



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

COMPARACION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACION
EN MEDULA ESPINAL LESIONADA DE RATAS
SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A ENCEFALOMIELITIS
ALERGICA EXPERIMENTAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

JOSE MANUEL RAMIREZ JARAMILLO



DIRECTOR DE ESTUDIOS DE TESIS:
DR. JOSE JUAN ANTONIO IBARRA ARIAS



FACULTAD DE CIENCIAS
SEC. 2004 ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



LIBERTAD NACIONAL
AVENIDA 14
MEXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: COMPARACION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACION EN MEDULA ESPINAL LESIONADA DE RATAS SUSCEPTIBLES Y RESISTENTES A ENCEFALOMIELITIS ALERGICA EXPERIMENTAL.

realizado por JOSE MANUEL RAMIREZ JARAMILLO con número de cuenta 9208292-8
quién cubrió los créditos de la carrera de BIOLOGIA
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

DR. JOSE JUAN ANTONIO IBARRA ARIAS

Propietario

DR. RENE DE JESUS CARDENAS VAZQUEZ

Propietario

DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

Suplente

M. en I.B.B. CLAUDIA ANDREA SEGAL KISCHINEVSKY

Suplente

BIOL. ALFONSO JOSE VILCHIS PELUYERA

Consejo Departamental de BIOLOGIA

M. en C. JUAN MANUEL RODRIGUEZ CHAVEZ

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGIA

DEDICATORIA

*EL PRESENTE TRABAJO SE LO DEDICO EN PRIMER LUGAR A LA PERSONA QUE
HA ESTADO CONMIGO Y ME HA APOYADO INCONDICIONALMENTE DURANTE
TODA MI VIDA:
A MI MAMA LUZ MARIA JARAMILLO FLORES.*

*A mis hermanos: Angélica, Ricardo, Edgar, Jose Edmundo, Alberto, y a todas esas personas que en
algún momento de mi vida me han brindado su ayuda.*

F12R

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi asesor el Dr. Juan Antonio Ibarra por todo la paciencia y apoyo que me ofreció durante mi trabajo de tesis. Además quiero agradecer al PROYECTO CAMINA por la oportunidad que me brindaron, así como también al Centro Médico siglo XXI. De forma especial quiero agradecer a mis revisores de tesis: M. en IIB. Claudia Andrea Segal Kischinevzky; Dr. Adolfo Andrade Cetto; Dr. René de Jesús Cárdenas Vásquez y al Biol. Alfonso José Vilchis Peluyera por todas las sugerencias que me brindaron para la elaboración de esta tesis.

Finalmente agradezco a la Dra Elizabeth Langley McCarron por la oportunidad que me ha brindado en su laboratorio para poder continuar con mi formación científica.

INDICE

	páginas
RESUMEN.....	1
I. ANTECEDENTES.....	2
I.1. ANATOMIA DEL SISTEMA NERVIOSO.....	2
I.1.1 SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO.....	3
I.1.2 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	4
I.1.2.1 LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO.....	5
I.1.2.2 VENTRICULOS.....	5
I.1.2.3 MEDULA ESPINAL.....	6
I.1.2.3.a TOPOGRAFIA.....	7
I.1.2.3.b ESTRUCTURA INTERNA.....	8
I.1.2.3.c CONEXIONES DE LOS NERVIOS ESPINALES CON LA MEDULA ESPINAL.....	8
I.1.2.3.d NUCLEOS Y GRUPOS CELULARES.....	8
I.2. HISTOLOGIA DEL SISTEMA NERVIOSO.....	9
I.2.1 NEURONAS.....	9
I.2.2 CELULAS DE LA NEUROGLIA.....	10
I.2.3 MIELINA.....	11
I.3. FISIOLOGIA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	12
I.4. GENERALIDADES DEL SISTEMA INMUNE.....	13
I.4.1 INMUNIDAD INNATA.....	13
I.4.2 INMUNIDAD ADAPTATIVA.....	13
I.4.3 ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE.....	14
I.4.3.1 MEDULA OSEA.....	14
I.4.3.2 TIMO.....	14
I.4.3.3 NODULOS LINFATICOS.....	14
I.4.3.4 BAZO.....	14
I.4.3.5 SISTEMA INMUNE CUTANEO.....	15
I.4.3.6 TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO.....	15
I.4.4. CELULAS DEL SISTEMA INMUNE.....	15
I.4.4.1 CELULAS MONONUCLEARES.....	16
I.4.4.2 NEUTROFILOS.....	17
I.4.4.3 EOSINOFILOS.....	17
I.4.4.4 BASOFILOS Y CELULAS CEBADAS.....	18
I.4.4.5 CELULAS ASESINAS NATURALES.....	18
I.4.4.6 CELULAS DENTRITICAS.....	18
I.4.4.7 CELULAS T.....	18
I.4.4.8 CELULAS B.....	19
I.7 COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD.....	19
I.8 FASES DE LA RESPUESTA INMUNE.....	20
I.8.1 RECONOCIMIENTO DEL ANTIGENO.....	20
I.8.2 ACTIVACION DE LINFOCITOS.....	20
I.8.3 DIFERENCIACION EN CELULAS EFECTORAS.....	21
I.8.4 HOMEOSTASIS.....	22
I.8.5 DIFERENCIACION EN CELULAS DE MEMORIA.....	22

I.11 GENERALIDADES SOBRE LIPOPEROXIDACIÓN.....	25
I.11.1 LIPIDOS.....	25
I.11.2 LIPOPEROXIDACION.....	25
I.11.2.1 GENERACION DE RADICALES LIBRES.....	27
I.12 LIPOPEROXIDACION Y LESION TRAUMATICA EN MEDULA ESPINAL.....	28
I.13 NEUROPROTECCION EN MEDULA ESPINAL.....	29
I.14 AUTOINMUNIDAD.....	30
I.15 AUTOINMUNIDAD PROTECTORA.....	31
II JUSTIFICACIÓN.....	33
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	33
IV HIPÓTESIS.....	33
V OBJETIVO GENERAL.....	33
V.1. OBJETIVO PARTICULARES.....	33
VI MATERIAL Y MÉTODO.....	34
VI.1 CONDICIONES.....	34
VI.2 TECNICAS.....	35
VI.2.1 LESION INCOMPLETA DE MEDULA ESPINAL.....	35
VI.2.2 PERFUSION.....	35
VI.2.3 EXTRACCION DE MEDULA ESPINAL.....	36
VI.2.4 DETECCION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACIÓN.....	36
VI.2.5 ANALISIS DE LAS UNIDADES DE FLUORESCENCIA.....	37
VI.2.6 METODO ESTADÍSTICO.....	37
VI.2.7 CONSIDERACIONES ETICAS.....	37
VII RESULTADOS.....	38
VII.1 COMPARACION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACIÓN EN MEDULA ESPINAL DE RATAS SIN LESION.....	38
VII.2 COMPARACION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACIÓN EN MEDULA ESPINAL DE RATAS LESIONADAS.....	40
VIII DISCUSIONES.....	42
IX CONCLUSIONES.....	46
X PERSPECTIVAS.....	46
XI BIBLIOGRAFÍA.....	47

RESUMEN

Después de una lesión de la médula espinal (LME) causada por un traumatismo, se desarrollan una serie de fenómenos autodestructivos que originan un mayor daño en la zona lesionada. Entre estos se encuentra el estrés oxidativo, que es la producción excesiva de radicales libres, los cuales actúan sobre lípidos poliinsaturados de las membranas celulares originando el fenómeno conocido como lipoperoxidación.

Actualmente se ha reportado que el sistema inmunológico puede ser capaz de proteger al tejido neuronal después de una lesión a través de lo que se ha denominado "autoinmunidad protectora", misma que es una respuesta fisiológica del organismo que esta genéticamente codificada (Hauben y cols., 2000a, 2001).

