el LAM a los 12 días post reperfusión, no incrementa la inmunorreactividad contra GFAP. Se ha reportado que ante el daño isquémico el

pico máximo de activación de los astrocitos es a los 4 días post reperfusión y disminuye a los 8 días posteriores al daño isquémico (Li et al., 2014), este incremento se lleva a cabo en la zona de penumbra, los astrocitos sufren diversos cambios morfológicos y participan en la formación de la cicatriz glial delimitando el núcleo isquémico del tejido sano; sin embargo, pueden acentuar la inflamación, generando un microambiente tóxico que inhibe la migración de axones e interfiere con la recuperación funcional motora (Choudhury and Ding, 2016).

La administración de selenio ante el daño por OACP de 30 min incrementa la reactividad a GFAP en el hipocampo a los 12 días post reperfusión, en diversos modelos se ha reportado la estrecha relación que existe entre el selenio y la activación de los astrocitos, en un modelo de TBI y en ausencia del transportador ZnT3, la administración de selenito de sodio ha promovido la sobreexpresión de GFAP en la fase temprana al daño (60 min) (Doering et al., 2010). Además, la suplementación crónica de selenio en ratonas 3xTg-AD, disminuye la agregación de la proteína Tau, la astrogliosis, la expresión y actividad de GSK-3B (Zhang et al., 2017b, Van der Jeugd et al., 2018). En cultivos de astrocitos humanos, la suplementación de selenio disminuye el estrés oxidativo, e incrementa la expresión y actividad de la glutatión peroxidasa citosólica (cGPx), la cual se encuentra relacionada con la viabilidad astrocítica y la susceptibilidad a la intoxicación con hidroperóxido de terc-butilo (Steinbrenner et al., 2006).

Al evaluar la activación de la microglía, observamos que la OACP de 30 min no modifica la expresión de Iba-1. En modelos de isquemia se ha reportado que el fenotipo M2 de la microglía incrementa su actividad a los 30 min post reperfusión con un pico máximo a los 5 días, el cual disminuye a los 14 días, mientras que el pico del fenotipo M1 se encuentra hasta las dos semanas (Li et al., 2014, Barakat and Redzic, 2016). Efecto que nos ayudaría a explicar por qué ya no encontramos cambios en nuestro modelo a los 12 días post reperfusión.

Por otra parte, observamos que la administración profiláctica de zinc, la administración terapéutica de selenio, y la administración combinada de ambos

agentes, incrementa la reactividad a Iba1. Ante el daño isquémico cerebral, la despolarización causa una liberación excesiva de zinc, produciendo excitotoxicidad y lo cual promueve la activación de la microglía cuando se encuentran activas PARP-1 y NADPH oxidasa (Kauppinen et al., 2008). Además, de exacerbar el proceso inflamatorio, al incrementar la expresión y liberación de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) por la microglía (Higashi et al., 2017). En contraparte, se ha reportado que la suplementación de selenito tiene un efecto dual ya que puede prevenir la activación de la microglía (Dalla Puppa et al., 2007) o favorecer su activación incrementando la fagocitosis (Aribi et al., 2015), sugiriendo el removimiento del daño celular o remodelamiento dendrítico.

En el hipocampo residen tres subtipos de microglía, la satélite, KSPG+ (Glía Positiva a Keratan sulfato) y la microglía “oscura” (denominada así debido a como se observa a través de microscopía electrónica); cada una de estas tiene funciones específicas en el hipocampo, la microglía satélite en condiciones fisiológicas expresa Conexinas (Cx) 43 y 26 (Procacci et al., 2008), Panexina1 (Panx1) (Hanani and Spray, 2020), regula la actividad purinérgica a través de los receptores P2X7R y P2YR (Weick et al., 2003), interactúa con el segmento inicial del axón de las neuronas y en condiciones patológicas favorece la pérdida en la comunicación neuronal (Wogram et al., 2016); la microglía KSPG+ se encarga de controlar la adhesión celular y el crecimiento axonal (Jones and Tuszynski, 2002); mientras que, la microglía “oscura” interactúa con los vasos sanguíneos y forma parte de la sinapsis activamente, específicamente con las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, lo cual puede contribuir al proceso de aprendizaje y memoria (Bisht et al., 2016).

La morfología microglial que se observa en el grupo que recibe la administración terapéutica de selenio, es muy similar a la microglía “oscura”, este subtipo de microglía expresa marcadores Iba1, CD11b, 4D4 y TREM2, interesantemente no expresa marcadores típicos de la microglía como ALDH1L1, OLIG2, P2RY12, 4C12, MHCII, CD206 y CD11c (Bisht et al., 2016), se expresa en

ratones adultos y viejos en hipocampo (CA1 y GD), corteza cerebral, amígdala e hipotálamo (**Stratoulis et al., 2019**). Sin embargo, es raramente observada en animales sanos, debido a que el número de células microgliales oscuras se cuadruplica en condiciones de estrés crónico de tipo impredecible (**Bisht et al., 2016**), sugiriendo que el selenio está causando un estrés crónico, por la modificación de la microglía.

En procesos inflamatorios inducidos con LPS, se llevan a cabo cambios morfológicos importantes en la microglía, acompañados de un incremento en la expresión de moléculas proinflamatorias, transcripción génica y modificaciones postranscripcionales a nivel epigenético, incrementando las marcas de activación/represión H3K4me1 y H3K27ac (**Wendeln et al., 2018**), así como otras marcas ya descritas para los fenotipos M1 (H3K27me3 y H3K4me2) y M2 (H3K9ac y H4K16ac) de la microglía (**Cheray and Joseph, 2018**).

Por último, evaluamos la morfología neuronal utilizando la tinción de Golgi Cox, esta técnica nos permite evaluar de forma cuantitativa la organización neuronal *in vivo*, a partir de diferentes parámetros, la desventaja de esta técnica es que solamente se impregnan del 1 al 3 % de las neuronas (**Zaqout and Kaindl, 2016**).

Nuestros resultados muestran que la OACP de 30 min más nado en el LAM a los 12 días post reperusión no modifica la morfología de neuronas que se impregnaron (~2% del total) con Golgi-Cox, en ninguno de los parámetros evaluados (arborización, orden y longitud dendríticos), en ninguna de las regiones del hipocampo (GD, CA3 y CA1), sin embargo, los animales presentan déficit cognitivo en la prueba de memoria en el LAM, además de observar una disrupción estructural en la región CA3.

La administración profiláctica de zinc disminuyó la arborización dendrítica en las neuronas granulares de DG y piramidales de CA1 en la parte distal al soma, así como las dendritas de 5º orden, lo que nos sugiere una disminución en la actividad neuronal de tipo excitadora (**Diamantaki et al., 2016**). A pesar de los

cambios generados sobre la morfología neuronal, en los animales que recibieron la administración de zinc, no hay déficit cognitivo en la prueba de memoria, lo que sugiere una regulación inhibitoria cuando hay exceso de zinc en el organismo. Además, con la sola administración subaguda de zinc, observamos un incremento de la arborización distal en las neuronas del giro dentado en ausencia de daño, pero en presencia del daño por la OACP, este efecto es el contrario, ya que disminuye las dendritas excitatorias que se encuentran activadas por el receptor NMDA. Se ha demostrado que la regulación negativa en la actividad de los receptores glutamatérgicos disminuye la densidad de espinas dendríticas y modifica la estructura de las neuronas del hipocampo (Pinzon-Parra et al., 2022).

El cambio morfológico en el giro dentado del hipocampo, tiene una repercusión importante durante el funcionamiento cognitivo (Pulido et al., 2019, Aguilar-Hernandez et al., 2020), ya que además de ser un nicho neurogénico, transmite información desde la corteza entorrinal hacia el hipocampo, pudiendo estar disminuida esta comunicación, además de participar en la consolidación y recuperación de la información (van Dijk and Fenton, 2018). La región CA3 recibe las proyecciones axonales de las neuronas granulares de DG, a través de sus dendritas proximales, además, proyectan sus axones hacia las dendritas de las neuronas piramidales de CA1, por la vía colateral de Shaffer (Olivares, 2015), participando en la transmisión de la información a través del hipocampo. En nuestro modelo encontramos disminuida la arborización dendrítica de las neuronas piramidales de CA1, esta región se encarga de transmitir la información del hipocampo hacia la corteza entorrinal, afectando el cierre del circuito de comunicación durante el aprendizaje y la memoria.

El zinc ha sido relacionado con los procesos de neuroplasticidad en el cerebro, principalmente en el hipocampo, las neuronas zincérgicas se encuentran presentes en las regiones CA1, CA3 y el giro dentado (Brown and Dyck, 2004), estas se encuentran implicadas en la plasticidad sináptica subyacente al aprendizaje y la memoria. La mayor parte del zinc sináptico se encuentra en gran parte de las

capas celulares que conforman al hipocampo, sin embargo, estos incrementos no se observaron en el *stratum moleculare*, *stratum radiatum* y la vía perforante del giro dentado (Szewczyk et al., 2006). Otro mecanismo por el cual el zinc puede estar participando es en conjunto con el calcio, favoreciendo el remodelamiento de los filamentos de actina y la migración celular en condiciones de estrés oxidativo (Li et al., 2016).

La administración combinada de zinc y selenio genera la mayor cantidad de cambios en las tres regiones hipocampales estudiadas, resaltando el aumento en la longitud del árbol dendrítico distal (a partir de 210 μm) en las neuronas del DG y CA1. Esto puede ser debido a un efecto diferencial y regulador de ambos elementos ya que incrementa o disminuye la arborización dependiendo de la región. Este efecto, puede estar relacionado con la función que lleva a cabo cada una de las regiones hipocampales en el proceso de aprendizaje y memoria.

El efecto de selenio en la arborización puede ser a través de la GPx4 o de algunas de las selenoproteínas, específicamente la Sepp1. Se ha visto que la suplementación de moléculas con alta capacidad antioxidante en un modelo de isquemia inducido por foto trombosis indujo un incremento de marcadores de neuroplasticidad como BDNF y deltaFosB en el área peri-infarto al daño (Jadavji et al., 2017).

El tratamiento de 7-cloro-4-fenilselenil quinolina (4-PSQ), un compuesto que contiene selenio revierte el déficit motor en la prueba de campo abierto ante el déficit cognitivo ocasionado por el envejecimiento, además de revertir el decremento de la molécula de adhesión celular neural (NCAM), poli sialiltransferasa (PST) y la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE), como marcadores de neuroplasticidad en corteza e hipocampo (Barth et al., 2019). Se ha asociado el efecto de dietas altas en colesterol y ricas en alimentos con alto contenido graso, el déficit cognitivo y la incidencia de taupatías; la administración oral de dosis altas (400 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y bajas (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de Selenio en modelos murinos, revierte el déficit cognitivo, disminuye el estrés oxidativo, restaura la plasticidad neuronal a través

del incremento en la expresión de BDNF y CREB en el hipocampo (**Abd Al Haleem and El-Bakly, 2019**).

Se ha observado que la administración de α -fenilselenil acetofenona (PSAP), un compuesto de selenio, revierte conductas ansiolíticas, incrementa el tiempo de movilidad en la prueba de nado forzado y el tiempo de aseo, sugiriendo un efecto ansiolítico y antidepresivo, causado por la administración de LPS; además de aminorar el proceso inflamatorio a través de la disminución en la activación de las vías p38MAPK y p-p65NF- κ B, la síntesis de COX-2 y el incremento del BDNF, el cual también participa en la neuroplasticidad cortical (**Sabedra Sousa et al., 2019**).

Se ha demostrado que la suplementación de selenito de sodio (10 ppm) en el agua de beber de ratas con hipotiroidismo inducido, atenúa el daño ocasionado en la LTP, sin embargo, no se restauran los potenciales post sinápticos excitatorios (EPSP) cuando se compara respecto al grupo control sin daño (**Bitiktas et al., 2016**). Usando un modelo de ratón transgénico *Sepp1*^{-/-} se observó que hay déficit cognitivo, alteraciones en la transmisión basal y un proceso de neurodegeneración más acelerado (**Peters et al., 2006**); usando la impregnación de Golgi Cox reportan una disminución en la longitud dendrítica y en la densidad de espinas dendríticas en la región de CA1 (**Caito et al., 2011**). A su vez, la proteínas de unión a selenio (SBP) participan en la polimerización de la actina, lo que sugiere que selenio está involucrado en los eventos secuenciales del crecimiento rápido celular, determina el direccionamiento del crecimiento y favorece el reclutamiento de monómeros de actina para la formación del filopodio (**Miyaguchi, 2004**).

9. Resumen

Antioxidante

La administración combinada profiláctica de zinc y terapéutica de selenio muestra mayor efecto antioxidante al prevenir el estrés nitrosativo mantener la actividad de SOD, CAT y GPx, además de mantener el estado redox (GSSG/GSH) en la etapa temprana al daño isquémico.

La administración profiláctica de zinc, terapéutica de selenio, solas o en combinación mantienen la actividad de SOD y CAT en los animales con LAM en el día 12 post reperusión.

Aprendizaje y Memoria

La administración de selenio en ausencia de daño incrementa el tiempo de llegada a la plataforma de escape en los últimos días de entrenamiento, sin incrementar estadísticamente la latencia en la prueba de memoria.

La OACP de 30 min modifica la curva de aprendizaje al final del entrenamiento, además de generar déficit cognitivo en la prueba de memoria en el LAM en el día 12 post reperusión.

La administración profiláctica de zinc, terapéutica de selenio, solas o en combinación mantienen las curvas de aprendizaje, previenen la pérdida de memoria causada por la OACP en los animales con LAM en el día 12 post reperusión.

Gliosis

La administración profiláctica subaguda de zinc incrementa la reactividad de los astrocitos y la microglía en el hipocampo a los 12 días post reperusión en animales con ApMem.

La administración terapéutica de selenio favorece la activación del sistema glial (astrocitos) en ratas que fueron sometidas a aprendizaje y memoria tras un proceso isquémico cerebral.

Neuroplasticidad

La administración subaguda de zinc en ausencia de daño no modifica el aprendizaje y la memoria en el LAM, causa un incremento de la arborización distal en las neuronas granulares del giro dentado del hipocampo, sin modificar la morfología neuronal en las demás regiones.

La administración profiláctica de zinc ante el daño isquémico disminuye el orden dendrítico en GD y en CA1, y disminuye la arborización medial, sin generar déficit cognitivo en la prueba de memoria.

La administración terapéutica de selenio ante el daño isquémico aumenta las dendritas de tercer orden en la región de CA3 y revierte el déficit cognitivo ocasionado por la OACP de 30 min.

La administración combinada de zinc y selenio muestra un efecto región dependiente sobre la morfología neuronal, incrementando la arborización distal y el orden dendrítico en GD y CA1, pero disminuye en las neuronas piramidales de CA3, sin embargo, no afecta la recuperación de la información en el LAM.

10. Conclusión

La administración combinada profiláctica de zinc y terapéutica de selenio ejerció un mejor efecto al prevenir el daño causado por la OACP de 30 min con respecto a las administraciones individuales, induce mecanismos antioxidantes tanto en la etapa temprana como en la etapa tardía, manteniendo la citoarquitectura, la activación glial en el hipocampo, así como promover cambios estructurales en la arborización y orden dendrítico en las neuronas de DG, CA3 y CA1, generando neuronas funcionales, previniendo la pérdida de la memoria.