Se ha reportado que cepas de ratas resistentes (Fischer 344 y Sprague Dowley) a desarrollar la enfermedad autoinmune Encefalomiélitis Alérgica Experimental (EAE), presentan una mejor función de esta respuesta autoinmune protectora y por consiguiente una mejor protección del tejido neuronal que cepas de ratas susceptibles (Lewis) a desarrollar la EAE. Este mecanismo involucra la respuesta inmune adquirida mediada por células T, que como ya bien se ha demostrado, son capaces de proteger al tejido neuronal después de una lesión en médula espinal. Hasta el momento no se conocen con exactitud los mecanismos por medio de los cuales el sistema inmunológico lleva a cabo este fenómeno de neuroprotección. Debido a que la respuesta inflamatoria está fuertemente ligada a la producción de radicales libres y con ello al fenómeno de lipoperoxidación y a que dicha respuesta podría estar modulada de manera importante por la autoinmunidad protectora, pensamos que la disminución del fenómeno de lipoperoxidación podría ser el mecanismo por medio del cual dicha respuesta autoinmune promueve neuroprotección.

Sobre la base de estas observaciones se decidió comparar los niveles de lipoperoxidación en médula espinal de ratas lesionadas, así como en ratas a las que sólo se les sometió al proceso quirúrgico (Laminectomía); esperando encontrar diferencias entre grupos de cepas, ya que pensamos que el efecto protector de la autoinmunidad protectora puede estar dirigido a contrarrestar de alguna forma el efecto tóxico del estrés oxidativo que se genera como consecuencia del trauma en médula espinal.

Para esta primera etapa se utilizaron 12 individuos por cada cepa, 6 de los cuales fueron sometidos a una lesión severa a nivel de T9 y los 6 animales restantes fueron sometidos únicamente al proceso quirúrgico (laminectomía), los niveles de lipoperoxidación fueron medidos a las 24 horas después de la lesión.

En las ratas sin lesión, la cepa Lewis presentó mayores niveles de lipoperoxidación en comparación a las cepas Fischer 344 y Sprague Dowley; dichos resultados fueron estadísticamente significativos.

En lo correspondiente a las ratas sometida a lesión de nueva cuenta la cepa Lewis presentó mayores niveles de lipoperoxidación en comparación a las cepas de ratas resistentes (Fischer 344 y Sprague Dowley), dichos resultados fueron también estadísticamente significativos.

Los datos obtenidos durante esta primera etapa de investigación sugieren que los animales resistentes a la EAE son más capaces de amortiguar el medio tóxico que se genera después de una lesión traumática en médula espinal, dicho mecanismo de acción podría involucrar a las células T autoinmunes que protegen el tejido neuronal mismo que es el blanco del estrés oxidativo. Por otra parte también sugieren que en las ratas Lewis dichos mecanismos protectores no están presentes o no son lo suficientemente eficientes para contrarrestar el ambiente tóxico que se genera a consecuencia del daño infligido en médula espinal.

I. ANTECEDENTES.

La lesión en médula espinal puede ser definida como el daño infligido en la médula espinal que compromete en forma parcial o completa sus principales funciones (motora, sensorial, autonómica y de reflejo). La lesión en médula espinal permanece como una importante causa de morbilidad y mortalidad en la sociedad moderna. Se estima que entre 8,000 y 10,000 personas experimentan lesiones traumáticas en Estados Unidos cada año (Bracken y cols., 1981) (Young y cols., 1979). En nuestro país no contamos con algún censo, en donde se describan la incidencia, la mortalidad, la evolución y el costo de la atención médica.

La lesión de la médula espinal (LME), ha sido catalogada como una enfermedad catastrófica, debido a las secuelas que se producen sobre las funciones neurológicas, mismas que son el resultado de una serie de alteraciones funcionales a nivel neuronal, que puede ir desde el bloqueo transitorio de la conducción eléctrica, hasta la falta total de la misma, dependiendo del grado de lesión (Goolkin R. y Cambell J.B., 1979; Belentine 1983). El tratamiento desde el punto de vista médico tiene un costo elevado por la implicación de recursos tecnológicos y posteriormente, por las limitaciones para poder reintegrar a los pacientes a sus actividades productivas previas. La longevidad prolongada y una mejor calidad de vida en pacientes que han sufrido LME representan el resultado de un mejor conocimiento de la fisiopatología de este padecimiento. La LME trae consigo varios problemas, desde el punto de vista económico, lo que origina un alto costo tanto para el paciente como para las instituciones de salud, además desde el punto de vista psicológico y social afecta la calidad de vida de las víctimas, dando lugar a una profunda carga emocional y financiera sobre la familia y el afectado.

La LME es más frecuente en hombres jóvenes, por lo general son causadas por los accidentes de vehículos, las caídas, los actos de violencia, las actividades recreativas y deportivas.

I.1. ANATOMIA DEL SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso, junto con el sistema endocrino, desempeña la mayoría de las funciones de regulación del organismo. En general, el sistema nervioso controla las actividades rápidas del cuerpo, como las contracciones musculares, los fenómenos viscerales que evolucionan rápidamente, e incluso las secreciones de algunas glándulas endocrinas. El sistema nervioso se caracteriza por la enorme complejidad de funciones de regulación que es capaz de realizar. Este sistema recibe literalmente millones de pequeños datos de información (bits) procedentes de distintos órganos sensoriales, para luego integrarlos y determinar la respuesta adecuada que debe dar el organismo.

El cerebro humano contiene más de 100 billones de neuronas, cada una con capacidad para influenciar sobre muchas otras células. Claramente, se requiere de un mecanismo altamente eficiente y sofisticado para controlar la comunicación entre este estratosférico número de elementos. Entre las células nerviosas existen contactos celulares de un tipo especial, llamado sinapsis (gr. sinapsis, unión), a través de la cual una onda o impulso nervioso es transmitido desde una célula nerviosa a otra. Aunque hay muchas clases de sinapsis en el cerebro, se han subdividido en dos clases generales: sinapsis eléctrica y sinapsis química. La sinapsis eléctrica permite el flujo directo de corriente eléctrica de una neurona a otra. En contraste, la sinapsis química permite la comunicación célula-célula vía la secreción de neurotransmisores (Purves y cols., 2001).

El sistema nervioso está dividido en el sistema nervioso central (SNC), que a su vez está compuesto por el encéfalo y la médula espinal; y el sistema nervioso periférico (SNP), el cual consiste de nervios y fibras que transportan información del SNC a otras partes del cuerpo (la periferia) (Diagrama 1).

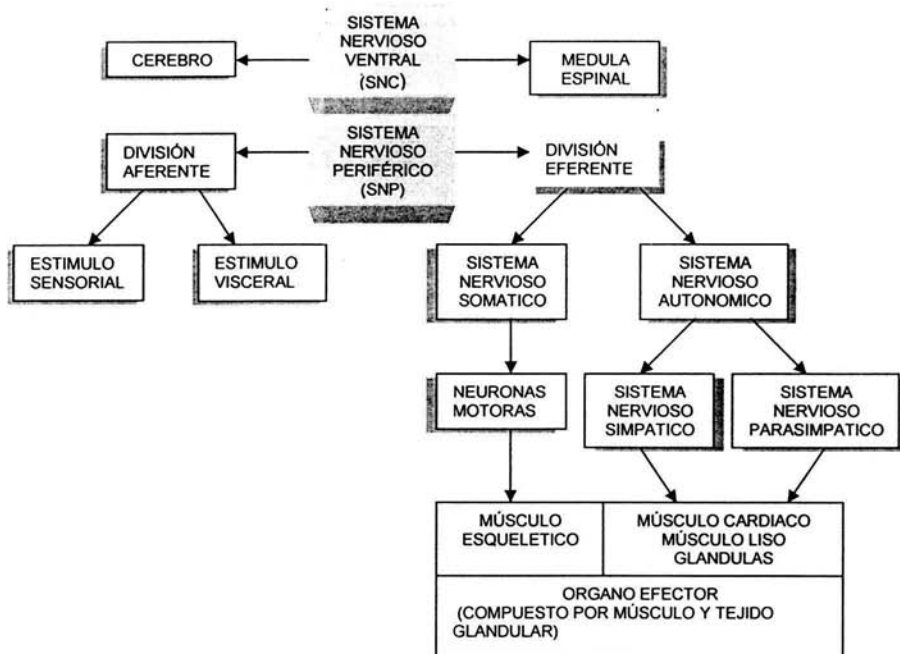


Diagrama 1. Organización del sistema nervioso (Sherwood, 1997)

1.1.1 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

Comprende todo el tejido fuera del encéfalo y la médula espinal. Está compuesto por grupos de cuerpos de células nerviosas o ganglios, entrecruzamiento de fibras nerviosas o plexos, y haces de fibras nerviosas de recorrido paralelo bajo la forma de nervio. Los nervios parten del encéfalo y de la médula espinal en pares, uno para cada lado del organismo. Los nervios del encéfalo se denominan nervios craneales y los nervios que provienen de la médula espinal se denominan nervios espinales.

Los nervios periféricos permiten que las neuronas del SNC estén en contacto con todas las partes del organismo. Las fibras nerviosas que salen del SNC como prolongaciones de células se denominan eferentes (lat. afferó, sacar de) o motoras (lat, moveo, mover), dado que conducen impulsos desde el SNC hacia la periferia. Las fibras nerviosas, que son largas prolongaciones de células nerviosas de los ganglios exteriores al SNC y que ingresan allí por vía de los nervios craneales o espinales, se denominan aferentes (lat. afferos, llevar a) o sensitivas (lat. sentio, sentir), dado que conducen impulsos desde la periferia hacia el SNC. Por lo general, las fibras nerviosas motoras y sensitivas están

entremezcladas en los nervios craneales y espinales. Los nervios se ramifican en su camino hacia la periferia, donde presentan terminales libres en los tejidos periféricos u órganos terminales especializados (Geneser y cols., 2000).

Las neuronas aferentes viscerales llevan impulsos a los efectores viscerales: músculos liso, cardíaco y glándulas. Los nervios espinales o raquídeos contienen tanto fibras aferentes, somáticas como viscerales. Cada nervio es un haz de fibras nerviosas por fuera de la médula espinal o del cerebro. Microscópicamente está constituido por un gran número de fibras estrechamente aglomeradas, unas mielínicas que se forman por enrollamientos de células de Schwann en el axón produciendo muchas membranas plasmáticas. Otras amielínicas, agrupadas dentro de pequeños haces llamados fascículos cada uno rodeado por una vaina densa de la cual parten hilos de tejido conectivo llamado endoneurio que se extiende dentro de los espacios entre cada una de las fibras nerviosas. Son 31 pares de nervios raquídeos que se conocen, hay ocho pares de nervios raquídeos cervicales, 12 dorsales, 5 lumbares, 5 sacros y 1 coccígeo.

Los nervios craneales tienen una organización muy variable en cuanto a las fibras que los forman, son 12 pares insertados en el cerebro y dispuestos simétricamente. Cada uno sale del cráneo a través de un agujero en su base y comprende los siguientes: olfatorio, óptico, motor ocular común, patético trigémino, motor ocular externo, facial, auditivo, glossofaríngeo, neumogástrico o vago espinal e hipogloso (Gayton y cols., 1997).

1.1.2. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Está compuesto por el encéfalo cubierto por el cráneo (Telencéfalo), y su continuación hacia abajo en la médula espinal, ubicada en el conducto raquídeo. Se encuentra dividido en Telencefalo, Corteza cerebral, ganglios basales, diencéfalo (subdivido a su vez en: Epitalamo, Talamo e Hipotalamo), Mesencéfalo, cerebelo, Protuberancia y Bulbo Raquídeo.

El encéfalo es la principal área integradora del sistema nervioso; en el hombre es el lugar donde se almacenan los recuerdos, se conciben los pensamientos, se generan las emociones y otras funciones que se relacionan con nuestra psiquis, y se lleva a cabo el control complejo de nuestro organismo (Figura 1) (Gayton y cols., 1997).

En los mamíferos, la mayoría de las células nerviosas se encuentran en el sistema nervioso central, y desde el punto de vista histológico, se caracteriza como epitelio muy especializado, dado que las células están densamente empaquetadas y unidas por contactos celulares frecuentes.

Microscópicamente está dividido en sustancia gris: aspecto que atribuye a la preponderancia de cuerpos celulares y fibra no mielinizadas; y sustancia blanca: aspecto que se atribuye principalmente a la presencia de fibras mielinizadas (Rodney y cols., 1997).

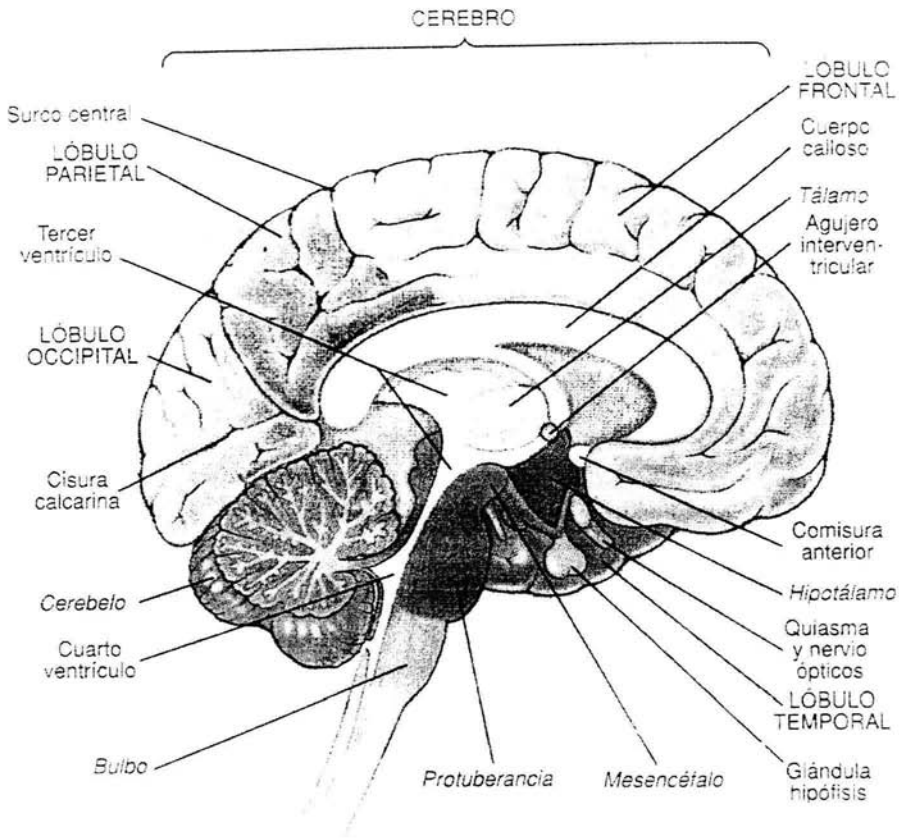


Figura 1. Partes que componen al SNC (Gayton y cols., 1994).

I.1.2.1 EL SISTEMA DE LÍQUIDO CEFALORAQUIDEO.

El líquido cefalorraquídeo es un fluido claro e incoloro que recubre el sistema nervioso central en su totalidad, como una cubierta acuosa en el espacio subaracnoideo que lo protege de los golpes (Geneser y cols., 2000). Existen estructuras profundas en el cerebro, el diencefalo y el tallo encefálico, con gran contenido de líquido cefalorraquídeo denominadas ventrículos (Gayton y cols., 1994).

I.1.2.2 VENTRÍCULOS.

Hay en total cuatro ventrículos:

- Los ventrículos laterales (1 y 2), cada uno de ellos se ubica cerca del plano medio en cada hemisferio cerebral.

- El tercer ventrículo, se ubica entre las dos mitades laterales del tálamo, se expende hacia delante y abajo, en el plano de la línea media entre las dos mitades del hipotálamo (Gayton y cols., 1999).
- El cuarto ventrículo es una cavidad amplia, de escasa profundidad, en forma de rombo, que cubre la protuberancia y el bulbo, y se extiende desde el conducto del epéndimo de la porción superior de la médula central hasta el acueducto cerebral de Silvio en el mesencéfalo. (Carpenter y cols., 1994).