11. Perspectivas

Evaluar el efecto de la administración de zinc, selenio y el ejercicio de nado sobre:

- Los niveles de selenio, zinc y transportadores (SelP y ZnT) en corteza temporoparietal e hipocampo.
- Los niveles de Glu, GABA, 5-HT, DA y Gly así como enzimas relacionadas con su metabolismo en el hipocampo.
- Los niveles proteicos de NMDAr, PSD-95, nNOS, ERK, mTOR, Akt, NF- κ B y CaMK.
- Los niveles proteicos de AMPK, PGC-1 α , Catepsina B y L (CTSB y CTSL) en sangre, corteza temporoparietal, hipocampo y músculo gastrocnemio.
- Determinar el tipo de muerte celular; apoptosis, necrosis, necroptosis, ferroptosis, partanatos, etc., utilizando marcadores como Caspasa 3, CypD, RIPK1, CypA, ATG y PARP-1.
- La participación de la microglía oscura en el cerebro de la rata con selenio.
- La densidad y tipificación de espinas dendríticas.

12. Referencias

- Abd Al Haleem EN, El-Bakly WM (2019) The role of MAPK signaling pathway in selenium amelioration of high fat/high cholesterol diet-induced tauopathy in rats. *Chem Biol Interact* 302:108-116.
- Adams JM, Cory S (2007) The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene* 26:1324-1337.
- Adebayo OL, Adenuga GA, Sandhir R (2016) Selenium and zinc protect brain mitochondrial antioxidants and electron transport chain enzymes following postnatal protein malnutrition. *Life sciences* 152:145-155.
- Aguilar-Hernandez L, Vazquez-Hernandez AJ, de-Lima-Mar DF, Vazquez-Roque RA, Tendilla-Beltran H, Flores G (2020) Memory and dendritic spines loss, and dynamic dendritic spines changes are age-dependent in the rat. *Journal of chemical neuroanatomy* 110:101858.
- Ahmadinejad F, Geir Moller S, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Bidkhorji G, Jami MS (2017) Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. *Antioxidants* 6.
- Alawieh A, Elvington A, Tomlinson S (2015) Complement in the Homeostatic and Ischemic Brain. *Front Immunol* 6:417.
- Alexaki VI, Fodelianaki G, Neuwirth A, Mund C, Kourgiantaki A, Ieronimaki E, Lyroni K, Troullinaki M, Fujii C, Kanczkowski W, Ziogas A, Peitzsch M, Grossklaus S, Sonnichsen B, Gravanis A, Bornstein SR, Charalampopoulos I, Tsatsanis C, Chavakis T (2018) DHEA inhibits acute microglia-mediated inflammation through activation of the TrkA-Akt1/2-CREB-Jmjd3 pathway. *Molecular psychiatry* 23:1410-1420.
- Alia C, Spalletti C, Lai S, Panarese A, Lamola G, Bertolucci F, Vallone F, Di Garbo A, Chisari C, Micera S, Caleo M (2017) Neuroplastic Changes Following Brain Ischemia and their Contribution to Stroke Recovery: Novel Approaches in Neurorehabilitation. *Front Cell Neurosci* 11:76.
- Alomari MA, Alzoubi KH, Khabour OF (2021) Swimming exercise improves short- and long-term memories: Time-course changes. *Physiological reports* 9:e14851.
- Allen JJ (2019) Cognitive Rehabilitation for Mild Traumatic Brain Injury (mTBI). In: *Neurosensory Disorders in Mild Traumatic Brain Injury*, pp 357-379.
- Allen NJ (2014) Astrocyte regulation of synaptic behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 30:439-463.
- Amara U, Rittirsch D, Flierl M, Bruckner U, Klos A, Gebhard F, Lambris JD, Huber-Lang M (2008) Interaction between the coagulation and complement system. *Adv Exp Med Biol* 632:71-79.
- An C, Shi Y, Li P, Hu X, Gan Y, Stetler RA, Leak RK, Gao Y, Sun BL, Zheng P, Chen J (2014) Molecular dialogs between the ischemic brain and the peripheral immune system: dualistic roles in injury and repair. *Prog Neurobiol* 115:6-24.
- Anderson CT, Radford RJ, Zastrow ML, Zhang DY, Apfel UP, Lippard SJ, Tzounopoulos T (2015) Modulation of extrasynaptic NMDA receptors by synaptic and tonic zinc. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:E2705-2714.
- Anrather J, Iadecola C (2016) Inflammation and Stroke: An Overview. *Neurotherapeutics* 13:661-670.
- Arauz A, Marquez-Romero JM, Barboza MA, Serrano F, Artigas C, Murillo-Bonilla LM, Cantu-Brito C, Ruiz-Sandoval JL, Barinagarrementeria F (2018) Mexican-National Institute of Neurology and Neurosurgery-Stroke Registry: Results of a 25-Year Hospital-Based Study. *Front Neurol* 9:207.
- Arbogast S, Beuvin M, Frayssé B, Zhou H, Muntoni F, Ferreiro A (2009) Oxidative stress in SEP1-related myopathy: from pathophysiology to treatment. *Annals of neurology* 65:677-686.

- Ardalan MR, Estakhri R, Hajipour B, Ansarin K, Asl NA, Nasirizade MR, Azar AN, Ghorbanihaghjou A, Vatankhah AM, Esmaili HA (2013) Erythropoietin ameliorates oxidative stress and tissue injury following renal ischemia/reperfusion in rat kidney and lung. *Med Princ Pract* 22:70-74.
- Aribi M, Meziane W, Habi S, Boulatika Y, Marchandin H, Aymeric JL (2015) Macrophage Bactericidal Activities against *Staphylococcus aureus* Are Enhanced In Vivo by Selenium Supplementation in a Dose-Dependent Manner. *PloS one* 10:e0135515.
- Armogida M, Spalloni A, Amantea D, Nutini M, Petrelli F, Longone P, Bagetta G, Nistico R, Mercuri NB (2011) The protective role of catalase against cerebral ischemia in vitro and in vivo. *Int J Immunopathol Pharmacol* 24:735-747.
- Austin MW, Ploughman M, Glynn L, Corbett D (2014) Aerobic exercise effects on neuroprotection and brain repair following stroke: a systematic review and perspective. *Neuroscience research* 87:8-15.
- Avery JC, Hoffmann PR (2018) Selenium, Selenoproteins, and Immunity. *Nutrients* 10.
- Aygun H, Ayyildiz M, Agar E (2019) Swimming exercise decreases the absence-like epileptic activity in WAG/Rij rats. *Behavioural brain research* 363:145-148.
- Baburamani AA, Hurling C, Stolp H, Sobotka K, Gressens P, Hagberg H, Thornton C (2015) Mitochondrial Optic Atrophy (OPA) 1 Processing Is Altered in Response to Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *International journal of molecular sciences* 16:22509-22526.
- Bai F, Zhang N, Fang W, He X, Zheng Y, Gu D (2020) PCAT6 mediates cellular biological functions in gastrointestinal stromal tumor via upregulation of PRDX5 and activation of Wnt pathway. *Molecular carcinogenesis* 59:661-669.
- Baldelli S, Aquilano K, Rotilio G, Ciriolo MR (2008) Glutathione and copper, zinc superoxide dismutase are modulated by overexpression of neuronal nitric oxide synthase. *Int J Biochem Cell Biol* 40:2660-2670.
- Baltaci AK, Yuce K (2018) Zinc Transporter Proteins. *Neurochemical research* 43:517-530.
- Barakat R, Redzic Z (2016) The Role of Activated Microglia and Resident Macrophages in the Neurovascular Unit during Cerebral Ischemia: Is the Jury Still Out? *Med Princ Pract* 25 Suppl 1:3-14.
- Barnabe-Heider F, WasylInka JA, Fernandes KJ, Porsche C, Sendtner M, Kaplan DR, Miller FD (2005) Evidence that embryonic neurons regulate the onset of cortical gliogenesis via cardiotrophin-1. *Neuron* 48:253-265.
- Barranco I, Tvarijonaviciute A, Perez-Patino C, Vicente-Carrillo A, Parrilla I, Ceron JJ, Martinez EA, Rodriguez-Martinez H, Roca J (2016) Glutathione Peroxidase 5 Is Expressed by the Entire Pig Male Genital Tract and Once in the Seminal Plasma Contributes to Sperm Survival and In Vivo Fertility. *PloS one* 11:e0162958.
- Barth A, Vogt AG, Dos Reis AS, Pinz MP, Kruger R, Domingues WB, Alves D, Campos VF, Pinton S, Paroul N, Wilhelm EA, Luchese C (2019) 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline with Memory Enhancer Action in Aging Rats: Modulation of Neuroplasticity, Acetylcholinesterase Activity, and Cholesterol Levels. *Mol Neurobiol* 56:6398-6408.
- Basilico B, Ferrucci L, Ratano P, Golia MT, Grimaldi A, Rosito M, Ferretti V, Reverte I, Sanchini C, Marrone MC, Giubettini M, De Turris V, Salerno D, Garofalo S, St-Pierre MK, Carrier M, Renzi M, Pagani F, Modi B, Raspa M, Scavizzi F, Gross CT, Marinelli S, Tremblay ME, Caprioli D, Maggi L, Limatola C, Di Angelantonio S, Ragozzino D (2022) Microglia control glutamatergic synapses in the adult mouse hippocampus. *Glia* 70:173-195.

- Ben SB, Peng B, Wang GC, Li C, Gu HF, Jiang H, Meng XL, Lee BJ, Chen CL (2015) Overexpression of Selenoprotein SelK in BGC-823 Cells Inhibits Cell Adhesion and Migration. *Biochemistry Biokhimiia* 80:1344-1353.
- Benstoem C, Goetzenich A, Kraemer S, Borosch S, Manzanares W, Hardy G, Stoppe C (2015) Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know? *Nutrients* 7:3094-3118.
- Bergmann O, Spalding KL, Frisen J (2015) Adult Neurogenesis in Humans. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a018994.
- Bernstein DL, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Reichenbach NL, Polyak B, Persidsky Y, Rom S (2020) miR-98 reduces endothelial dysfunction by protecting blood-brain barrier (BBB) and improves neurological outcomes in mouse ischemia/reperfusion stroke model. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 40:1953-1965.
- Beyer S, Kristensen MM, Jensen KS, Johansen JV, Staller P (2008) The histone demethylases JMJD1A and JMJD2B are transcriptional targets of hypoxia-inducible factor HIF. *The Journal of biological chemistry* 283:36542-36552.
- Bisht K, Sharma KP, Lecours C, Sanchez MG, El Hajj H, Milior G, Olmos-Alonso A, Gomez-Nicola D, Luheshi G, Vallieres L, Branchi I, Maggi L, Limatola C, Butovsky O, Tremblay ME (2016) Dark microglia: A new phenotype predominantly associated with pathological states. *Glia* 64:826-839.
- Bitiktas S, Tan B, Batakci M, Kavraal S, Dursun N, Suer C (2016) Effects of selenium treatment on 6-n-propyl-2-thiouracil-induced impairment of long-term potentiation. *Neurosci Res* 109:70-76.
- Blanco-Alvarez VM, Lopez-Moreno P, Soto-Rodriguez G, Martinez-Fong D, Rubio H, Gonzalez-Barrios JA, Pina-Leyva C, Torres-Soto M, Gomez-Villalobos Mde J, Hernandez-Baltazar D, Brambila E, Eguibar JR, Ugarte A, Cebada J, Leon-Chavez BA (2013) Subacute zinc administration and L-NAME caused an increase of NO, zinc, lipoperoxidation, and caspase-3 during a cerebral hypoxia-ischemia process in the rat. *Oxid Med Cell Longev* 2013:240560.
- Blanco-Alvarez VM, Soto-Rodriguez G, Gonzalez-Barrios JA, Martinez-Fong D, Brambila E, Torres-Soto M, Aguilar-Peralta AK, Gonzalez-Vazquez A, Tomas-Sanchez C, Limon ID, Eguibar JR, Ugarte A, Hernandez-Castillo J, Leon-Chavez BA (2015) Prophylactic Subacute Administration of Zinc Increases CCL2, CCR2, FGF2, and IGF-1 Expression and Prevents the Long-Term Memory Loss in a Rat Model of Cerebral Hypoxia-Ischemia. *Neural Plast* 2015:375391.
- Blanco-Suarez E, Caldwell AL, Allen NJ (2017) Role of astrocyte-synapse interactions in CNS disorders. *J Physiol* 595:1903-1916.
- Blancher C, Moore JW, Talks KL, Houlbrook S, Harris AL (2000) Relationship of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha expression to vascular endothelial growth factor induction and hypoxia survival in human breast cancer cell lines. *Cancer research* 60:7106-7113.
- Bolos M, Perea JR, Terreros-Roncal J, Pallas-Bazarra N, Jurado-Arjona J, Avila J, Llorens-Martin M (2018) Absence of microglial CX3CR1 impairs the synaptic integration of adult-born hippocampal granule neurons. *Brain, behavior, and immunity* 68:76-89.
- Boraci H, Kirazli O, Gulhan R, Yildiz Sercan D, Sehirli US (2020) Neuroprotective effect of regular swimming exercise on calretinin-positive striatal neurons of Parkinsonian rats. *Anatomical science international* 95:429-439.