1.1.2.3 MÉDULA ESPINAL

La Médula Espinal (ME) es una estructura larga y cilíndrica, que se encuentra en el conducto raquídeo o vertebral. Se extiende desde el agujero occipital, donde se continúa con el bulbo, hasta el borde inferior de la primera vértebra lumbar. Presenta un recubrimiento de tejido conectivo denominado meninges que reviste toda la superficie del encéfalo y la médula espinal (figura 1). Las tres capas que conforman las meninges son:

- La duramadre, que es un fuerte revestimiento fibroso que rodea todo el SNC, esta unida con firmeza a la superficie interna del cráneo pero sólo laxamente al canal vertebral, donde existe un espacio de tejido conectivo denominado espacio epidural.
- La aracnoides, que es una estructura delicada, con fijación laxa en la superficie interna de la duramadre. Por debajo de la aracnoides se encuentra un espacio de líquido que rodea al encéfalo y la médula espinal, llamado espacio subaracnoideo. Este espacio está penetrado por gran número de trabéculas que forman parte de la aracnoides.
- La piamadre, que es un delgado revestimiento fibroso y vascular del encéfalo y la médula espinal, fijado con firmeza a su superficie (Gayton y cols., 1994).

En la médula espinal se reconocen dos ensanchamientos, el cervical y el lumbar, cada uno de ellos inervan respectivamente en las extremidades superiores e inferiores. La médula espinal está compuesta por 31 segmentos, cada uno de los cuales reciben y proporciona dos pares de filamentos radiculares dorsales y ventrales. La médula espinal se divide en los siguientes segmentos en el humano: ocho cervicales, doce torácicos, cinco lumbares, cinco sacros y uno coccigeo. La médula espinal ocupa el conducto vertebral en toda su extensión hasta el tercer mes de la vida fetal, pero más tarde la velocidad diferencial de crecimiento de la columna vertebral supera al de la médula espinal. En el nacimiento, el cono medular se localiza próximo a la vértebra L3(lumbar 3); en el adulto se halla entre las vértebras L1 y L2 (lumbar 1 y 2), y ocupa sólo los dos tercios superiores del conducto vertebral. Los nervios raquídeos emergen del conducto vertebral por los agujeros invertebrales. El primer nervio cervical surge entre el atlas y el occipital. La octava raíz cervical emerge del agujero invertebral situado entre C7 (cervical 7) y T1(torácica 1); los demás nervios raquídeos emergen de los agujeros invertebrales situados por debajo de la vértebra correspondiente al mismo número. La médula espinal, como todo el sistema nervioso central deriva del bulbo neural embrionario. El conducto central, revestido por células endodermarias, representa la luz vestigial (Carpenter y cols., 1994).

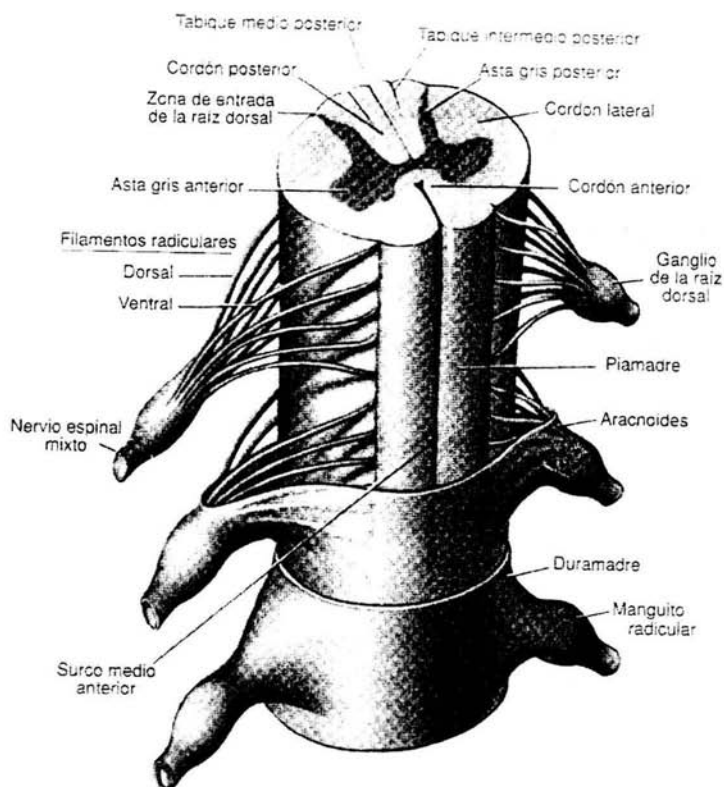


Figura 2. Componentes de la médula espinal (Carpenter y cols., 1994).

I.1.2.3.a TOPOGRAFIA.

Las fibras ascendentes y descendentes que ocupan regiones particulares de la sustancia blanca están organizadas en haces más o menos definidos. Los haces de fibras que tienen el mismo origen, trayecto y destino se denominan *tractos o fascículos*. La sustancia blanca de la médula espinal se divide en tres cordones pares: posterior, lateral y anterior. El cordón posterior se encuentra entre el asta posterior y el tabique medio posterior. En las regiones torácica superior y cervical, un tabique intermedio posterior, más pequeño y menos definido, divide cada cordón posterior en dos columnas blancas. El cordón lateral se halla entre la zona de ingreso de la raíz dorsal y el punto en que emergen las raíces ventrales de la médula espinal. El cordón posterior es el de mayores dimensiones y está compuesto casi de forma exclusiva por fibras ascendentes largas y fibras descendentes cortas originarias de células de ganglios espinales. Aunque la médula espinal constituye sólo el 2 % del sistema nervioso central, sus funciones tienen una gran importancia ya que comprende: 1) vías aferentes que conducen impulsos sensoriales de la mayor parte del cuerpo, 2) vías descendentes que median funciones motoras voluntarias y modifican el tono muscular y 3) sistema de fibras y neuronas que median los reflejos y suministran inervación autónoma (Carpenter y cols., 1994).

I.1.2.3.b. ESTRUCTURA INTERNA.

Al igual que el encéfalo, la médula espinal está compuesta por áreas de sustancia gris y áreas de sustancia blanca; esta última se encuentra sobre la superficie, mientras que la sustancia gris es profunda en forma de mariposa. Los cuerpos de las células nerviosas se encuentran en la sustancia gris con muchas fibras nerviosas cortas; pero en la sustancia blanca sólo existen tractos de fibras y glía. La sustancia gris tiene el aspecto de múltiples astas conectadas por un puente trasversal, denominado comisura gris, entre las dos mitades de la médula. Muchos tractos de fibras se dirigen de un lado al otro de la médula a través de las comisuras blancas que acompañan a la comisura gris. Las astas de sustancia gris a cada lado de la médula se denominan respectivamente: 1) el asta gris ventral (o el asta gris anterior), 2) el asta gris dorsal (o el asta gris posterior) y 3) el asta gris lateral. En el asta ventral se ubican las motoneuronas anteriores, cuerpo de las células nerviosas que envían fibras a través de los nervios espinales a los músculos para producir la contracción muscular. En el asta gris dorsal se encuentra los cuerpos de las células que reciben señales sensitivas de los nervios espinales. En el asta gris lateral, las células nerviosas dan origen a las fibras que llevan al sistema nervioso autónomo, que controla muchos de los órganos internos (Gayton y cols., 1994).

I.1.2.3.c. CONEXIONES DE LOS NERVIOS ESPINALES CON LA MEDULA ESPINAL.

Cada nervio espinal se conecta con la médula por medio de dos raíces denominadas dorsal y ventral (también se les llama raíz posterior y raíz anterior). A su vez cada una de estas raíces ingresa o abandona la médula por medio de 7 a 10 pequeños filamentos radiculares. La raíz dorsal también se denomina raíz sensitiva, porque lleva casi completamente fibras sensitivas, mientras la raíz ventral se denomina raíz motora, porque lleva casi en su totalidad fibras motoras a los músculos, para provocar la contracción o al sistema nervioso autónomo, para controlar la actividad de los órganos internos. (Gayton y cols., 1994).

I.1.2.3.d. NÚCLEOS Y GRUPOS CELULARES.

La sustancia gris de la médula espinal, con su forma de mariposa, contiene un número de neuronas de tamaños y formas diversas. Básicamente, se las puede clasificar como células radiculares y células columnares.

Las células radiculares se hallan en las astas anteriores y posteriores y dan origen a los axones que salen por la raíz ventral para inervar efectores somáticos o viscerales.