- Boscolo P, Carmignani M (1986) Mechanisms of cardiovascular regulation in male rabbits chronically exposed to cadmium. *British journal of industrial medicine* 43:605-610.
- Boukhzar L, Hamieh A, Cartier D, Tanguy Y, Alsharif I, Castex M, Arabo A, El Hajji S, Bonnet JJ, Errami M, Falluel-Morel A, Chagraoui A, Lihmann I, Anouar Y (2016) Selenoprotein T Exerts an Essential Oxidoreductase Activity That Protects Dopaminergic Neurons in Mouse Models of Parkinson's Disease. *Antioxidants & redox signaling* 24:557-574.
- Brigelius-Flohe R, Maiorino M (2013) Glutathione peroxidases. *Biochimica et biophysica acta* 1830:3289-3303.
- Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG (2009) Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke* 40:e331-339.
- Brown CE, Dyck RH (2004) Distribution of zincergic neurons in the mouse forebrain. *J Comp Neurol* 479:156-167.
- Brown CE, Wong C, Murphy TH (2008) Rapid morphologic plasticity of peri-infarct dendritic spines after focal ischemic stroke. *Stroke* 39:1286-1291.
- Burk RF, Hill KE (2015) Regulation of Selenium Metabolism and Transport. *Annual review of nutrition* 35:109-134.
- Buttner P, Obradovic D, Wunderlich S, Feistritz HJ, Holzwirth E, Lauten P, Fuernau G, de Waha-Thiele S, Desch S, Thiele H (2020) Selenoprotein P in Myocardial Infarction With Cardiogenic Shock. *Shock* 53:58-62.
- Byun JS, Lee CO, Oh M, Cha D, Kim WK, Oh KJ, Bae KH, Lee SC, Han BS (2020) Rapid differentiation of astrocytes from human embryonic stem cells. *Neurosci Lett* 716:134681.
- Cai G, Cai G, Zhou H, Zhuang Z, Liu K, Pei S, Wang Y, Wang H, Wang X, Xu S, Cui C, Sun M, Guo S, Jia K, Wang X, Zhang D (2021) Mesenchymal stem cell-derived exosome miR-542-3p suppresses inflammation and prevents cerebral infarction. *Stem cell research & therapy* 12:2.
- Caito SW, Milatovic D, Hill KE, Aschner M, Burk RF, Valentine WM (2011) Progression of neurodegeneration and morphologic changes in the brains of juvenile mice with selenoprotein P deleted. *Brain Res* 1398:1-12.
- Calabrese V, Cornelius C, Rizzarelli E, Owen JB, Dinkova-Kostova AT, Butterfield DA (2009) Nitric oxide in cell survival: a janus molecule. *Antioxidants & redox signaling* 11:2717-2739.
- Calabresi P, Centonze D, Pisani A, Cupini L, Bernardi G (2003) Synaptic plasticity in the ischaemic brain. *Lancet Neurol* 2:622-629.
- Camacho A, Massieu L (2006) Role of glutamate transporters in the clearance and release of glutamate during ischemia and its relation to neuronal death. *Arch Med Res* 37:11-18.
- Camera DM, Smiles WJ, Hawley JA (2016) Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Free radical biology & medicine* 98:131-143.
- Cao X, Chen XM, Xiao WZ, Li B, Zhang B, Wu Q, Xue Q (2021) ROS-mediated hypomethylation of PRDX5 promotes STAT3 binding and activates the Nrf2 signaling pathway in NSCLC. *International journal of molecular medicine* 47:573-582.
- Carlo JSALBLCTGBJLGABCLVNSTLGGKBKMR (2016) *Biomedical and Pharmaceutical Applications*. In: *Metallomics: Analytical Techniques and Speciation Methods* (Michalke, B., ed).
- Carmichael ST, Archibeque I, Luke L, Nolan T, Momiy J, Li S (2005) Growth-associated gene expression after stroke: evidence for a growth-promoting region in peri-infarct cortex. *Experimental neurology* 193:291-311.
- Carter RE, Aiba I, Dietz RM, Sheline CT, Shuttleworth CW (2011) Spreading depression and related events are significant sources of neuronal Zn²⁺ release and accumulation. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 31:1073-1084.

- Casella EM, Thomas TC, Vanino DL, Fellows-Mayle W, Lifshitz J, Card JP, Adelson PD (2014) Traumatic brain injury alters long-term hippocampal neuron morphology in juvenile, but not immature, rats. *Childs Nerv Syst* 30:1333-1342.
- Castets P, Lescure A, Guicheney P, Allamand V (2012) Selenoprotein N in skeletal muscle: from diseases to function. *Journal of molecular medicine* 90:1095-1107.
- Catala A, Diaz M (2016) Editorial: Impact of Lipid Peroxidation on the Physiology and Pathophysiology of Cell Membranes. *Frontiers in physiology* 7:423.
- Cipriani R, Villa P, Chece G, Lauro C, Paladini A, Micotti E, Perego C, De Simoni MG, Fredholm BB, Eusebi F, Limatola C (2011) CX3CL1 is neuroprotective in permanent focal cerebral ischemia in rodents. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:16327-16335.
- Clarke LE, Barres BA (2013) Emerging roles of astrocytes in neural circuit development. *Nature reviews Neuroscience* 14:311-321.
- Cole TB, Martyanova A, Palmiter RD (2001) Removing zinc from synaptic vesicles does not impair spatial learning, memory, or sensorimotor functions in the mouse. *Brain research* 891:253-265.
- Cope EC, Morris DR, Gower-Winter SD, Brownstein NC, Levenson CW (2016) Effect of zinc supplementation on neuronal precursor proliferation in the rat hippocampus after traumatic brain injury. *Experimental neurology* 279:96-103.
- Cope EC, Morris DR, Scrimgeour AG, Levenson CW (2012) Use of zinc as a treatment for traumatic brain injury in the rat: effects on cognitive and behavioral outcomes. *Neurorehabil Neural Repair* 26:907-913.
- Cope EC, Morris DR, Scrimgeour AG, VanLandingham JW, Levenson CW (2011) Zinc supplementation provides behavioral resiliency in a rat model of traumatic brain injury. *Physiol Behav* 104:942-947.
- Cortese-Krott MM, Suschek CV, Wetzel W, Kroncke KD, Kolb-Bachofen V (2009) Nitric oxide-mediated protection of endothelial cells from hydrogen peroxide is mediated by intracellular zinc and glutathione. *Am J Physiol Cell Physiol* 296:C811-820.
- Crow JP, Sampson JB, Zhuang Y, Thompson JA, Beckman JS (1997) Decreased zinc affinity of amyotrophic lateral sclerosis-associated superoxide dismutase mutants leads to enhanced catalysis of tyrosine nitration by peroxynitrite. *J Neurochem* 69:1936-1944.
- Chabory E, Damon C, Lenoir A, Kauselmann G, Kern H, Zevnik B, Garrel C, Saez F, Cadet R, Henry-Berger J, Schoor M, Gottwald U, Habenicht U, Drevet JR, Vernet P (2009) Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. *The Journal of clinical investigation* 119:2074-2085.
- Chali F, Deseille C, Houdebine L, Benoit E, Rouquet T, Bariohay B, Lopes P, Branchu J, Della Gaspera B, Pariset C, Chanoine C, Charbonnier F, Biondi O (2016) Long-term exercise-specific neuroprotection in spinal muscular atrophy-like mice. *The Journal of physiology* 594:1931-1952.
- Chamorro A, Hallenbeck J (2006) The harms and benefits of inflammatory and immune responses in vascular disease. *Stroke* 37:291-293.
- Chanraud S, Sullivan EV (2014) Compensatory recruitment of neural resources in chronic alcoholism. *Handb Clin Neurol* 125:369-380.
- Chasapis CT, Loutsidou AC, Spiliopoulou CA, Stefanidou ME (2012) Zinc and human health: an update. *Arch Toxicol* 86:521-534.
- Chavez JC, Hurko O, Barone FC, Feuerstein GZ (2009) Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch. *Stroke* 40:e558-563.

- Chelikani P, Fita I, Loewen PC (2004) Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci* 61:192-208.
- Chen CJ, Liao SL (2003) Zinc toxicity on neonatal cortical neurons: involvement of glutathione chelation. *J Neurochem* 85:443-453.
- Chen P, Wang RR, Ma XJ, Liu Q, Ni JZ (2013) Different Forms of Selenoprotein M Differentially Affect Abeta Aggregation and ROS Generation. *International journal of molecular sciences* 14:4385-4399.
- Chen X, Cao X, Xiao W, Li B, Xue Q (2020) PRDX5 as a novel binding partner in Nrf2-mediated NSCLC progression under oxidative stress. *Aging* 12:122-137.
- Chen XY, Yang SY, Ruan XJ, Ding HY, Wang NX, Liu F, Li JC, Li Y (2021) MsrB1 Promotes Proliferation and Invasion of Colorectal Cancer Cells via GSK-3beta/beta-catenin Signaling Axis. *Cell transplantation* 30:9636897211053203.
- Chen Y, Hallenbeck JM, Ruetzler C, Bol D, Thomas K, Berman NE, Vogel SN (2003) Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in the brain exacerbates ischemic brain injury and is associated with recruitment of inflammatory cells. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:748-755.
- Cheng J, Shen W, Jin L, Pan J, Zhou Y, Pan G, Xie Q, Hu Q, Wu S, Zhang H, Chen X (2020) Treadmill exercise promotes neurogenesis and myelin repair via upregulating Wnt/betacatenin signaling pathways in the juvenile brain following focal cerebral ischemia/reperfusion. *International journal of molecular medicine* 45:1447-1463.
- Cheng Y, Xu T, Li S, Ruan H (2019) GPX1, a biomarker for the diagnosis and prognosis of kidney cancer, promotes the progression of kidney cancer. *Aging* 11:12165-12176.
- Cheray M, Joseph B (2018) Epigenetics Control Microglia Plasticity. *Front Cell Neurosci* 12:243.
- Choudhury GR, Ding S (2016) Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiol Dis* 85:234-244.
- Christensen MK, Frederickson CJ (1998) Zinc-containing afferent projections to the rat corticomедial amygdaloid complex: a retrograde tracing study. *The Journal of comparative neurology* 400:375-390.
- Christopherson KS, Ullian EM, Stokes CC, Mallowney CE, Hell JW, Agah A, Lawler J, Mosher DF, Bornstein P, Barres BA (2005) Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell* 120:421-433.
- Dai Z, Lai JR (2019) Isolation of Synthetic Antibodies Against BCL-2-Associated X Protein (BAX). *Methods in molecular biology* 1877:351-357.
- Dalla Puppa L, Savaskan NE, Brauer AU, Behne D, Kyriakopoulos A (2007) The role of selenite on microglial migration. *Ann N Y Acad Sci* 1096:179-183.
- Danton GH, Dietrich WD (2003) Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:127-136.
- Davis CD, Tsuji PA, Milner JA (2012) Selenoproteins and cancer prevention. *Annual review of nutrition* 32:73-95.
- Davis SM, Pennypacker KR (2017) Targeting antioxidant enzyme expression as a therapeutic strategy for ischemic stroke. *Neurochemistry international* 107:23-32.
- Dayer AG, Cleaver KM, Abouantoun T, Cameron HA (2005) New GABAergic interneurons in the adult neocortex and striatum are generated from different precursors. *J Cell Biol* 168:415-427.
- De Meyer SF, Denorme F, Langhauser F, Geuss E, Fluri F, Kleinschnitz C (2016) Thromboinflammation in Stroke Brain Damage. *Stroke* 47:1165-1172.
- Demarin VM, Sandra; Béné, Raphael (2014) Neuroplasticity. *Periodicum Biologorum* 116:1-4.

- Devreotes P, Horwitz AR (2015) Signaling networks that regulate cell migration. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a005959.
- Dharap A, Bowen K, Place R, Li LC, Vemuganti R (2009) Transient focal ischemia induces extensive temporal changes in rat cerebral microRNAome. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 29:675-687.
- Diamantaki M, Frey M, Berens P, Preston-Ferrer P, Burgalossi A (2016) Sparse activity of identified dentate granule cells during spatial exploration. *Elife* 5.
- Doerflinger M, Glab JA, Puthalakath H (2015) BH3-only proteins: a 20-year stock-take. *FEBS J* 282:1006-1016.
- Doering P, Stoltenberg M, Penkowa M, Rungby J, Larsen A, Danscher G (2010) Chemical blocking of zinc ions in CNS increases neuronal damage following traumatic brain injury (TBI) in mice. *PLoS One* 5:e10131.
- Druckmann S, Feng L, Lee B, Yook C, Zhao T, Magee JC, Kim J (2014) Structured synaptic connectivity between hippocampal regions. *Neuron* 81:629-640.
- Du K, Zhao C, Wang L, Wang Y, Zhang KZ, Shen XY, Sun HX, Gao W, Lu X (2019) MiR-191 inhibit angiogenesis after acute ischemic stroke targeting VEZF1. *Aging* 11:2762-2786.
- Du S, Zhou J, Jia Y, Huang K (2010) SelK is a novel ER stress-regulated protein and protects HepG2 cells from ER stress agent-induced apoptosis. *Archives of biochemistry and biophysics* 502:137-143.
- Du X, Li H, Wang Z, Qiu S, Liu Q, Ni J (2013) Selenoprotein P and selenoprotein M block Zn²⁺ - mediated Aβ₄₂ aggregation and toxicity. *Metallomics : integrated biometal science* 5:861-870.
- Duffau H (2016) Brain Plasticity and Reorganization Before, During, and After Glioma Resection. *Medicine, Psychology*.
- Elmariah SB, Oh EJ, Hughes EG, Balice-Gordon RJ (2005) Astrocytes regulate inhibitory synapse formation via Trk-mediated modulation of postsynaptic GABAA receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 25:3638-3650.
- Emsley HC, Tyrrell PJ (2002) Inflammation and infection in clinical stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 22:1399-1419.
- Encinas JM, Sierra A (2012) Neural stem cell deforestation as the main force driving the age-related decline in adult hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res* 227:433-439.
- Esworthy RS, Yang L, Frankel PH, Chu FF (2005) Epithelium-specific glutathione peroxidase, Gpx2, is involved in the prevention of intestinal inflammation in selenium-deficient mice. *The Journal of nutrition* 135:740-745.
- Eyo UB, Miner SA, Weiner JA, Dailey ME (2016) Developmental changes in microglial mobilization are independent of apoptosis in the neonatal mouse hippocampus. *Brain Behav Immun* 55:49-59.
- Fan Y, Wang Y, Ji W, Liu K, Wu H (2021) Exercise preconditioning ameliorates cognitive impairment and anxiety-like behavior via regulation of dopamine in ischemia rats. *Physiology & behavior* 233:113353.
- Farokhi-Sisakht F, Farhoudi M, Sadigh-Eteghad S, Mahmoudi J, Mohaddes G (2019) Cognitive Rehabilitation Improves Ischemic Stroke-Induced Cognitive Impairment: Role of Growth Factors. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 28:104299.
- Feng Y, Li Y, Zhang Y, Zhang BH, Zhao H, Zhao X, Shi FD, Jin WN, Zhang XA (2021) miR-1224 contributes to ischemic stroke-mediated natural killer cell dysfunction by targeting Sp1 signaling. *Journal of neuroinflammation* 18:133.

- Fernandes A, Miller-Fleming L, Pais TF (2014) Microglia and inflammation: conspiracy, controversy or control? *Cell Mol Life Sci* 71:3969-3985.
- Fichman Y, Koncz Z, Reznik N, Miller G, Szabados L, Kramer K, Nakagami H, Fromm H, Koncz C, Zilberstein A (2018) SELENOPROTEIN O is a chloroplast protein involved in ROS scavenging and its absence increases dehydration tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant science : an international journal of experimental plant biology* 270:278-291.
- Font MA, Arboix A, Krupinski J (2010) Angiogenesis, neurogenesis and neuroplasticity in ischemic stroke. *Curr Cardiol Rev* 6:238-244.
- Forstermann U, Sessa WC (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 33:829-837, 837a-837d.
- Fredericks GJ, Hoffmann PR (2015) Selenoprotein K and protein palmitoylation. *Antioxidants & redox signaling* 23:854-862.
- Frederickson CJ, Suh SW, Silva D, Frederickson CJ, Thompson RB (2000) Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *The Journal of nutrition* 130:1471S-1483S.
- Fricker M, Tolkovsky AM, Borutaite V, Coleman M, Brown GC (2018) Neuronal Cell Death. *Physiol Rev* 98:813-880.
- Frost B, Hemberg M, Lewis J, Feany MB (2014) Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nat Neurosci* 17:357-366.
- Frye RE, Delatorre R, Taylor H, Slattery J, Melnyk S, Chowdhury N, James SJ (2013) Redox metabolism abnormalities in autistic children associated with mitochondrial disease. *Transl Psychiatry* 3:e273.
- Frye RE, James SJ (2014) Metabolic pathology of autism in relation to redox metabolism. *Biomark Med* 8:321-330.
- Galvez-Peralta M, Wang Z, Bao S, Knoell DL, Nebert DW (2014) Tissue-Specific Induction of Mouse ZIP8 and ZIP14 Divalent Cation/Bicarbonate Symporters by, and Cytokine Response to, Inflammatory Signals. *Int J Toxicol* 33:246-258.
- Gao X, Deng P, Xu ZC, Chen J (2011) Moderate traumatic brain injury causes acute dendritic and synaptic degeneration in the hippocampal dentate gyrus. *PloS one* 6:e24566.
- Garcia-Triana A, Peregrino-Uriarte AB, Yepiz-Plascencia G (2016) Selenoprotein M gene expression, peroxidases activity and hydrogen peroxide concentration are differentially regulated in gill and hepatopancreas of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* during hypoxia and reoxygenation. *Comparative biochemistry and physiology Part A, Molecular & integrative physiology* 199:14-20.
- Ge MH, Tian H, Mao L, Li DY, Lin JQ, Hu HS, Huang SC, Zhang CJ, Mei XF (2021) Zinc attenuates ferroptosis and promotes functional recovery in contusion spinal cord injury by activating Nrf2/GPX4 defense pathway. *CNS neuroscience & therapeutics*.
- Gidday JM (2006) Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nature reviews Neuroscience* 7:437-448.
- Gladden LB (2004) Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 558:5-30.
- Goncalves JT, Schafer ST, Gage FH (2016) Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. *Cell* 167:897-914.
- Gower-Winter SD, Corniola RS, Morgan TJ, Jr., Levenson CW (2013) Zinc deficiency regulates hippocampal gene expression and impairs neuronal differentiation. *Nutritional neuroscience* 16:174-182.
- Graeber MB, Streit WJ (2010) Microglia: biology and pathology. *Acta neuropathologica* 119:89-105.

- Granger DN, Kvietys PR (2015) Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox biology* 6:524-551.
- Guillin OM, Vindry C, Ohlmann T, Chavatte L (2019) Selenium, Selenoproteins and Viral Infection. *Nutrients* 11.
- Guo S, Dong L, Li J, Chen Y, Yao Y, Zeng R, Shushakova N, Haller H, Xu G, Rong S (2021) C-X3-C motif chemokine ligand 1/receptor 1 regulates the M1 polarization and chemotaxis of macrophages after hypoxia/reoxygenation injury. *Chronic diseases and translational medicine* 7:254-265.
- Han B, Zhang Y, Zhang Y, Bai Y, Chen X, Huang R, Wu F, Leng S, Chao J, Zhang JH, Hu G, Yao H (2018) Novel insight into circular RNA HECTD1 in astrocyte activation via autophagy by targeting MIR142-TIPARP: implications for cerebral ischemic stroke. *Autophagy* 14:1164-1184.
- Han SJ, Lee BC, Yim SH, Gladyshev VN, Lee SR (2014a) Characterization of mammalian selenoprotein o: a redox-active mitochondrial protein. *PloS one* 9:e95518.
- Han XJ, Xiao YM, Ai BM, Hu XX, Wei Q, Hu QS (2014b) Effects of organic selenium on lead-induced impairments of spatial learning and memory as well as synaptic structural plasticity in rats. *Biol Pharm Bull* 37:466-474.
- Hanani M, Spray DC (2020) Emerging importance of satellite glia in nervous system function and dysfunction. *Nature reviews Neuroscience* 21:485-498.
- Hancock SM, Finkelstein DI, Adlard PA (2014) Glia and zinc in ageing and Alzheimer's disease: a mechanism for cognitive decline? *Front Aging Neurosci* 6:137.
- Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M (2004) Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 45:104-114.
- He F, Ge W, Martinowich K, Becker-Catania S, Coskun V, Zhu W, Wu H, Castro D, Guillemot F, Fan G, de Vellis J, Sun YE (2005) A positive autoregulatory loop of Jak-STAT signaling controls the onset of astroglialogenesis. *Nat Neurosci* 8:616-625.
- Hehlgans T, Seitz C, Lewis C, Mannel DN (2001) Hypoxic upregulation of TNF receptor type 2 expression involves NF-IL-6 and is independent of HIF-1 or HIF-2. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 21:757-762.
- Heller RA, Sun Q, Hackler J, Seelig J, Seibert L, Cherkezov A, Minich WB, Seemann P, Diegmann J, Pilz M, Bachmann M, Ranjbar A, Moghaddam A, Schomburg L (2021) Prediction of survival odds in COVID-19 by zinc, age and selenoprotein P as composite biomarker. *Redox biology* 38:101764.
- Hickman S, Izzy S, Sen P, Morsett L, El Khoury J (2018) Microglia in neurodegeneration. *Nat Neurosci* 21:1359-1369.
- Higashi Y, Aratake T, Shimizu S, Shimizu T, Nakamura K, Tsuda M, Yawata T, Ueba T, Saito M (2017) Influence of extracellular zinc on M1 microglial activation. *Scientific reports* 7:43778.
- Higdon A, Diers AR, Oh JY, Landar A, Darley-Usmar VM (2012) Cell signalling by reactive lipid species: new concepts and molecular mechanisms. *The Biochemical journal* 442:453-464.
- Hill MM, Adrain C, Duriez PJ, Creagh EM, Martin SJ (2004) Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. *EMBO J* 23:2134-2145.
- Hillered L, Smith ML, Siesjo BK (1985) Lactic acidosis and recovery of mitochondrial function following forebrain ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 5:259-266.
- Horibata Y, Elpeleg O, Eran A, Hirabayashi Y, Savitzki D, Tal G, Mandel H, Sugimoto H (2018) EPT1 (selenoprotein I) is critical for the neural development and maintenance of plasmalogen in humans. *Journal of lipid research* 59:1015-1026.

- Hu X, Li P, Guo Y, Wang H, Leak RK, Chen S, Gao Y, Chen J (2012) Microglia/macrophage polarization dynamics reveal novel mechanism of injury expansion after focal cerebral ischemia. *Stroke* 43:3063-3070.
- Huang J, Bao D, Lei CT, Tang H, Zhang CY, Su H, Zhang C (2020) Selenoprotein T protects against cisplatin-induced acute kidney injury through suppression of oxidative stress and apoptosis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 34:11983-11996.
- Huang YZ, Pan E, Xiong ZQ, McNamara JO (2008) Zinc-mediated transactivation of TrkB potentiates the hippocampal mossy fiber-CA3 pyramid synapse. *Neuron* 57:546-558.
- Hunter MV, Moncada R, Weiss JM, Yanai I, White RM (2021) Spatially resolved transcriptomics reveals the architecture of the tumor-microenvironment interface. *Nature communications* 12:6278.
- Hurn PD, Subramanian S, Parker SM, Afentoulis ME, Kaler LJ, Vandenbark AA, Offner H (2007) T- and B-cell-deficient mice with experimental stroke have reduced lesion size and inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab* 27:1798-1805.
- Hwang DY, Sin JS, Kim MS, Yim SY, Kim YK, Kim CK, Kim BG, Shim SB, Jee SW, Lee SH, Bae CJ, Lee BC, Jang MK, Cho JS, Chae KR (2008) Overexpression of human selenoprotein M differentially regulates the concentrations of antioxidants and H₂O₂, the activity of antioxidant enzymes, and the composition of white blood cells in a transgenic rat. *International journal of molecular medicine* 21:169-179.
- Iadecola C, Anrather J (2011) The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat Med* 17:796-808.
- Imura T, Tane K, Toyoda N, Fushiki S (2008) Endothelial cell-derived bone morphogenetic proteins regulate glial differentiation of cortical progenitors. *Eur J Neurosci* 27:1596-1606.
- Inoue K, O'Bryant Z, Xiong ZG (2015) Zinc-permeable ion channels: effects on intracellular zinc dynamics and potential physiological/pathophysiological significance. *Curr Med Chem* 22:1248-1257.
- Institute TH (2019).
- Ishrat T, Parveen K, Khan MM, Khuwaja G, Khan MB, Yousuf S, Ahmad A, Shrivastav P, Islam F (2009) Selenium prevents cognitive decline and oxidative damage in rat model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *Brain Res* 1281:117-127.
- Islekel S, Islekel H, Guner G, Ozdamar N (1999) Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion. *Res Exp Med (Berl)* 199:167-176.
- Ismail T, Kim Y, Lee H, Lee DS, Lee HS (2019) Interplay Between Mitochondrial Peroxiredoxins and ROS in Cancer Development and Progression. *International journal of molecular sciences* 20.
- Jadavji NM, Emmerson JT, MacFarlane AJ, Willmore WG, Smith PD (2017) B-vitamin and choline supplementation increases neuroplasticity and recovery after stroke. *Neurobiol Dis* 103:89-100.
- Jalali-Yazdi F, Chowdhury S, Yoshioka C, Gouaux E (2018) Mechanisms for Zinc and Proton Inhibition of the GluN1/GluN2A NMDA Receptor. *Cell* 175:1520-1532 e1515.
- Jarosz M, Olbert M, Wyszogrodzka G, Mlyniec K, Librowski T (2017) Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF-kappaB signaling. *Inflammopharmacology* 25:11-24.
- Ji Y, Chae S, Lee HK, Park I, Kim C, Ismail T, Kim Y, Park JW, Kwon OS, Kang BS, Lee DS, Bae JS, Kim SH, Moon PG, Baek MC, Park MJ, Kil IS, Rhee SG, Kim J, Huh YH, Shin JY, Min KJ, Kwon TK,

- Jang DG, Woo HA, Kwon T, Park TJ, Lee HS (2019) Peroxiredoxin5 Controls Vertebrate Ciliogenesis by Modulating Mitochondrial Reactive Oxygen Species. *Antioxidants & redox signaling* 30:1731-1745.
- Jiang H, Shi QQ, Ge LY, Zhuang QF, Xue D, Xu HY, He XZ (2019) Selenoprotein M stimulates the proliferative and metastatic capacities of renal cell carcinoma through activating the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cancer medicine* 8:4836-4844.
- Jiang X, Jiang H, Shen Z, Wang X (2014) Activation of mitochondrial protease OMA1 by Bax and Bak promotes cytochrome c release during apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111:14782-14787.
- Jiang Y, Li L, Tan X, Liu B, Zhang Y, Li C (2015) miR-210 mediates vagus nerve stimulation-induced antioxidant stress and anti-apoptosis reactions following cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of neurochemistry* 134:173-181.
- Jin R, Yang G, Li G (2010) Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *Journal of leukocyte biology* 87:779-789.
- Jin RC, Loscalzo J (2010) Vascular Nitric Oxide: Formation and Function. *J Blood Med* 2010:147-162.
- Joardar N, Sen A, Rath J, Babu SPS (2021) Inhibition of thioredoxin reductase (TrxR) triggers oxidative stress-induced apoptosis in filarial nematode *Setaria cervi* channelized through ASK-1-p38 mediated caspase activation. *Molecular and biochemical parasitology* 242:111364.
- Johnson AB, Denko N, Barton MC (2008) Hypoxia induces a novel signature of chromatin modifications and global repression of transcription. *Mutation research* 640:174-179.
- Jones LL, Tuszynski MH (2002) Spinal cord injury elicits expression of keratan sulfate proteoglycans by macrophages, reactive microglia, and oligodendrocyte progenitors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22:4611-4624.
- Jurynec MJ, Xia R, Mackrill JJ, Gunther D, Crawford T, Flanigan KM, Abramson JJ, Howard MT, Grunwald DJ (2008) Selenoprotein N is required for ryanodine receptor calcium release channel activity in human and zebrafish muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:12485-12490.
- Just-Borras L, Hurtado E, Cilleros-Mane V, Biondi O, Charbonnier F, Tomas M, Garcia N, Tomas J, Lanuza MA (2020) Running and swimming prevent the deregulation of the BDNF/TrkB neurotrophic signalling at the neuromuscular junction in mice with amyotrophic lateral sclerosis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 77:3027-3040.
- Kalkavan H, Green DR (2018) MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business. *Cell Death Differ* 25:46-55.
- Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N (2015) The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. *Physiol Rev* 95:749-784.
- Kansal SK, Jyoti U, Sharma S, Kaura A, Deshmukh R, Goyal S (2015) Effect of zinc supplements in the attenuated cardioprotective effect of ischemic preconditioning in hyperlipidemic rat heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 388:635-641.
- Kauppinen TM, Higashi Y, Suh SW, Escartin C, Nagasawa K, Swanson RA (2008) Zinc triggers microglial activation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28:5827-5835.
- Kawabori M, Yenari MA (2015) Inflammatory responses in brain ischemia. *Curr Med Chem* 22:1258-1277.
- Khan MZ (2016) A possible significant role of zinc and GPR39 zinc sensing receptor in Alzheimer disease and epilepsy. *Biomed Pharmacother* 79:263-272.

- Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF (2017) Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci* 38:1167-1186.
- Khoso PA, Yang Z, Liu C, Li S (2015) Selenium Deficiency Downregulates Selenoproteins and Suppresses Immune Function in Chicken Thymus. *Biol Trace Elem Res* 167:48-55.
- Kim MH, Seong JB, Huh JW, Bae YC, Lee HS, Lee DS (2020) Peroxiredoxin 5 ameliorates obesity-induced non-alcoholic fatty liver disease through the regulation of oxidative stress and AMP-activated protein kinase signaling. *Redox biology* 28:101315.
- King JC (2011) Zinc: an essential but elusive nutrient. *Am J Clin Nutr* 94:679S-684S.
- Kirisattayakul W, Wattanathorn J, Tong-Un T, Muchimapura S, Wannanon P, Jittiwat J (2013) Cerebroprotective effect of *Moringa oleifera* against focal ischemic stroke induced by middle cerebral artery occlusion. *Oxid Med Cell Longev* 2013:951415.
- Kobashi S, Terashima T, Katagi M, Nakae Y, Okano J, Suzuki Y, Urushitani M, Kojima H (2020) Transplantation of M2-Deviated Microglia Promotes Recovery of Motor Function after Spinal Cord Injury in Mice. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 28:254-265.
- Koh JY, Suh SW, Gwag BJ, He YY, Hsu CY, Choi DW (1996) The role of zinc in selective neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Science* 272:1013-1016.
- Kong Y, Li S, Cheng X, Ren H, Zhang B, Ma H, Li M, Zhang XA (2020) Brain Ischemia Significantly Alters microRNA Expression in Human Peripheral Blood Natural Killer Cells. *Frontiers in immunology* 11:759.
- Kornack DR, Rakic P (2001) The generation, migration, and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:4752-4757.
- Kreuz S, Fischle W (2016) Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease. *Epigenomics* 8:843-862.
- Kroemer G, Reed JC (2000) Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 6:513-519.
- Kucukdereli H, Allen NJ, Lee AT, Feng A, Ozlu MI, Conatser LM, Chakraborty C, Workman G, Weaver M, Sage EH, Barres BA, Eroglu C (2011) Control of excitatory CNS synaptogenesis by astrocyte-secreted proteins Hevin and SPARC. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:E440-449.
- Kwon I, Song W, Jang Y, Choi MD, Vinci DM, Lee Y (2020) Elevation of hepatic autophagy and antioxidative capacity by endurance exercise is associated with suppression of apoptosis in mice. *Annals of hepatology* 19:69-78.
- Labunskyy VM, Hatfield DL, Gladyshev VN (2014) Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. *Physiol Rev* 94:739-777.
- Lafemina MJ, Sheldon RA, Ferriero DM (2006) Acute hypoxia-ischemia results in hydrogen peroxide accumulation in neonatal but not adult mouse brain. *Pediatr Res* 59:680-683.
- Lagos-Cabre R, Alvarez A, Kong M, Burgos-Bravo F, Cardenas A, Rojas-Mancilla E, Perez-Nunez R, Herrera-Molina R, Rojas F, Schneider P, Herrera-Marschitz M, Quest AFG, van Zundert B, Leyton L (2017) α V β 3 Integrin regulates astrocyte reactivity. *J Neuroinflammation* 14:194.
- Lauro C, Chece G, Monaco L, Antonangeli F, Peruzzi G, Rinaldo S, Paone A, Cutruzzola F, Limatola C (2019) Fractalkine Modulates Microglia Metabolism in Brain Ischemia. *Frontiers in cellular neuroscience* 13:414.
- Lawson LJ, Perry VH, Dri P, Gordon S (1990) Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* 39:151-170.