Las células columnares son neuronas cuyas prolongaciones periféricas no salen del sistema nervioso central. Sobre la base de la longitud, trayecto y conexiones sinápticas de sus axones, estas células se pueden clasificar como: centrales, internunciales, comisurales o de asociación. Un gran número de células columnares dan origen a fibras que entran a la sustancia blanca, se bifurcan, ascienden y descienden. Algunas de estas fibras poseen largas prolongaciones que ascienden a niveles más elevados del neuro eje y transmiten impulsos relacionados con modalidades sensoriales específicas. Las células nerviosas están organizadas en la sustancia gris en grupos más o menos definidos que se extienden longitudinalmente y se denominan columnas celulares o núcleos (Carpenter y cols., 1994)

I.2. HISTOLOGIA DEL SISTEMA NERVIOSO.

I.2.1 NEURONAS

Todas las neuronas poseen un cuerpo celular o soma compuesto por un núcleo rodeado por cantidades variables de citoplasma. El citoplasma que rodea al núcleo se denomina pericarion (el cual contiene las mitocondrias), además están presentes otras estructuras como: la sustancia de Nissl (nucleoproteínas distribuidas por todo el pericarion y el citoplasma dendrítico), las neurofibrillas, el aparato de Golgi y la presencia de un núcleo central. A menudo existen numerosas prolongaciones cortas ramificadas, las dendritas (gr. Dendrite referente a árboles) y una prolongación larga, el axón (gr. Axón, eje), que en algunos casos alcanza un metro de largo. A menudo el axón emite ramificaciones conocidas como colaterales, a lo largo de su recorrido y además ramificaciones preterminales donde termina la neurona y forma contactos sinápticos.

De acuerdo a su función, hay tres tipos de neuronas que intervienen en la formación de las vías nerviosas:

- **Neuronas sensitivas o aferente:** Conducen impulsos desde la piel u otro órgano sensitivo hacia la médula espinal y el cerebro.
- **Neuronas motoras o eferentes:** Transportan impulsos que salen del cerebro y médula espinal hacia ciertas estructuras donde tiene lugar la respuesta, como puede ser: músculo estriado, músculo liso y músculo cardíaco o glándulas.
- **Interneuronas:** También denominadas neuronas internunciales, neuronas intercalares o neuronas centrales; forman una red intercomunicante e integradora entre neuronas sensitivas y motoras.

Como se observa en la figura 3, las neuronas pueden ser clasificadas desde el punto de vista estructural en:

- **Neuronas multipolares** tienen un axón y dos o más dendritas
- **Las neuronas bipolares** tienen un axón y una dendrita. Se encuentran en la retina, en el ganglio espial de la cóclea y en el ganglio vestibular (relacionada con el nervio auditivo), las neuronas de los ganglios espinales y craneales son bipolares en el principio, pero durante el desarrollo embrionario las prolongaciones se acercan y fusionan hasta formar una sola; esto les ha dado la denominación de neuronas pseudo unipolares.
- **Las neuronas unipolares o monopolares** (en realidad pseudopodiales) tienen una prolongación, el axón se divide cerca del soma celular en dos prolongaciones largas.

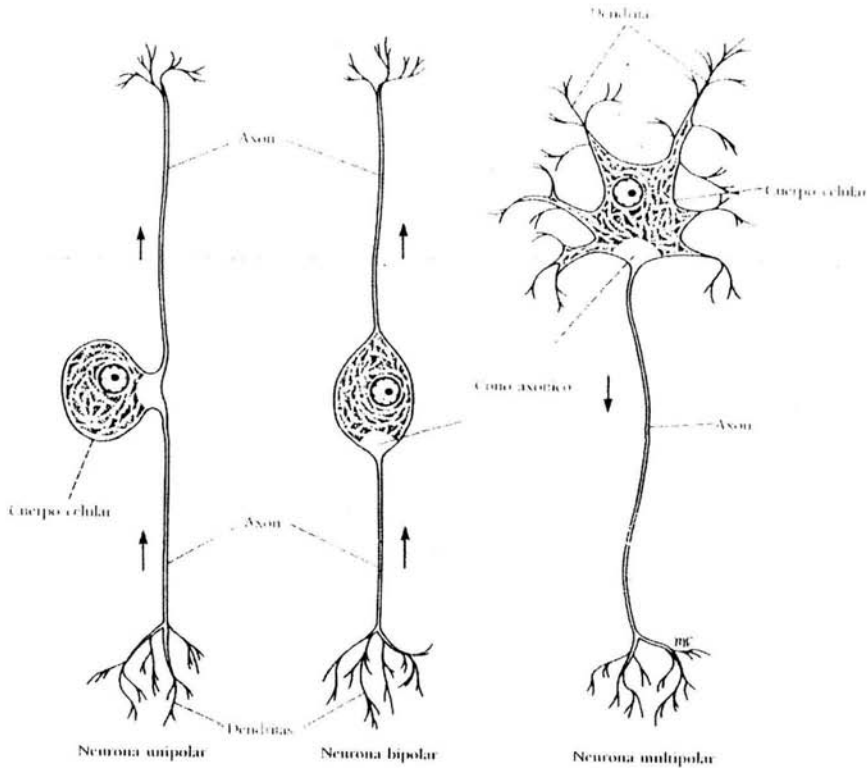


Figura 3. Tipos estructurales de neuronas. Las neuronas se clasifican principalmente por el número de dendritas que se originan del cuerpo celular (Snell, 2001).

Según la longitud del axón las neuronas se clasifican en: neuronas de proyección (Golgi tipo I) e interneuronas (Golgi tipo II).

Las neuronas de proyección (Golgi tipo I) tienen numerosas dendritas y un axón muy prolongado que después de abandonar el cuerpo celular pasa a otras zonas del sistema nervioso central y junto con la sustancia blanca abandona el sistema nervioso central como fibra nerviosa periférica. Estos axones forman los grandes haces de fibras del encéfalo, la médula espinal y los nervios periféricos.

Las interneuronas (Golgi tipo II) o neuronas de asociación, también poseen numerosas dendritas ramificadas, pero presentan un axón relativamente corto que se ramifica cerca del cuerpo celular. Las interneuronas se intercalan entre otras células nerviosas muy cercanas, de allí su nombre, y tienen por función mediar las señales entre muchas de estas neuronas cercanas en un grupo (Geneser y cols., 2000).

1.1.2 CELULAS DE LA NEUROGLIA

Además de las neuronas, el SNC cuenta con células de la neuroglía (células gliales), que son elementos de sostén, de origen ectodérmico. Estas células intervienen en la actividad bioquímica de las neuronas. La neuroglia se divide a su vez en macroglía y microglía. La macroglía esta constituida por: 1) Los

astrocitos llamados así por sus prolongaciones en forma de estrella y cuya función es dar sostén estructural y nutrición al SNC; 2) Los oligodendrocitos (gr. *oligos*, pocos) poseen menos prolongaciones ramificadas que los astrocitos, ayudan a mantener unidas las fibras nerviosas y producen mielina que envuelven a las fibras nerviosas localizadas en el SNC. 3) Las células de Schwann poseen un núcleo alargado y aplanado, en el plasmalema se forma una invaginación que rodea el axón. Las células de Schwann forma una vaina completa alrededor de los axones de mielina en el SNP a excepción de las terminales. 4) Microglía son células de origen mesodérmico que presentan prolongaciones cuya función es principalmente fagocítica. En caso de daño al tejido nervioso, las células residentes de la microglía se pueden transformar en microglía activa, con actividad fagocítica, que actúan como células presentadoras de antígenos profesionales (ver Células Dendríticas). La microglía son las primeras células que reaccionan ante una lesión del SNC, con divisiones, modificaciones morfológicas y liberación de sustancias de señal (citocinas). A continuación reaccionan la astroglia y la oligodendroglía, quizás inducidas por las sustancias señal emitidas por la microglía. (Geneser y cols., 2000).