- Lee BC, Lee SG, Choo MK, Kim JH, Lee HM, Kim S, Fomenko DE, Kim HY, Park JM, Gladyshev VN (2017) Selenoprotein MsrB1 promotes anti-inflammatory cytokine gene expression in macrophages and controls immune response in vivo. *Scientific reports* 7:5119.
- Lee HJ, Park JS, Yoo HJ, Lee HM, Lee BC, Kim JH (2020a) The Selenoprotein MsrB1 Instructs Dendritic Cells to Induce T-Helper 1 Immune Responses. *Antioxidants* 9.
- Lee SS, Kim CJ, Shin MS, Lim BV (2020b) Treadmill exercise ameliorates memory impairment through ERK-Akt-CREB-BDNF signaling pathway in cerebral ischemia gerbils. *Journal of exercise rehabilitation* 16:49-57.
- Lei Z, Tian D, Zhang C, Zhao S, Su M (2016) Clinicopathological and prognostic significance of GPX2 protein expression in esophageal squamous cell carcinoma. *BMC cancer* 16:410.
- Li F, Abuarab N, Sivaprasadarao A (2016) Reciprocal regulation of actin cytoskeleton remodelling and cell migration by Ca²⁺ and Zn²⁺: role of TRPM2 channels. *J Cell Sci* 129:2016-2029.
- Li H, Zhang N, Lin HY, Yu Y, Cai QY, Ma L, Ding S (2014) Histological, cellular and behavioral assessments of stroke outcomes after photothrombosis-induced ischemia in adult mice. *BMC Neurosci* 15:58.
- Li P, Murphy TH (2008) Two-photon imaging during prolonged middle cerebral artery occlusion in mice reveals recovery of dendritic structure after reperfusion. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 28:11970-11979.
- Li Q, Michaud M, Shankar R, Canosa S, Schwartz M, Madri JA (2017) MMP-2: A modulator of neuronal precursor activity and cognitive and motor behaviors. *Behavioural brain research* 333:74-82.
- Li S, Lu G, Wang D, He JL, Zuo L, Wang H, Gu ZT, Zhou JS, Yan FL, Deng QW (2020) MicroRNA-4443 regulates monocyte activation by targeting tumor necrosis factor receptor associated factor 4 in stroke-induced immunosuppression. *European journal of neurology* 27:1625-1637.
- Li X, Wang L, Zhang S, Hu X, Yang H, Xi L (2019) Timing-Dependent Protection of Swimming Exercise against d-Galactose-Induced Aging-Like Impairments in Spatial Learning/Memory in Rats. *Brain sciences* 9.
- Li Z, Song Y, He T, Wen R, Li Y, Chen T, Huang S, Wang Y, Tang Y, Shen F, Tian HL, Yang GY, Zhang Z (2021) M2 microglial small extracellular vesicles reduce glial scar formation via the miR-124/STAT3 pathway after ischemic stroke in mice. *Theranostics* 11:1232-1248.
- Liang Z, Chi YJ, Lin GQ, Luo SH, Jiang QY, Chen YK (2018) MiRNA-26a promotes angiogenesis in a rat model of cerebral infarction via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathway. *European review for medical and pharmacological sciences* 22:3485-3492.
- Liao S, Wu J, Liu R, Wang S, Luo J, Yang Y, Qin Y, Li T, Zheng X, Song J, Zhao X, Xiao C, Zhang Y, Bian L, Jia P, Bai Y, Zheng X (2020) A novel compound DBZ ameliorates neuroinflammation in LPS-stimulated microglia and ischemic stroke rats: Role of Akt(Ser473)/GSK3beta(Ser9)-mediated Nrf2 activation. *Redox biology* 36:101644.
- Liaudet L, Vassalli G, Pacher P (2009) Role of peroxynitrite in the redox regulation of cell signal transduction pathways. *Frontiers in bioscience* 14:4809-4814.
- Lim DC, Brady DC, Soans R, Kim EY, Valverde L, Keenan BT, Guo X, Kim WY, Park MJ, Galante R, Shackelford JA, Pack AI (2016) Different cyclical intermittent hypoxia severities have different effects on hippocampal microvasculature. *J Appl Physiol* (1985) 121:78-88.
- Lindley RI, Wardlaw JM, Sandercock PA, Rimdusid P, Lewis SC, Signorini DF, Ricci S (2004) Frequency and risk factors for spontaneous hemorrhagic transformation of cerebral infarction. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 13:235-246.

- Liu C, Hong K, Chen H, Niu Y, Duan W, Liu Y, Ji Y, Deng B, Li Y, Li Z, Wen D, Li C (2019) Evidence for a protective role of the CX3CL1/CX3CR1 axis in a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Biological chemistry* 400:651-661.
- Liu H, Gu H, Gu L, Liao J, Yang X, Wu C, Ran X, Feng X, Zuo S, Li H (2021) CX3CR1 regulates angiogenesis and activation of pro-angiogenic factors and triggers macrophage accumulation in experimental hepatopulmonary syndrome model. *Gastroenterologia y hepatologia* 44:115-124.
- Liu L, Liu C, Hou L, Lv J, Wu F, Yang X, Ren S, Ji W, Wang M, Chen L (2015a) Protection against ischemia/reperfusion-induced renal injury by cotreatment with erythropoietin and sodium selenite. *Mol Med Rep* 12:7933-7940.
- Liu M, Zhang C, Liu W, Luo P, Zhang L, Wang Y, Wang Z, Fei Z (2015b) A novel rat model of blast-induced traumatic brain injury simulating different damage degree: implications for morphological, neurological, and biomarker changes. *Front Cell Neurosci* 9:168.
- Liu MX, Luo L, Fu JH, He JY, Chen MY, He ZJ, Jia J (2022) Exercise-induced neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion injury is mediated via alleviating inflammasome-induced pyroptosis. *Experimental neurology* 349:113952.
- Liu PS, Wang H, Li X, Chao T, Teav T, Christen S, Di Conza G, Cheng WC, Chou CH, Vavakova M, Muret C, Debackere K, Mazzone M, Huang HD, Fendt SM, Ivanisevic J, Ho PC (2017a) alpha-ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming. *Nature immunology* 18:985-994.
- Liu X, Liu J, Zhao S, Zhang H, Cai W, Cai M, Ji X, Leak RK, Gao Y, Chen J, Hu X (2016) Interleukin-4 Is Essential for Microglia/Macrophage M2 Polarization and Long-Term Recovery After Cerebral Ischemia. *Stroke* 47:498-504.
- Liu YC, Yang YR, Tsai YA, Wang RY (2017b) Cognitive and motor dual task gait training improve dual task gait performance after stroke - A randomized controlled pilot trial. *Scientific reports* 7:4070.
- Lu SC (2013) Glutathione synthesis. *Biochimica et biophysica acta* 1830:3143-3153.
- Luo L, Li C, Deng Y, Wang Y, Meng P, Wang Q (2019) High-Intensity Interval Training on Neuroplasticity, Balance between Brain-Derived Neurotrophic Factor and Precursor Brain-Derived Neurotrophic Factor in Poststroke Depression Rats. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 28:672-682.
- Maehara K, Uekawa N, Isoke K (2002) Effects of histone acetylation on transcriptional regulation of manganese superoxide dismutase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 295:187-192.
- Magnusson JP, Goritz C, Tatarishvili J, Dias DO, Smith EM, Lindvall O, Kokaia Z, Frisen J (2014) A latent neurogenic program in astrocytes regulated by Notch signaling in the mouse. *Science* 346:237-241.
- Mao HF, Xie J, Chen JQ, Tang CF, Chen W, Zhou BC, Chen R, Qu HL, Wu CZ (2017) Aerobic exercise combined with huwentoxin-I mitigates chronic cerebral ischemia injury. *Neural regeneration research* 12:596-602.
- Mao M, Xu Y, Zhang XY, Yang L, An XB, Qu Y, Chai YN, Wang YR, Li TT, Ai J (2020) MicroRNA-195 prevents hippocampal microglial/macrophage polarization towards the M1 phenotype induced by chronic brain hypoperfusion through regulating CX3CL1/CX3CR1 signaling. *Journal of neuroinflammation* 17:244.
- Marais L, Stein DJ, Daniels WM (2009) Exercise increases BDNF levels in the striatum and decreases depressive-like behavior in chronically stressed rats. *Metabolic brain disease* 24:587-597.
- Marcelino TB, Longoni A, Kudo KY, Stone V, Rech A, de Assis AM, Scherer EB, da Cunha MJ, Wyse AT, Pettenuzzo LF, Leipnitz G, Matte C (2013) Evidences that maternal swimming exercise

- improves antioxidant defenses and induces mitochondrial biogenesis in the brain of young Wistar rats. *Neuroscience* 246:28-39.
- Marchica V, Toscani D, Corcione A, Bolzoni M, Storti P, Vescovini R, Ferretti E, Dalla Palma B, Vicario E, Accardi F, Mancini C, Martella E, Ribatti D, Vacca A, Pistoia V, Giuliani N (2019) Bone Marrow CX3CL1/Fractalkine is a New Player of the Pro-Angiogenic Microenvironment in Multiple Myeloma Patients. *Cancers* 11.
- Martel G, Hevi C, Kane-Goldsmith N, Shumyatsky GP (2011) Zinc transporter ZnT3 is involved in memory dependent on the hippocampus and perirhinal cortex. *Behavioural brain research* 223:233-238.
- Martinez-Ruiz A, Araujo IM, Izquierdo-Alvarez A, Hernansanz-Agustin P, Lamas S, Serrador JM (2013) Specificity in S-nitrosylation: a short-range mechanism for NO signaling? *Antioxidants & redox signaling* 19:1220-1235.
- Massaad CA, Klann E (2011) Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. *Antioxidants & redox signaling* 14:2013-2054.
- Matsushita K, Kitagawa K, Matsuyama T, Ohtsuki T, Taguchi A, Mandai K, Mabuchi T, Yagita Y, Yanagihara T, Matsumoto M (1996) Effect of systemic zinc administration on delayed neuronal death in the gerbil hippocampus. *Brain Res* 743:362-365.
- Medvedeva YV, Ji SG, Yin HZ, Weiss JH (2017) Differential Vulnerability of CA1 versus CA3 Pyramidal Neurons After Ischemia: Possible Relationship to Sources of Zn²⁺ Accumulation and Its Entry into and Prolonged Effects on Mitochondria. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 37:726-737.
- Men L, Yao J, Yu S, Li Y, Cui S, Jin S, Zhang G, Ren D, Du J (2020) Selenoprotein S regulates adipogenesis through IRE1alpha-XBP1 pathway. *The Journal of endocrinology* 244:431-443.
- Mendelev N, Mehta SL, Witherspoon S, He Q, Sexton JZ, Li PA (2011) Upregulation of human selenoprotein H in murine hippocampal neuronal cells promotes mitochondrial biogenesis and functional performance. *Mitochondrion* 11:76-82.
- Mendelev N, Witherspoon S, Li PA (2009) Overexpression of human selenoprotein H in neuronal cells ameliorates ultraviolet irradiation-induced damage by modulating cell signaling pathways. *Experimental neurology* 220:328-334.
- Meng C, Qian J, Xu Z, Liu J, Shan W, Zhu P, Zhu W, Miao J, Ling CC, Ling Y (2020) Efficacy of novel methylenecyclohexenone derivatives as TrxR inhibitors in suppressing the proliferation and metastasis of human cancer cells. *Bioorganic chemistry* 105:104360.
- Mesulam M-M (2009) Acetylcholine Neurotransmission in CNS. In: *Encyclopedia of Neuroscience*, pp 1-4: Elsevier Ltd.
- Miao L, St Clair DK (2009) Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free radical biology & medicine* 47:344-356.
- Mimura I, Nangaku M, Kanki Y, Tsutsumi S, Inoue T, Kohro T, Yamamoto S, Fujita T, Shimamura T, Suehiro J, Taguchi A, Kobayashi M, Tanimura K, Inagaki T, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Aburatani H, Kodama T, Wada Y (2012) Dynamic change of chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of hypoxia-inducible factor 1 and KDM3A. *Mol Cell Biol* 32:3018-3032.
- Ming GL, Song H (2011) Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70:687-702.
- Mirescu C, Peters JD, Gould E (2004) Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nat Neurosci* 7:841-846.
- Miyaguchi K (2004) Localization of selenium-binding protein at the tips of rapidly extending protrusions. *Histochem Cell Biol* 121:371-376.

- Mizutani K, Sonoda S, Karasawa N, Yamada K, Shimpo K, Chihara T, Takeuchi T, Hasegawa Y, Kubo KY (2013) Effects of exercise after focal cerebral cortex infarction on basal ganglion. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 34:861-867.
- Moradi MN, Karimi J, Khodadadi I, Amiri I, Karami M, Saidijam M, Vatannejad A, Tavilani H (2018) Evaluation of the p53 and Thioredoxin reductase in sperm from asthenozoospermic males in comparison to normozoospermic males. *Free radical biology & medicine* 116:123-128.
- Morioka T, Kalehua AN, Streit WJ (1993) Characterization of microglial reaction after middle cerebral artery occlusion in rat brain. *J Comp Neurol* 327:123-132.
- Mrak RE, Griffin WS (2005) Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiol Aging* 26:349-354.
- Muñoz-Collazos M (2001) Enfermedad cerebrovascular.
- Na J, Shin JY, Jeong H, Lee JY, Kim BJ, Kim WS, Yune TY, Ju BG (2017) JMJD3 and NF-kappaB-dependent activation of Notch1 gene is required for keratinocyte migration during skin wound healing. *Scientific reports* 7:6494.
- Nikoletopoulou V, Markaki M, Palikaras K, Tavernarakis N (2013) Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochimica et biophysica acta* 1833:3448-3459.
- NINDS (2019).
- Ning YB, Du ZQ (2015) Role of c-Jun N-terminal kinase activation in apoptosis induced by removal of the growth factors. *Cell Biol Int* 39:577-583.
- Noda M, Doi Y, Liang J, Kawanokuchi J, Sonobe Y, Takeuchi H, Mizuno T, Suzumura A (2011) Fractalkine attenuates excitotoxicity via microglial clearance of damaged neurons and antioxidant enzyme heme oxygenase-1 expression. *The Journal of biological chemistry* 286:2308-2319.
- Nonato LF, Rocha-Vieira E, Tossige-Gomes R, Soares AA, Soares BA, Freitas DA, Oliveira MX, Mendonca VA, Lacerda AC, Massensini AR, Leite HR (2016) Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not non-enzymatic antioxidant defenses in the rat brain. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 49:e5310.
- Nordberg J, Arner ES (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology & medicine* 31:1287-1312.
- Novoselov SV, Kryukov GV, Xu XM, Carlson BA, Hatfield DL, Gladyshev VN (2007) Selenoprotein H is a nucleolar thioredoxin-like protein with a unique expression pattern. *The Journal of biological chemistry* 282:11960-11968.
- Nyquist P, Georgakis MK (2019) Remote ischemic preconditioning effects on brain vasculature. *Neurology* 93:15-16.
- O'Kane D, Gibson L, May CN, du Plessis J, Shulkes A, Baldwin GS, Bolton D, Ischia J, Patel O (2018) Zinc preconditioning protects against renal ischaemia reperfusion injury in a preclinical sheep large animal model. *Biometals* 31:821-834.
- Olivares H, Juárez, AE, García, GF (2015) Hippocampus: neurogenesis and learning. *Rev Med UV* 1:20-18.
- Orio M, Kunz A, Kawano T, Anrather J, Zhou P, Iadecola C (2007) Lipopolysaccharide induces early tolerance to excitotoxicity via nitric oxide and cGMP. *Stroke* 38:2812-2817.
- Oster O, Dahm M, Oelert H, Prellwitz W (1989) Concentrations of some trace elements (Se, Zn, Cu, Fe, Mg, K) in blood and heart tissue of patients with coronary heart disease. *Clinical chemistry* 35:851-856.
- Oteiza PI (2012) Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free radical biology & medicine* 53:1748-1759.

- Otsuka S, Sakakima H, Tani A, Nakanishi K, Takada S, Norimatsu K, Maejima H, Maruyama I (2021) Effects of detraining on preconditioning exercise-induced neuroprotective potential after ischemic stroke in rats. *Brain structure & function* 226:2169-2180.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews* 87:315-424.
- Pamplona-Santos D, Lamarao-Vieira K, Nascimento PC, Bittencourt LO, Correa MG, Dos Santos SM, Cartagenes SC, Fernandes LMP, Monteiro MC, Maia CSF, Lima RR (2019) Aerobic Physical Exercise as a Neuroprotector Strategy for Ethanol Binge-Drinking Effects in the Hippocampus and Systemic Redox Status in Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2019:2415243.
- Pan G, Cheng J, Shen W, Lin Y, Zhu A, Jin L, Xie Q, Zhu M, Liu C, Tu F, Chen X (2021) Intensive treadmill training promotes cognitive recovery after cerebral ischemia-reperfusion in juvenile rats. *Behavioural brain research* 401:113085.
- Pan J, Qu M, Li Y, Wang L, Zhang L, Wang Y, Tang Y, Tian HL, Zhang Z, Yang GY (2020) MicroRNA-126-3p/-5p Overexpression Attenuates Blood-Brain Barrier Disruption in a Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion. *Stroke* 51:619-627.
- Papadopoulos CM, Tsai SY, Cheatwood JL, Bollnow MR, Kolb BE, Schwab ME, Kartje GL (2006) Dendritic plasticity in the adult rat following middle cerebral artery occlusion and Nogo-a neutralization. *Cereb Cortex* 16:529-536.
- Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB (2005) The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 28:377-401.
- Patrushev N, Seidel-Rogol B, Salazar G (2012) Angiotensin II requires zinc and downregulation of the zinc transporters ZnT3 and ZnT10 to induce senescence of vascular smooth muscle cells. *PLoS One* 7:e33211.
- Penas C, Navarro X (2018) Epigenetic Modifications Associated to Neuroinflammation and Neuropathic Pain After Neural Trauma. *Frontiers in cellular neuroscience* 12:158.
- Peng D, Belkhiri A, Hu T, Chaturvedi R, Asim M, Wilson KT, Zaika A, El-Rifai W (2012) Glutathione peroxidase 7 protects against oxidative DNA damage in oesophageal cells. *Gut* 61:1250-1260.
- Peng DF, Hu TL, Soutto M, Belkhiri A, El-Rifai W (2014) Glutathione Peroxidase 7 Suppresses Bile Salt-Induced Expression of Pro-Inflammatory Cytokines in Barrett's Carcinogenesis. *Journal of Cancer* 5:510-517.
- Peng H, Geil Nickell CR, Chen KY, McClain JA, Nixon K (2017) Increased expression of M1 and M2 phenotypic markers in isolated microglia after four-day binge alcohol exposure in male rats. *Alcohol* 62:29-40.
- Perea G, Navarrete M, Araque A (2009) Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci* 32:421-431.
- Perez S, Talens-Visconti R, Rius-Perez S, Finamor I, Sastre J (2017) Redox signaling in the gastrointestinal tract. *Free radical biology & medicine* 104:75-103.
- Peters MM, Hill KE, Burk RF, Weeber EJ (2006) Altered hippocampus synaptic function in selenoprotein P deficient mice. *Mol Neurodegener* 1:12.
- Piantadosi CA, Withers CM, Bartz RR, MacGarvey NC, Fu P, Sweeney TE, Welty-Wolf KE, Suliman HB (2011) Heme oxygenase-1 couples activation of mitochondrial biogenesis to anti-inflammatory cytokine expression. *The Journal of biological chemistry* 286:16374-16385.
- Piechal A, Blecharz-Klin K, Pyrzanowska J, Widy-Tyszkiewicz E (2012) Maternal zinc supplementation improves spatial memory in rat pups. *Biol Trace Elem Res* 147:299-308.

- Piechal A, Blecharz-Klin K, Pyrzanowska J, Widy-Tyszkiewicz E (2016) Influence of Long-Term Zinc Administration on Spatial Learning and Exploratory Activity in Rats. *Biol Trace Elem Res* 172:408-418.
- Pinzon-Parra CA, Coatl-Cuaya H, Diaz A, Guevara J, Rodriguez-Moreno A, Flores G (2022) Long-term effect of neonatal antagonism of ionotropic glutamate receptors on dendritic spines and cognitive function in rats. *Journal of chemical neuroanatomy* 119:102054.
- Piper M, Barry G, Hawkins J, Mason S, Lindwall C, Little E, Sarkar A, Smith AG, Moldrich RX, Boyle GM, Tole S, Gronostajski RM, Bailey TL, Richards LJ (2010) NFIA controls telencephalic progenitor cell differentiation through repression of the Notch effector Hes1. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 30:9127-9139.
- Plum LM, Rink L, Haase H (2010) The essential toxin: impact of zinc on human health. *Int J Environ Res Public Health* 7:1342-1365.
- Pochwat B, Nowak G, Szewczyk B (2015) Relationship between Zinc (Zn (2+)) and Glutamate Receptors in the Processes Underlying Neurodegeneration. *Neural Plast* 2015:591563.
- Polyzos SA, Kountouras J, Goulas A, Duntas L (2020) Selenium and selenoprotein P in nonalcoholic fatty liver disease. *Hormones* 19:61-72.
- Pollard PJ, Loenarz C, Mole DR, McDonough MA, Gleadle JM, Schofield CJ, Ratcliffe PJ (2008) Regulation of Jumonji-domain-containing histone demethylases by hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α . *The Biochemical journal* 416:387-394.
- Prasad R, Chan LF, Hughes CR, Kaski JP, Kowalczyk JC, Savage MO, Peters CJ, Nathwani N, Clark AJ, Storr HL, Metherell LA (2014) Thioredoxin Reductase 2 (TXNRD2) mutation associated with familial glucocorticoid deficiency (FGD). *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 99:E1556-1563.
- Procacci P, Magnaghi V, Pannese E (2008) Perineuronal satellite cells in mouse spinal ganglia express the gap junction protein connexin43 throughout life with decline in old age. *Brain research bulletin* 75:562-569.
- Przanowski P, Dabrowski M, Ellert-Miklaszewska A, Kloss M, Mieczkowski J, Kaza B, Ronowicz A, Hu F, Piotrowski A, Kettenmann H, Komorowski J, Kaminska B (2014) The signal transducers Stat1 and Stat3 and their novel target Jmjd3 drive the expression of inflammatory genes in microglia. *Journal of molecular medicine* 92:239-254.
- Pulido G, Trevino S, Brambila E, Vazquez-Roque R, Moreno-Rodriguez A, Pena Rosas U, Moran-Perales JL, Handal Silva A, Guevara J, Flores G, Diaz A (2019) The Administration of Cadmium for 2, 3 and 4 Months Causes a Loss of Recognition Memory, Promotes Neuronal Hypotrophy and Apoptosis in the Hippocampus of Rats. *Neurochemical research* 44:485-497.
- Rabinovich D, Smadi Y (2020) Zinc. In: *StatPearls Treasure Island (FL)*.
- Raedschelders K, Ansley DM, Chen DD (2012) The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. *Pharmacol Ther* 133:230-255.
- Rahman I, Kode A, Biswas SK (2006) Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat Protoc* 1:3159-3165.
- Rahman I, Smith CA, Antonicelli F, MacNee W (1998) Characterisation of gamma-glutamylcysteine synthetase-heavy subunit promoter: a critical role for AP-1. *FEBS Lett* 427:129-133.
- Ramírez-Alvarado G T-AB (2016) Epidemiología de la enfermedad vascular cerebral en México: Ausencia de registro de las secuelas cognitivas. *Revista Mexicana de Neurociencia* 17:59-70.

- Rao K, Sethi K, Ischia J, Gibson L, Galea L, Xiao L, Yim M, Chang M, Papa N, Bolton D, Shulkes A, Baldwin GS, Patel O (2017) Protective effect of zinc preconditioning against renal ischemia reperfusion injury is dose dependent. *PLoS one* 12:e0180028.
- Rayman MP (2012) Selenium and human health. *Lancet* 379:1256-1268.
- Reis R, Charehsaz M, Sipahi H, Ekici AI, Macit C, Akkaya H, Aydin A (2017) Energy Drink Induced Lipid Peroxidation and Oxidative Damage in Rat Liver and Brain When Used Alone or Combined with Alcohol. *J Food Sci* 82:1037-1043.
- Rhoads DE, Contreras C, Fathalla S (2012) Brain Levels of Catalase Remain Constant through Strain, Developmental, and Chronic Alcohol Challenges. *Enzyme Res* 2012:572939.
- Ribak CE, Shapiro LA (2007) Ultrastructure and synaptic connectivity of cell types in the adult rat dentate gyrus. *Progress in brain research* 163:155-166.
- Rivera FJ, Kandasamy M, Couillard-Despres S, Caioni M, Sanchez R, Huber C, Weidner N, Bogdahn U, Aigner L (2008) Oligodendrogenesis of adult neural progenitors: differential effects of ciliary neurotrophic factor and mesenchymal stem cell derived factors. *J Neurochem* 107:832-843.
- Roberts BR, Tainer JA, Getzoff ED, Malencik DA, Anderson SR, Bomben VC, Meyers KR, Karplus PA, Beckman JS (2007) Structural characterization of zinc-deficient human superoxide dismutase and implications for ALS. *J Mol Biol* 373:877-890.
- Rodriguez-Rodriguez A, Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Carrillo-Vico A (2014) Oxidative stress in traumatic brain injury. *Curr Med Chem* 21:1201-1211.
- Rodriguez J, Lazebnik Y (1999) Caspase-9 and APAF-1 form an active holoenzyme. *Genes Dev* 13:3179-3184.
- Roman M, Jitaru P, Barbante C (2014) Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics : integrated biometal science* 6:25-54.
- Rusetskaya NY, Fedotov IV, Koftina VA, Borodulin VB (2019) [Selenium compounds in redox regulation of inflammation and apoptosis]. *Biomed Khim* 65:165-179.
- Sabedra Sousa FS, Birmann PT, Bampi SR, Fronza MG, Balaguez R, Alves D, Leite MR, Nogueira CW, Bruning CA, Savegnago L (2019) Lipopolysaccharide-induced depressive-like, anxiogenic-like and hyperalgesic behavior is attenuated by acute administration of alpha-(phenylselanyl) acetophenone in mice. *Neuropharmacology* 146:128-137.
- Sakata H, Niizuma K, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Katsu M, Narasimhan P, Maier CM, Nishiyama Y, Chan PH (2012) Minocycline-preconditioned neural stem cells enhance neuroprotection after ischemic stroke in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32:3462-3473.
- Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A (2016) Age-related changes in AMPK activation: Role for AMPK phosphatases and inhibitory phosphorylation by upstream signaling pathways. *Ageing Res Rev* 28:15-26.
- Salud Sd (2018) Enfermedades no Transmisibles. Situación y Propuestas de Acción: Perspectiva Desde la Experiencia de México.
- Sanai N, Tramontin AD, Quinones-Hinojosa A, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, Lawton MT, McDermott MW, Parsa AT, Manuel-Garcia Verdugo J, Berger MS, Alvarez-Buylla A (2004) Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature* 427:740-744.
- Sanches EF, Dos Santos TM, Odorczyk F, Untertriefallner H, Rezena E, Hoepfer E, Avila T, Martini AP, Venturin GT, da Costa JC, Greggio S, Netto CA, Wyse AT (2021) Pregnancy swimming prevents early brain mitochondrial dysfunction and causes sex-related long-term neuroprotection following neonatal hypoxia-ischemia in rats. *Experimental neurology* 339:113623.