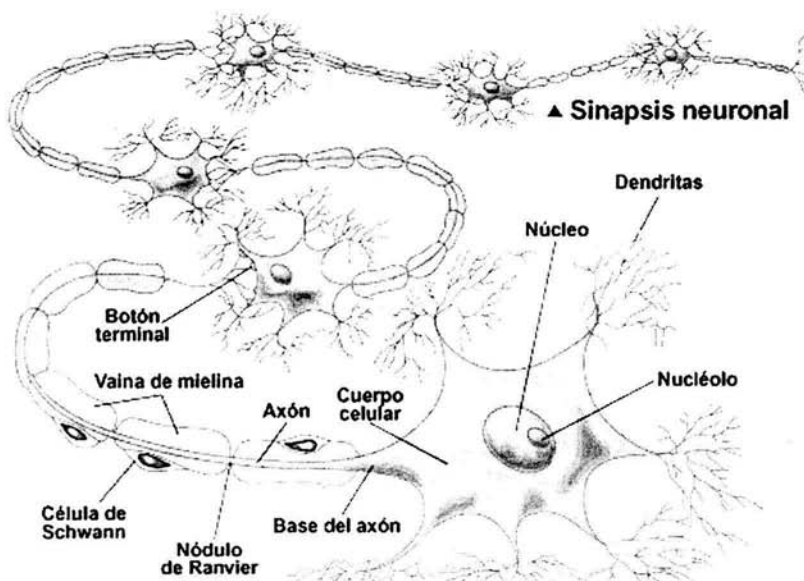


Figura 4. Disposición de mielina alrededor del axón. Se muestran los diferentes componentes que forman la vaina de mielina. www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/eny/esp_imagepages/9682.

1.1.3 MIELINA

La mielina está compuesta de lípidos y proteínas cuyas mutuas interacciones y asociaciones con el citoesqueleto determinan la estructura microscópica de la membrana. Los principales lípidos encontrados son: colesterol, fosfolípidos, galactolípidos y piasmalógenos (Russell, 1992). La cubierta de mielina actúa como un aislante, así como plástico alrededor de un alambre eléctrico, lo cual previene que la corriente escape a través de la porción mielinizada de la membrana. Entre las regiones mielinizadas, hay una zona en la membrana axonal desnuda y expuesta a los fluidos extracelulares. Es

sólo en estos espacios desnudos llamados Nódulos de Ranvier, que el potencial de membrana puede existir y la corriente puede fluir a través de la membrana (Figura 4). Consecuentemente, en una fibra mielinizada el impulso salta de un nodo a otro. Este proceso es llamado conducción saltatoria. La conducción saltatoria propaga el potencial de acción más rápidamente que la conducción por flujo de corriente local. Por lo tanto, fibras mielinizadas conducen impulsos 50 veces más rápidos que fibras no mielinizadas de tamaño comparable (Sherwood, 1997).

1.3. FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La conducción de los impulsos nerviosos a través de neuronas aferentes permite que la información pueda ser llevada a los centros donde se va a procesar e interpretar. Su función principal es transmitir los impulsos nerviosos desde los receptores hasta ciertas partes del sistema nervioso central, donde la información se recibe y se distribuye para la organización de reacciones a diferentes niveles. En cuanto la información llega a los centros, se somete a un complicado proceso de análisis y síntesis, tanto en el espacio como en el tiempo, mediante el cual se interpreta y se utiliza para elaborar reacciones que varían desde la respuesta más simple hasta los más complejos mecanismos que hacen posible la memoria.

La conducción del impulso puede ser vía axónica (conducción que se aleja del cuerpo celular) o vía dendrita (que se dirige hacia el cuerpo celular).

Cuando un impulso viaja a lo largo de un axón, de un nódulo de Ranvier a otro la transmisión característica es eléctrica. Cuando el impulso es transmitido de neuronas a neuronas a través de una sinápsis, la transmisión típica es química.

La capacidad de permeabilidad selectiva para ciertos iones es función de la membrana celular. Es esta propiedad de la célula nerviosa la que participa en la transmisión del impulso nervioso; el transporte activo de sodio, del axoplasma al líquido intersticial, proceso en el que participa una bomba de sodio, es la capacidad selectiva más importante de la membrana celular nerviosa. Esto da lugar a un potencial de membrana.

Cuando la concentración de sodio en el axoplasma es diferente con respecto a la concentración de sodio en el líquido intersticial, se genera un déficit de iones Na^+ dentro de la membrana celular. Por otra parte los iones potasio (K^+), para difundirse a través de la membrana celular, normalmente tendrían que equilibrar el otro lado de la membrana celular y alcanzar iguales concentraciones en ambos lados. La bomba de sodio impide que los iones sodio entren a la célula para ayudar a neutralizar las cargas negativas, de modo que los iones potasio están obligados electrostáticamente a concentrarse dentro de la célula. Estos iones solos en forma parcial compensan el déficit de carga positiva. El potencial electronegativo neto, creado dentro de la fibra a consecuencia de la acción de la bomba de sodio, es llamado potencial de membrana. En estado de reposo de la fibra nerviosa, la carga es positiva por fuera de la membrana y negativa por dentro de la misma.

La disminución del potencial de membrana en reposo implica la ligera inversión de polaridad denominada despolarización de la fibra (Parker y cols., 1985). Los pulsos de corriente son hiperpolarizantes o depolarizantes, dependiendo del flujo de corriente. Los términos depolarizante e hiperpolarizante pueden resultar confusos: una modificación del potencial de membrana de -90mV a -70mV es una depolarización que constituye una reducción de la diferencia de potencial, o polarización de la membrana. Si el potencial de membrana cambia de -90mV a -100mV , la polarización de la membrana ha aumentado y se habla de hiperpolarización. El potencial de acción se dispara cuando la depolarización es suficiente para que el potencial de membrana alcance un determinado valor umbral, que es de aproximadamente -55mV (para el axón gigante de calamar) (Barne, 1992).

I.4. GENERALIDADES DEL SISTEMA INMUNE.

El sistema inmune es un sistema de defensa que ha evolucionado en vertebrados para protegerlos de la invasión de microorganismos patogénicos y del cáncer. Este es capaz de generar una enorme variedad de células y moléculas capaces de reconocer específicamente y eliminar una aparente ilimitada variedad de invasores extraños. Estas células y moléculas actúan juntas en una exquisita red dinámica cuya complejidad rivaliza con el sistema nervioso. Funcionalmente, una respuesta inmune puede ser dividida en dos actividades relacionadas: “*el reconocimiento y la respuesta*”. El sistema inmune es capaz de reconocer diferentes químicos sutiles que distinguen a un patógeno de otro. Además, este sistema es capaz de distinguir entre moléculas extrañas de proteínas del propio cuerpo. Una vez que el organismo extraño ha sido reconocido, el sistema inmune enlista la participación de una variedad de células y moléculas para montar una respuesta apropiada, llamada respuesta efectora, dicha respuesta elimina o neutraliza al organismo o molécula invasora. En este sentido el sistema inmune es capaz de convertir un evento inicial de reconocimiento en diferentes respuesta efectora, cada una capaz de eliminar un tipo de partícula del patógeno. Más adelante, la exposición al mismo organismo extraño induce una respuesta de memoria, que es caracterizada por una rápida e incrementada reacción inmune que sirve para eliminar al patógeno y prevenir una enfermedad.

Los mecanismos protectivos del cuerpo son divididos en dos principales tipos: inmunidad innata y adaptativa. La resistencia innata esta presente en todos los individuos normales, y no requiere previa exposición para ser efectiva, y opera sobre agentes infecciosos en la misma vía, cada vez que el individuo es expuesto. La respuesta inmune adaptativa es un mecanismo de defensa específico, que no es activo hasta que el individuo es expuesto al agente infeccioso (Goldsby y cols., 2000).

I.4.1 INMUNIDAD INNATA.

El mecanismo de defensa innata contra invasores extraños incluye barreras mecánicas (la piel, mucosas que revisten el tracto gastro intestinal), productos secretados (enzimas digestivas) y células inflamatorias (macrófagos, neutrofilos, células NK). La resistencia innata esta presente todo el tiempo en individuos normales. Su efectividad puede ser moduladas por condiciones fisiológicas (nutrición, edad y niveles hormonales). La resistencia innata no distingue entre microorganismos de diferente especie y no altera en intensidad después de una reexposición (Sell y cols., 2001).

I.4.2 INMUNIDAD ADAPTATIVA.

La inmunidad específica o adaptativa es capaz de reconocer y específicamente eliminar microorganismos extraños y moléculas (es decir, antígenos extraños). Muestra cuatro atributos característicos:

- * Especificidad antigénica
- * Diversidad
- * Memoria inmunológica
- * Reconocimiento de lo propio y no propio

La especificidad antigénica del sistema inmune permite distinguir sutiles diferencias entre antígenos. Así anticuerpos pueden distinguir entre dos proteínas que difieren en sólo una aminoácido. El sistema inmune es capaz de generar una tremenda diversidad, permitiendo reconocer billones de diferencias estructurales en antígenos extraños. Una vez que el sistema inmune ha reconocido a un antígeno que había sido expuesto anteriormente, este induce un estado altamente incrementado de reactividad inmunológica; lo que indica que el sistema inmune tiene memoria. El sistema inmune puede conferir inmunidad a lo largo de la vida contra muchos agentes infecciosos después de un encuentro inicial.

Finalmente, el sistema inmune normalmente responde sólo a antígenos extraños, indicando que es capaz de reconocer lo propio de lo extraño, ya que si el sistema inmune reaccionara contra componentes propios podría originar una enfermedad autoinmune (Goldsby y cols., 2000).

I.4.3 ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE.

I.4.3.1.a. MEDULA OSEA.

La médula ósea es un tejido blando encontrado en muchos huesos del esqueleto del cuerpo, es el sitio de producción de nuevas células sanguíneas. Este órgano contiene células grasas, células estromales y células formadoras de la sangre (tejido hematopoyético). En la médula ósea están presentes precursores de células sanguíneas rojas (eritrocitoblastos), macrófagos (monoblastos), plaquetas (megacariocitos), leucocitos polimorfonucleares (mioblastos) y linfocitos (linfoblastos) (Sell y cols., 2001).

I.4.3.1.b. TIMO

El timo esta localizado en la parte superior de la cavidad torácica, por detrás del esternón. Alcanza su peso máximo de 50 gramos durante la infancia y en la pubertad comienza a involucionar. El timo está compuesto por dos lóbulos, derecho e izquierdo unidos mediante tejido conectivo en la parte media. Se desarrolla a partir de los epitelios ectodérmicos y endodérmicos del tercer surco branquial externo e interno, respectivamente, pero se transforma en un órgano linfo-epitelial con la posterior invasión de células madres (Stem) de linfocitos T.

Las células T comienzan su maduración en el timo que es completada en la perifería de otros órganos linfoides (es decir nódulos linfáticos) (Geneser y cols., 2000).

I.4.3.2.a NÓDULOS LINFÁTICOS.

Los nódulos linfáticos son pequeños agregados nodulares de tejido rico en linfocitos situados a lo largo de canales linfáticos a través del cuerpo. Cada nódulo linfático es rodeado por una cápsula fibrosa que penetra por numerosas vénulas linfáticas aferentes, y vacían linfa dentro de una zona subcapsular o seno marginal. Debajo del seno subcapsular, el nódulo consiste de una corteza exterior y una paracorteza interna. Debajo de la paracorteza, está la médula, que consiste de cordones medulares que conducen al seno medular. Estos cordones son poblados por macrófagos y células del plasma. La sangre es dirigida a nódulos linfáticos vía una arteria que entra a través del hilum y ramas dentro de los capilares en la corteza exterior. Los linfocitos salen de la circulación y entran al estroma de los nódulos a través de vénulas especializadas llamadas vénulas endoteliales altas (HEV's) en la paracorteza (Abbas y cols., 2000).

I.4.3.2.b. BAZO.

El bazo es un órgano que pesa unos 150 g en los individuos adultos, localizado en el cuadrante superior del abdomen. Está vascularizado por una sola arteria esplénica, que atraviesa la cápsula en el hilio y se divide en rama cada vez más pequeñas. Los linfocitos y las células accesorias están dispuestos anatómicamente en el bazo como lo están en ganglios linfáticos. La función del bazo y su respuesta frente antígenos es muy similar a la de los ganglios linfáticos, siendo la diferencia esencial que el bazo

es el primer lugar de la respuesta inmune frente a antígenos transportados por la sangre, mientras que los ganglios linfáticos están implicados en la respuesta frente a antígenos transportados por la linfa. El bazo es también un importante filtro de la sangre; sus macrófagos de la pulpa roja limpian la sangre de sustancias extrañas y de eritrocitos viejos (Abbas y cols., 2000).

I.4.3.2.c SISTEMA INMUNE CUTANEO.

La piel contiene un sistema inmune especializado, consistente en linfocitos y moléculas accesorias, que sirven para optimizar la detección de antígenos del medioambiente. La piel es un gran órgano en el cuerpo y la principal barrera física entre un organismo y su medio ambiente externo. La principal población celular en la epidermis son los queratinocitos, melanocitos, células Langerhans epidérmicas, y células T intraepiteliales. Los queratinocitos y melanocitos no parecen ser importantes mediadores de la inmunidad adaptativa, aunque los queratinocitos producen varias citocinas que pueden contribuir a la reacción innata y a la inflamación cutánea (Abbas y cols., 2000).

I.4.3.2.d. TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS.

La mucosa que recubre al aparato digestivo, respiratorio y sistema urogenital es la principal entrada de muchos patógenos. Estas superficies vulnerables membranosas son defendidas por un grupo de tejido linfoide organizado conocido colectivamente como tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) (del inglés mucosa-associated lymphoid tissue). Estructuralmente, este tejido está organizado en grupos de células linfoides en la lámina propia del intestino también puede organizarse en estructuras tales como la amígdala y el apéndice, así como placas de Peyer's, que se localizan en la capa submucosa del revestimiento intestinal (Goldsby y cols., 2000).

I.4.4 CELULAS DEL SISTEMA INMUNE.

Todas las células sanguíneas se originan de una célula stem común que se convierte en diferentes linajes (eritroide, megacariocitos, granulocitos, monocitos y linfocitos). Las células stem les falta el marcador de diferenciación de células sanguíneas y expresan dos proteínas llamadas CD34 y Sca-1 (del inglés stem cell antigen-1).

Durante la vida fetal, los glóbulos rojos y blancos se forman en varios órganos antes de la diferenciación de la médula ósea. La primera fase de hemopoiesis o hematopoyesis en el individuo en formación ocurre en los "islotos sanguíneos", en la pared del saco vitelino. En la segunda fase hepática, también temprana en el desarrollo, aparecen centros hematopoyéticos en el hígado (y los tejidos linfoides); durante cierto tiempo, el hígado es el principal órgano productor de elementos en la sangre fetal. La tercera fase de la hematopoyesis fetal ocurre en la médula ósea (y otros tejidos linfoides). Después del nacimiento, la hematopoyesis se produce en la médula ósea y en los tejidos linfoides al igual que en adultos. (Ross y cols., 1997).

En etapas tempranas de la hematopoyesis, una célula pluripotente se diferencia en dos vías dando origen tanto a una célula común progenitora linfoide o una célula stem mielóide (figura 7). Las células progenitoras linfoides dan origen a células T, B y células asesinas naturales (NK) mientras las células progenitoras mieloides dan origen a células rojas de la sangre (eritrocitos), además de células blancas (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y células cebadas), y plaquetas. En la médula ósea adulta, estas células hematopoyéticas crecen y maduran en una malla de células estromales, que son células no hematopoyéticas que dan soporte al crecimiento y a la diferenciación de células hematopoyéticas. Las células estromales pueden incluir: células grasas, células endoteliales, fibroblastos, y macrófagos (Goldsby y cols., 2000).