- Schmidt-Kastner R, Hossmann KA (1988) Distribution of ischemic neuronal damage in the dorsal hippocampus of rat. *Acta neuropathologica* 76:411-421.
- Schomburg L, Kohrle J (2008) On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. *Mol Nutr Food Res* 52:1235-1246.
- Schomburg L, Orho-Melander M, Struck J, Bergmann A, Melander O (2019) Selenoprotein-P Deficiency Predicts Cardiovascular Disease and Death. *Nutrients* 11.
- Schomburg L, Schweizer U (2009) Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. *Biochimica et biophysica acta* 1790:1453-1462.
- Schwarz K, Stesney JA, Foltz CM (1959) Relation between selenium traces in L-cystine and protection against dietary liver necrosis. *Metabolism* 8:88-90.
- Semple BD, Dixit S, Shultz SR, Boon WC, O'Brien TJ (2017) Sex-dependent changes in neuronal morphology and psychosocial behaviors after pediatric brain injury. *Behav Brain Res* 319:48-62.
- Setiyowati YD, Wang ST, Chen HM (2019) Thermotherapy Combined With Therapeutic Exercise Improves Muscle Strength and Depression in Patients With Ischemic Stroke. *Rehabilitation nursing : the official journal of the Association of Rehabilitation Nurses* 44:254-262.
- Shaffer J (2016) Neuroplasticity and Clinical Practice: Building Brain Power for Health. *Front Psychol* 7:1118.
- Sheridan GK, Wdowicz A, Pickering M, Watters O, Halley P, O'Sullivan NC, Mooney C, O'Connell DJ, O'Connor JJ, Murphy KJ (2014) CX3CL1 is up-regulated in the rat hippocampus during memory-associated synaptic plasticity. *Frontiers in cellular neuroscience* 8:233.
- Shi T, Yang Y, Zhang Z, Zhang L, Song J, Ping Y, Du X, Song G, Liu Q, Li N (2019) Loss of MsrB1 perturbs spatial learning and long-term potentiation/long-term depression in mice. *Neurobiology of learning and memory* 166:107104.
- Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H (2015) The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol* 89:289-317.
- Sies H (2017) Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox biology* 11:613-619.
- Silva-Gomez AB, Rojas D, Juarez I, Flores G (2003) Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. *Brain Res* 983:128-136.
- Siwek M, Dudek D, Paul IA, Sowa-Kucma M, Zieba A, Popik P, Pilc A, Nowak G (2009) Zinc supplementation augments efficacy of imipramine in treatment resistant patients: a double blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord* 118:187-195.
- Sloan SA, Barres BA (2014) Mechanisms of astrocyte development and their contributions to neurodevelopmental disorders. *Curr Opin Neurobiol* 27:75-81.
- Sofroniew MV, Vinters HV (2010) Astrocytes: biology and pathology. *Acta neuropathologica* 119:7-35.
- Sokolowski JD, Nobles SL, Heffron DS, Park D, Ravichandran KS, Mandell JW (2011) Brain-specific angiogenesis inhibitor-1 expression in astrocytes and neurons: implications for its dual function as an apoptotic engulfment receptor. *Brain Behav Immun* 25:915-921.
- Solovyev N (2020) Selenoprotein P and its potential role in Alzheimer's disease. *Hormones* 19:73-79.
- Solovyev N, Drobyshev E, Bjorklund G, Dubrovskii Y, Lysiuk R, Rayman MP (2018) Selenium, selenoprotein P, and Alzheimer's disease: is there a link? *Free radical biology & medicine* 127:124-133.

- Song Y, Li Z, He T, Qu M, Jiang L, Li W, Shi X, Pan J, Zhang L, Wang Y, Zhang Z, Tang Y, Yang GY (2019) M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124. *Theranostics* 9:2910-2923.
- Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Bostrom E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisen J (2013) Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153:1219-1227.
- Sprick JD, Mallet RT, Przyklenk K, Rickards CA (2019) Ischaemic and hypoxic conditioning: potential for protection of vital organs. *Exp Physiol* 104:278-294.
- Sreelatha A, Yee SS, Lopez VA, Park BC, Kinch LN, Pilch S, Servage KA, Zhang J, Jiou J, Karasiewicz-Urbanska M, Lobočka M, Grishin NV, Orth K, Kucharczyk R, Pawlowski K, Tomchick DR, Tagliabracchi VS (2018) Protein AMPylation by an Evolutionarily Conserved Pseudokinase. *Cell* 175:809-821 e819.
- Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, Mullins ME, Jaraki O, Michel T, Singel DJ, Loscalzo J (1992) S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89:444-448.
- Stanimirovic D, Satoh K (2000) Inflammatory mediators of cerebral endothelium: a role in ischemic brain inflammation. *Brain pathology* 10:113-126.
- Steinbrenner H, Alili L, Bilgic E, Sies H, Brenneisen P (2006) Involvement of selenoprotein P in protection of human astrocytes from oxidative damage. *Free radical biology & medicine* 40:1513-1523.
- Stowe AM, Altay T, Freie AB, Gidday JM (2011) Repetitive hypoxia extends endogenous neurovascular protection for stroke. *Annals of neurology* 69:975-985.
- Stradecki-Cohan HM, Youbi M, Cohan CH, Saul I, Garvin AA, Perez E, Dave KR, Wright CB, Sacco RL, Perez-Pinzon MA (2017) Physical Exercise Improves Cognitive Outcomes in 2 Models of Transient Cerebral Ischemia. *Stroke* 48:2306-2309.
- Stratoulis V, Venero JL, Tremblay ME, Joseph B (2019) Microglial subtypes: diversity within the microglial community. *EMBO J* 38:e101997.
- Sun L, Lv Y, Tian J, Yu T, Niu F, Zhang X, Du D (2019) Regular Swimming Exercise Attenuated Neuroma Pain in Rats: Involvement of Leptin and Adiponectin. *The journal of pain* 20:1112-1124.
- Sutherland M, Shankaranarayanan P, Schewe T, Nigam S (2001) Evidence for the presence of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in human platelets: implications for its involvement in the regulatory network of the 12-lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism. *The Biochemical journal* 353:91-100.
- System UH (2019).
- Szewczyk B (2013) Zinc homeostasis and neurodegenerative disorders. *Front Aging Neurosci* 5:33.
- Szewczyk B, Poleszak E, Sowa-Kucma M, Wrobel A, Slotwinski S, Listos J, Wlaz P, Cichy A, Siwek A, Dybala M, Golembiowska K, Pilc A, Nowak G (2010) The involvement of NMDA and AMPA receptors in the mechanism of antidepressant-like action of zinc in the forced swim test. *Amino Acids* 39:205-217.
- Szewczyk B, Sowa M, Czupryn A, Wieronska JM, Branski P, Sadlik K, Opoka W, Piekoszewski W, Smialowska M, Skangiel-Kramska J, Pilc A, Nowak G (2006) Increase in synaptic hippocampal zinc concentration following chronic but not acute zinc treatment in rats. *Brain Res* 1090:69-75.
- Tang Y, Zhang Y, Zheng M, Chen J, Chen H, Liu N (2018) Effects of treadmill exercise on cerebral angiogenesis and MT1-MMP expression after cerebral ischemia in rats. *Brain and behavior* 8:e01079.

- Tang Z, Gan Y, Liu Q, Yin JX, Liu Q, Shi J, Shi FD (2014) CX3CR1 deficiency suppresses activation and neurotoxicity of microglia/macrophage in experimental ischemic stroke. *Journal of neuroinflammation* 11:26.
- Tao T, Liu GJ, Shi X, Zhou Y, Lu Y, Gao YY, Zhang XS, Wang H, Wu LY, Chen CL, Zhuang Z, Li W, Hang CH (2019) DHEA Attenuates Microglial Activation via Induction of JMJD3 in Experimental Subarachnoid Haemorrhage. *Journal of neuroinflammation* 16:243.
- Tejero J, Shiva S, Gladwin MT (2019) Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev* 99:311-379.
- Terao Y, Ohta H, Oda A, Nakagaito Y, Kiyota Y, Shintani Y (2009) Macrophage inflammatory protein-3 α plays a key role in the inflammatory cascade in rat focal cerebral ischemia. *Neurosci Res* 64:75-82.
- Tian J, Yu T, Xu Y, Pu S, Lv Y, Zhang X, Du D (2018) Swimming Training Reduces Neuroma Pain by Regulating Neurotrophins. *Medicine and science in sports and exercise* 50:54-61.
- Toda T, Gage FH (2018) Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell Tissue Res* 373:693-709.
- Tomas-Sanchez C, Blanco-Alvarez VM, Gonzalez-Barrios JA, Martinez-Fong D, Garcia-Robles G, Soto-Rodriguez G, Brambila E, Torres-Soto M, Gonzalez-Vazquez A, Aguilar-Peralta AK, Garate-Morales JL, Aguilar-Carrasco LA, Limon DI, Cebada J, Leon-Chavez BA (2016) Prophylactic Chronic Zinc Administration Increases Neuroinflammation in a Hypoxia-Ischemia Model. *J Immunol Res* 2016:4039837.
- Tomas-Sanchez C, Blanco-Alvarez VM, Martinez-Fong D, Gonzalez-Barrios JA, Gonzalez-Vazquez A, Aguilar-Peralta AK, Torres-Soto M, Soto-Rodriguez G, Limon ID, Brambila E, Millan-Perez-Pena L, Cebada J, Orozco-Barrios CE, Leon-Chavez BA (2018) Prophylactic Zinc and Therapeutic Selenium Administration Increases the Antioxidant Enzyme Activity in the Rat Temporoparietal Cortex and Improves Memory after a Transient Hypoxia-Ischemia. *Oxid Med Cell Longev* 2018:9416432.
- Totou NL, Moura SS, Coelho DB, Oliveira EC, Becker LK, Lima WG (2018) Swimming exercise demonstrates advantages over running exercise in reducing proteinuria and glomerulosclerosis in spontaneously hypertensive rats. *Physiology international* 105:76-85.
- Travaglia A, La Mendola D (2017) Zinc Interactions With Brain-Derived Neurotrophic Factor and Related Peptide Fragments. *Vitam Horm* 104:29-56.
- Ueba Y, Aratake T, Onodera KI, Higashi Y, Hamada T, Shimizu T, Shimizu S, Yawata T, Nakamura R, Akizawa T, Ueba T, Saito M (2018) Attenuation of zinc-enhanced inflammatory M1 phenotype of microglia by peridinin protects against short-term spatial-memory impairment following cerebral ischemia in mice. *Biochemical and biophysical research communications* 507:476-483.
- Uguz AC, Naziroglu M, Espino J, Bejarano I, Gonzalez D, Rodriguez AB, Pariente JA (2009) Selenium modulates oxidative stress-induced cell apoptosis in human myeloid HL-60 cells through regulation of calcium release and caspase-3 and -9 activities. *J Membr Biol* 232:15-23.
- Umarova RM, Sperber C, Kaller CP, Schmidt CSM, Urbach H, Kloppel S, Weiller C, Karnath HO (2019) Cognitive reserve impacts on disability and cognitive deficits in acute stroke. *J Neurol* 266:2495-2504.
- Urban N, Guillemot F (2014) Neurogenesis in the embryonic and adult brain: same regulators, different roles. *Front Cell Neurosci* 8:396.
- Van der Jeugd A, Parra-Damas A, Baeta-Corral R, Soto-Faguas CM, Ahmed T, LaFerla FM, Gimenez-Llort L, D'Hooge R, Saura CA (2018) Reversal of memory and neuropsychiatric symptoms and reduced tau pathology by selenium in 3xTg-AD mice. *Scientific reports* 8:6431.

- van der Meer JH, van der Poll T, van 't Veer C (2014) TAM receptors, Gas6, and protein S: roles in inflammation and hemostasis. *Blood* 123:2460-2469.
- van Dijk MT, Fenton AA (2018) On How the Dentate Gyrus Contributes to Memory Discrimination. *Neuron* 98:832-845 e835.
- Varlamova EG, Goltyaev MV, Novoselov VI, Fesenko EE (2017) Cloning, intracellular localization, and expression of the mammalian selenocysteine-containing protein SELENOI (Sell) in tumor cell lines. *Doklady Biochemistry and biophysics* 476:320-322.
- Varlamova EG, Novoselov SV, Novoselov VI (2015) [cDNA cloning, expression and determination of substrate specificity of mice selenocysteine-containing protein SelV (Selenoprotein V)]. *Molekuliarnaia biologiiia* 49:785-789.
- Varlamova EG, Novoselov VI (2012) [The search of partners of a new mammalian selenium-containing protein V (SelV) and expression it's mRNA during ontogenesis and spermatogenesis]. *Molekuliarnaia biologiiia* 46:276-284.
- Vasconcelos NN, Pereira LA, Silva RSR, Dias K, Mourao TS, Pereira LC, Cota VR, Pinto FCH, Damazio LCM (2021) High Intensity Physical Exercise before the Brain Ischemia Promotes Increase in Brain Injury. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 30:106148.
- Vazquez-Roque RA, Ramos B, Tecuatl C, Juarez I, Adame A, de la Cruz F, Zamudio S, Mena R, Rockenstein E, Masliah E, Flores G (2012) Chronic administration of the neurotrophic agent cerebrolysin ameliorates the behavioral and morphological changes induced by neonatal ventral hippocampus lesion in a rat model of schizophrenia. *J Neurosci Res* 90:288-306.
- Vilagran I, Castillo-Martin M, Prieto-Martinez N, Bonet S, Yeste M (2016) Triosephosphate isomerase (TPI) and epididymal secretory glutathione peroxidase (GPX5) are markers for boar sperm quality. *Animal reproduction science* 165:22-30.
- von Bulow V, Dubben S, Engelhardt G, Hebel S, Plumakers B, Heine H, Rink L, Haase H (2007) Zinc-dependent suppression of TNF-alpha production is mediated by protein kinase A-induced inhibition of Raf-1, I kappa B kinase beta, and NF-kappa B. *J Immunol* 179:4180-4186.
- Wang GL, Semenza GL (1993a) Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. *The Journal of biological chemistry* 268:21513-21518.
- Wang GL, Semenza GL (1993b) General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90:4304-4308.
- Wang H, Bi C, Wang Y, Sun J, Meng X, Li J (2018) Selenium ameliorates Staphylococcus aureus-induced inflammation in bovine mammary epithelial cells by inhibiting activation of TLR2, NF-kappaB and MAPK signaling pathways. *BMC Vet Res* 14:197.
- Wang H, Zhang Y, Qiao M (2013) Mechanisms of extracellular signal-regulated kinase/cAMP response element-binding protein/brain-derived neurotrophic factor signal transduction pathway in depressive disorder. *Neural regeneration research* 8:843-852.
- Wang J, Shen P, Liao S, Duan L, Zhu D, Chen J, Chen L, Sun X, Duan Y (2020) Selenoprotein P inhibits cell proliferation and ROX production in HCC cells. *PLoS one* 15:e0236491.
- Wang WM, Liu Z, Liu AJ, Wang YX, Wang HG, An D, Heng B, Xie LH, Duan JL, Liu YQ (2015) The Zinc Ion Chelating Agent TPEN Attenuates Neuronal Death/apoptosis Caused by Hypoxia/ischemia Via Mediating the Pathophysiological Cascade Including Excitotoxicity, Oxidative Stress, and Inflammation. *CNS Neurosci Ther* 21:708-717.
- Wang X (2001) The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 15:2922-2933.

- Wang Y, Cao P, Alshwmi M, Jiang N, Xiao Z, Jiang F, Gu J, Wang X, Sun X, Li S (2019) GPX2 suppression of H₂O₂ stress regulates cervical cancer metastasis and apoptosis via activation of the beta-catenin-WNT pathway. *OncoTargets and therapy* 12:6639-6651.
- Wang Y, Zhang Y, Huang J, Chen X, Gu X, Wang Y, Zeng L, Yang GY (2014) Increase of circulating miR-223 and insulin-like growth factor-1 is associated with the pathogenesis of acute ischemic stroke in patients. *BMC neurology* 14:77.
- Wasser G (2013) Ischemic stroke penumbra and extracorporeal ozone treatment. *Neuroradiol J* 26:243-251.
- Wei R, Qiu H, Xu J, Mo J, Liu Y, Gui Y, Huang G, Zhang S, Yao H, Huang X, Gan Z (2020) Expression and prognostic potential of GPX1 in human cancers based on data mining. *Annals of translational medicine* 8:124.
- Weick M, Cherkas PS, Hartig W, Pannicke T, Uckermann O, Bringmann A, Tal M, Reichenbach A, Hanani M (2003) P2 receptors in satellite glial cells in trigeminal ganglia of mice. *Neuroscience* 120:969-977.
- Wendeln AC, Degenhardt K, Kaurani L, Gertig M, Ulas T, Jain G, Wagner J, Hasler LM, Wild K, Skodras A, Blank T, Staszewski O, Datta M, Centeno TP, Capece V, Islam MR, Kerimoglu C, Staufienbiel M, Schultze JL, Beyer M, Prinz M, Jucker M, Fischer A, Neher JJ (2018) Innate immune memory in the brain shapes neurological disease hallmarks. *Nature* 556:332-338.
- WHO (2018) Las 10 principales causas de defunción.
- Wogram E, Wendt S, Matyash M, Pivneva T, Draguhn A, Kettenmann H (2016) Satellite microglia show spontaneous electrical activity that is uncorrelated with activity of the attached neuron. *Eur J Neurosci* 43:1523-1534.
- Woodruff TM, Thundyil J, Tang SC, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV (2011) Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener* 6:11.
- Wrobel JK, Power R, Toborek M (2016) Biological activity of selenium: Revisited. *IUBMB Life* 68:97-105.
- Wu C, Yang L, Tucker D, Dong Y, Zhu L, Duan R, Liu TC, Zhang Q (2018) Beneficial Effects of Exercise Pretreatment in a Sporadic Alzheimer's Rat Model. *Medicine and science in sports and exercise* 50:945-956.
- Wu Q, Yu KX, Ma QS, Liu YN (2015) Effects of intermittent hypobaric hypoxia preconditioning on the expression of neuroglobin and Bcl-2 in the rat hippocampal CA1 area following ischemia-reperfusion. *Genet Mol Res* 14:10799-10807.
- Wu RT, Cao L, Chen BP, Cheng WH (2014) Selenoprotein H suppresses cellular senescence through genome maintenance and redox regulation. *The Journal of biological chemistry* 289:34378-34388.
- Xia X, Lemieux ME, Li W, Carroll JS, Brown M, Liu XS, Kung AL (2009) Integrative analysis of HIF binding and transactivation reveals its role in maintaining histone methylation homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:4260-4265.
- Xiang Y, Zhang Y, Xia Y, Zhao H, Liu A, Chen Y (2020) LncRNA MEG3 targeting miR-424-5p via MAPK signaling pathway mediates neuronal apoptosis in ischemic stroke. *Aging* 12:3156-3174.
- Xie Q, Cheng J, Pan G, Wu S, Hu Q, Jiang H, Wang Y, Xiong J, Pang Q, Chen X (2019) Treadmill exercise ameliorates focal cerebral ischemia/reperfusion-induced neurological deficit by promoting dendritic modification and synaptic plasticity via upregulating caveolin-1/VEGF signaling pathways. *Experimental neurology* 313:60-78.
- Xie Y, Wang Y, Zhang T, Ren G, Yang Z (2012) Effects of nanoparticle zinc oxide on spatial cognition and synaptic plasticity in mice with depressive-like behaviors. *J Biomed Sci* 19:14.

- Xing BF, Zhou X, Deng XQ (2019) [Effect of "Tongdu Tiaoshen" needling combined with swallowing training on dysphagia, cerebral blood flow and serum BDNF and NGF levels in ischemic stroke patients]. *Zhen ci yan jiu = Acupuncture research* 44:506-511.
- Xing C, Arai K, Lo EH, Hommel M (2012) Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *Int J Stroke* 7:378-385.
- Xu Y, Porntadavity S, St Clair DK (2002) Transcriptional regulation of the human manganese superoxide dismutase gene: the role of specificity protein 1 (Sp1) and activating protein-2 (AP-2). *The Biochemical journal* 362:401-412.
- Yamaguchi N, Sawano T, Fukumoto K, Nakatani J, Inoue S, Doe N, Yanagisawa D, Tooyama I, Nakagomi T, Matsuyama T, Tanaka H (2021) Voluntary running exercise after focal cerebral ischemia ameliorates dendritic spine loss and promotes functional recovery. *Brain research* 1767:147542.
- Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, Cheah JH, Clemons PA, Shamji AF, Clish CB, Brown LM, Girotti AW, Cornish VW, Schreiber SL, Stockwell BR (2014) Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell* 156:317-331.
- Yang Y, Jing XP, Zhang SP, Gu RX, Tang FX, Wang XL, Xiong Y, Qiu M, Sun XY, Ke D, Wang JZ, Liu R (2013) High dose zinc supplementation induces hippocampal zinc deficiency and memory impairment with inhibition of BDNF signaling. *PloS one* 8:e55384.
- Yao HD, Wu Q, Zhang ZW, Li S, Wang XL, Lei XG, Xu SW (2013) Selenoprotein W serves as an antioxidant in chicken myoblasts. *Biochimica et biophysica acta* 1830:3112-3120.
- Yazici A, Aksit H, Sari ES, Yay A, Erken HA, Aksit D, Cakmak H, Seyrek K, Ermis SS (2015) Comparison of pre-treatment and post-treatment use of selenium in retinal ischemia reperfusion injury. *Int J Ophthalmol* 8:263-268.
- Ye M, Yang W, Ainscough JF, Hu XP, Li X, Sedo A, Zhang XH, Zhang X, Chen Z, Li XM, Beech DJ, Sivaprasadarao A, Luo JH, Jiang LH (2014) TRPM2 channel deficiency prevents delayed cytosolic Zn²⁺ accumulation and CA1 pyramidal neuronal death after transient global ischemia. *Cell death & disease* 5:e1541.
- Ye Y, Bian W, Fu F, Hu J, Liu H (2018) Selenoprotein S inhibits inflammation-induced vascular smooth muscle cell calcification. *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry* 23:739-751.
- Yin HZ, Sensi SL, Ogoshi F, Weiss JH (2002) Blockade of Ca²⁺-permeable AMPA/kainate channels decreases oxygen-glucose deprivation-induced Zn²⁺ accumulation and neuronal loss in hippocampal pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22:1273-1279.
- Yin X, Zhang P, Xia N, Wu S, Liu B, Weng L, Shang M (2022) GPx8 regulates apoptosis and autophagy in esophageal squamous cell carcinoma through the IRE1/JNK pathway. *Cellular signalling* 93:110307.
- Yoon DK, Yoo KY, Hwang IK, Lee JJ, Kim JH, Kang TC, Won MH (2006) Comparative study on Cu,Zn-SOD immunoreactivity and protein levels in the adult and aged hippocampal CA1 region after ischemia-reperfusion. *Brain Res* 1092:214-219.
- Yu S, Liu X, Men L, Yao J, Xing Q, Du J (2018) Selenoprotein S protects against high glucose-induced vascular endothelial apoptosis through the PKC β 1/JNK/Bcl-2 pathway. *Journal of cellular biochemistry*.
- Yu SS, Men LL, Wu JL, Huang LW, Xing Q, Yao JJ, Wang YB, Song GR, Guo HS, Sun GH, Zhang YH, Li H, Du JL (2016) The source of circulating selenoprotein S and its association with type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis: a preliminary study. *Cardiovascular diabetology* 15:70.

- Yu T, Yu H, Zhang B, Wang D, Li B, Zhu J, Zhu W (2019) Promising Neuroprotective Function for M2 Microglia in Kainic Acid-Induced Neurotoxicity Via the Down-Regulation of NF-kappaB and Caspase 3 Signaling Pathways. *Neuroscience* 406:86-96.
- Yuan Y, Zhang Z, Wang Z, Liu J (2019) MiRNA-27b Regulates Angiogenesis by Targeting AMPK in Mouse Ischemic Stroke Model. *Neuroscience* 398:12-22.
- Zaqout S, Kaindl AM (2016) Golgi-Cox Staining Step by Step. *Front Neuroanat* 10:38.
- Zhan J, Qin W, Zhang Y, Jiang J, Ma H, Li Q, Luo Y (2016) Upregulation of neuronal zinc finger protein A20 expression is required for electroacupuncture to attenuate the cerebral inflammatory injury mediated by the nuclear factor-kB signaling pathway in cerebral ischemia/reperfusion rats. *J Neuroinflammation* 13:258.
- Zhang J, Liu Y, Guo Y, Zhao Q (2020) GPX8 promotes migration and invasion by regulating epithelial characteristics in non-small cell lung cancer. *Thoracic cancer* 11:3299-3308.
- Zhang Q, Zhang J, Yan Y, Zhang P, Zhang W, Xia R (2017a) Proinflammatory cytokines correlate with early exercise attenuating anxiety-like behavior after cerebral ischemia. *Brain and behavior* 7:e00854.
- Zhang Z, Li R, Zhang X, Wei Y, Ma H, Zhu L, Yin R (2019) Voluntary exercise promotes neurotrophic factor and suppresses apoptosis in hippocampal ischemia. *Journal of integrative neuroscience* 18:65-70.
- Zhang ZH, Chen C, Wu QY, Zheng R, Chen Y, Liu Q, Ni JZ, Song GL (2016) Selenomethionine Ameliorates Neuropathology in the Olfactory Bulb of a Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *International journal of molecular sciences* 17.
- Zhang ZH, Wen L, Wu QY, Chen C, Zheng R, Liu Q, Ni JZ, Song GL (2017b) Long-Term Dietary Supplementation with Selenium-Enriched Yeast Improves Cognitive Impairment, Reverses Synaptic Deficits, and Mitigates Tau Pathology in a Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Agric Food Chem* 65:4970-4979.
- Zhao Y, Pang Q, Liu M, Pan J, Xiang B, Huang T, Tu F, Liu C, Chen X (2017) Treadmill Exercise Promotes Neurogenesis in Ischemic Rat Brains via Caveolin-1/VEGF Signaling Pathways. *Neurochemical research* 42:389-397.
- Zhao Y, Tan Y, Dai J, Li B, Guo L, Cui J, Wang G, Shi X, Zhang X, Mellen N, Li W, Cai L (2011) Exacerbation of diabetes-induced testicular apoptosis by zinc deficiency is most likely associated with oxidative stress, p38 MAPK activation, and p53 activation in mice. *Toxicol Lett* 200:100-106.
- Zhou Y, Yang L, Bo C, Zhang X, Zhang J, Li Y (2021) MicroRNA-9-3p Aggravates Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury by Targeting Fibroblast Growth Factor 19 (FGF19) to Inactivate GSK-3beta/Nrf2/ARE Signaling. *Neuropsychiatric disease and treatment* 17:1989-2002.
- Zhou YJ, Zhang SP, Liu CW, Cai YQ (2009) The protection of selenium on ROS mediated-apoptosis by mitochondria dysfunction in cadmium-induced LLC-PK(1) cells. *Toxicol In Vitro* 23:288-294.
- Zhu C, Huang Y, Weydert CJ, Oberley LW, Domann FE (2001) Constitutive activation of transcription factor AP-2 is associated with decreased MnSOD expression in transformed human lung fibroblasts. *Antioxidants & redox signaling* 3:387-395.
- Zhu L, Ye T, Tang Q, Wang Y, Wu X, Li H, Jiang Y (2016) Exercise Preconditioning Regulates the Toll-Like Receptor 4/Nuclear Factor-kappaB Signaling Pathway and Reduces Cerebral Ischemia/Reperfusion Inflammatory Injury: A Study in Rats. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 25:2770-2779.

Zhu T, Zhan L, Liang D, Hu J, Lu Z, Zhu X, Sun W, Liu L, Xu E (2014) Hypoxia-inducible factor 1alpha mediates neuroprotection of hypoxic postconditioning against global cerebral ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol* 73:975-986.

13. Apéndice

PBS 20x

Pesar:

Na_2HPO_4	22.98 g
KH_2PO_4	3.26 g
NaCl	161.28 g
KCl	4.023 g

Disolver las sales en 800 mL de agua destilada

Ajustar el pH a 7.4 utilizando NaOH o HCl

Aforar a 1000 mL

Alicuotar en tubos cónicos de 50 mL y congelar

PBS 1x

Diluir 50 mL de PBS 20x en 950 mL de agua destilada

Buffer de fosfatos (0.2 M)

Solución A:

Na_2HPO_4	28.39 g
H_2O	1000 mL

Solución B:

NaH_2PO_4	23.9 g
H_2O	1000 mL

Mezclar 770 mL de solución A con 230 mL de solución B

Paraformaldehído (PFA) 4%

Pesar 40 g de PFA

Calentar 450 mL de agua destilada (60°C)

Disolver el PFA en 200 mL de agua destilada previamente calentada

Adicionar el resto del agua destilada y mantener en agitación constante hasta que se disuelva por completo el PFA

Agregar unas gotas de NaOH, hasta que la solución se aclare

Agregar 500 mL de Buffer de fosfatos

Ajustar el pH a 7

Aforar a 1000 mL con agua destilada

Peróxido de hidrogeno (30 mM)

H₂O₂ (30%) 153 µL

Disolver en 50 mL de agua destilada

Buffer de fosfatos (50 mM)

KH₂PO₄ 0.816 g

K₂HPO₄ 0.696 g

Disolver en 150 mL de agua destilada y aforar a 200 mL

Tris-HCl

Solución A:

1.21 g de Tris disueltos en 50 mL de agua destilada

Solución B:

230 µL de HCl disueltos en 21.9 mL de agua destilada

Mezclar la solución A y B, aforar a 200 mL y ajustar el pH a 8.2

EDTA

Disolver 223.3 mg de EDTA en 10 mL de agua destilada

Pirogalol

Disolver 18.6 mg de Pirogalol en 20 mL de agua destilada

TBS-10x

Trizma Hidrocloruro 132.2 g

Trizma Base 19.4 g

NaCl 90 g

H₂O_d 1000 mL

TBS-1x

Disolver 100 mL de TBS 10x en 900 mL de agua destilada.

TBS++

TBS 1x	940 μ L
Triton-100x	30 μ L
Suero de cabra	30 μ L

Kit ABC

Reactivo A	10 μ L
Reactivo B	10 μ L
TBS 1x	1000 μ L

DAB

Para 5 mL de solución de revelado:

Níquel	100 μ L
Buffer	84 μ L
DAB	100 μ L
H ₂ O ₂	80 μ L

El H₂O₂ se adiciona hasta que se vaya a utilizar la solución

Solución de impregnación**Solución A:**

Dicromato de potasio al 5% en agua destilada

Solución B:

Cloruro de mercurio al 5% en agua destilada

Solución C:

Cromato de potasio al 5% en agua destilada

Mezclar 5 partes de solución A y 5 partes de solución B; en un recipiente aparte diluir 4 partes de la solución C con 10 partes de agua destilada, a esta mezcla agregar lentamente la solución AB bajo agitación constante. Almacenar en un frasco ámbar durante 5 días para permitir que la solución madure.

Sacarosa (30%)

Disolver 30 g de sacarosa en 50 mL de agua destilada, una vez disuelto aforar la solución a 100 mL.