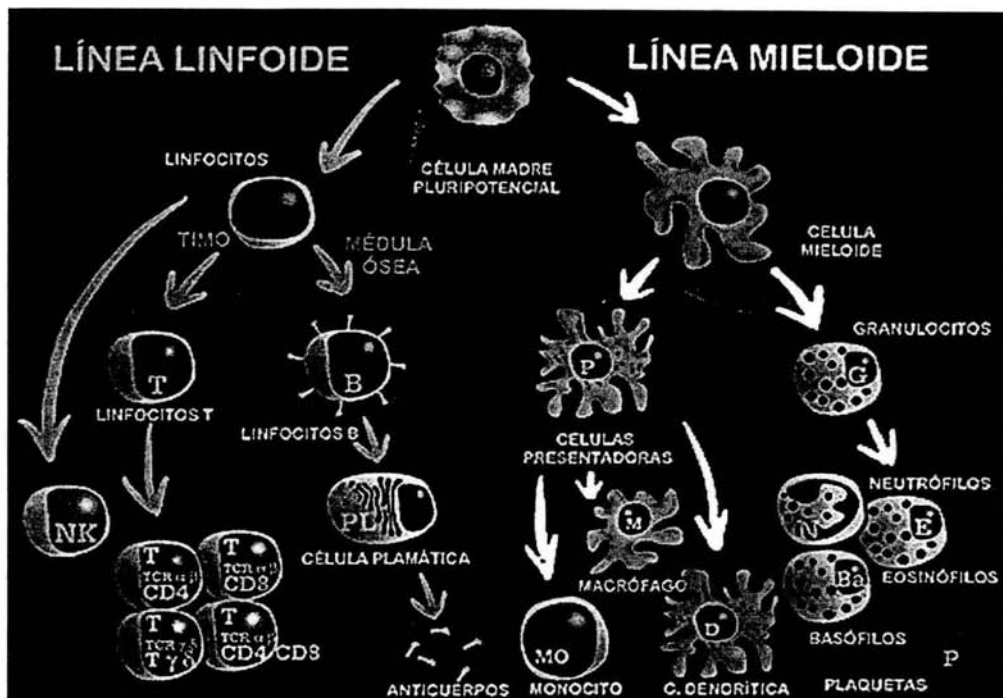


Figura 5. A partir de una célula pluripotente (stem) se origina el repertorio de células que componen el sistema inmunológico www.inia.es/cieex/segun1.htm.

I.4.4.1 CELULAS MONONUCLEARES

El sistema mononuclear fagocítico, consiste de monocitos circulantes en sangre y macrófagos dentro de tejidos. Durante la hematopoyesis en la médula ósea, las células progenitoras de monocitos se diferencian en promocitos, que viajan hacia la médula ósea y posteriormente entran a la sangre, donde se diferenciarán en monocitos maduros (Goldsby y cols., 2000). Estos monocitos tienen un diámetro aproximado de 10 a 15 μm , su núcleo tiene forma de frijol, y su citoplasma granular contiene lisosomas, vacuolas fagocíticas y filamentos del citoesqueleto (Abbas y cols., 2000). Los monocitos circulan en el flujo sanguíneo por cerca de 8 horas, durante las cuales se hacen más grandes, para después migrar hacia dentro de los tejidos diferenciándose en macrófagos.

La diferenciación de un monocito a macrófago de tejido involucra varios cambios. La célula se agranda 5 veces, sus organelos incrementan tanto en número como en complejidad; y adquiere su capacidad fagocítica, produciendo altos niveles de enzimas hidrolíticas, y secretando una variedad de factores solubles. Los macrófagos libres viajan con movimiento ameboso a través de los tejidos. Los macrófagos tienen diferentes funciones en diferentes tejidos y se nombran acorde a la localización en el tejido: Macrófagos alveolares en el pulmón, Histiocitos en tejido conectivo, Células de Kupffer en el hígado; Células Mesangiales en el riñón; Células de la Microglía en el cerebro y Osteoclastos en hueso.

La principal función de los macrófagos es la eliminación de agentes extraños que puedan originar una enfermedad a través del fenómeno conocido como fagocitosis, además son eficientes presentadoras de antígenos (CPAs). La actividad de macrófagos puede ser incrementada tanto por células T CD4⁺ cooperadoras (ver células T) mediadoras de la respuesta inflamatoria, o por componentes de la pared bacteriana. Uno de los más potentes activadores de macrófagos es el interferón gamma (INF- γ), secretado por células T CD4⁺ (fenotipo T_{H1}) activadas.

La fagocitosis es un proceso dependiente del citoesqueleto que puede atrapar grandes partículas (>0.5 μ m en diámetro). Un fagocito utiliza varios receptores de superficie para unirse a partículas extrañas o a microbios, extendiendo la membrana en proyecciones alrededor del microbio permitiendo su ingreso hacia dentro de la célula. Una vez que el agente extraño es introducido al fagocito hay una unión del lisosoma con una estructura denominada fagosoma donde están almacenadas enzimas proteolíticas que al contacto con el microbio lo destruyen. Un segundo mecanismo antimicrobiano utilizado por macrófagos (además de los neutrófilos), es la conversión catalítica de oxígeno molecular a radicales libres oxihalidos, agentes que destruyen microbios (y a otras células). La fagocito oxidasa es una enzima multimerica que reduce al oxígeno molecular intermediario, como el radical superóxido, en la forma reducida de nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (NADPH), usado como un cofactor. El anión superóxido es reducido a peróxido de hidrógeno. El proceso de generación de radicales libres es conocido como bolsa respiratoria. Además del sistema óxido-fagocito, los macrófagos tienen un segundo sistema de generación de radicales libres a través de la enzima inducible óxido nítrico sintasa. Esta enzima cataliza la conversión de arginina a citrulina y la liberación del gas óxido nítrico. El óxido nítrico liberado de los macrófagos puede combinarse con el peróxido de hidrógeno o con el anión superóxido para generar peroxinitrito reactivo que puede matar a bacterias, sin embargo puede también dañar a la membrana de las células (Abbas y cols., 2000).

I.4.4.2 NEUTROFILOS.

Los neutrófilos, también llamados leucocitos polimorfonucleares por su núcleo multilobulado y de diferentes formas, son los más numerosos. Responden con rapidez a un estímulo quimiotáctico, fagocitan y destruyen partículas extrañas, tales como microorganismos; también pueden ser activados por citocinas producidas por macrófagos y células endoteliales, y son la principal población de células en la respuesta inflamatoria aguda. Los neutrófilos también poseen receptores para un tipo de anticuerpo, IgG, y para proteínas del complemento, además migran y se acumulan en lugares de activación del complemento. Por lo tanto, fagocitan con avidez partículas opsonizadas y actúan como células efectoras de la inmunidad humoral (Abbas y cols., 2000).

I.4.4.3 EOSINOFILOS

Se cree que los eosinófilos actúan principalmente en la defensa frente a cierto tipo de agentes infecciosos. Los eosinófilos expresan receptores para un isotipo del anticuerpo IgE y son capaces de unirse con avidez a partículas cubiertas por él. Son particularmente eficaces destruyendo agentes infecciosos que estimulan la producción de IgE, como los parásitos helmintos. De hecho, los helmintos pueden ser relativamente resistentes a las enzimas lisosomales de neutrófilos y macrófagos, pero a menudo mueren por la acción de proteínas especializadas de los gránulos de eosinófilos. Los eosinófilos son también abundantes en los lugares en que se producen las reacciones de hipersensibilidad inmediata (alérgicas); en este marco, los eosinófilos contribuyen a la lesión de los tejidos y a la inflamación. El crecimiento y diferenciación de los eosinófilos está estimulado por la citosina IL-5 derivada de células CD4⁺ cooperadoras, y la activación de la célula T puede contribuir a

la acumulación de eosinófilos en los lugares de infestación parasitaria y de reacciones alérgicas (Abbas y cols., 2000).

I.4.4.4 BASOFILOS Y CELULAS CEBADAS

Son el equivalente circulante de los mastocitos tisulares. Tanto los basófilos como las células cebadas expresan receptores de alta afinidad por la IgE y, por lo tanto se unen con avidéz a anticuerpos del isotipo IgE. La interacción posterior de los antígenos con anticuerpos del isotipo IgE estimulan a los basófilos y a las células cebadas para secretar el contenido de sus gránulos, que son mediadores químicos de la hipersensibilidad inmediata. De este modo, estos granulocitos son células efectoras de la hipersensibilidad inmediata mediada por IgE (Abbas y cols., 2000). La liberación del contenido de los gránulos de células cebadas tiene un efecto marcado en arteriolas del músculo liso (dilatación) y en la permeabilidad de capilares (contracción de células endoteliales). La liberación de estos agentes activos farmacológicos por parte de las células cebadas, es el mecanismo responsable para el temprano cambio inflamatorio, además de promover reacciones anafilácticas y alérgicas atópicas (Sell y cols., 2001).

I.4.4.5 CELULAS ASESINAS NATURALES

El término de células asesinas es usado porque las células NK (del inglés natural killers) están presentes sin previa inmunización y actúan inmediatamente en células blanco; son parte de la inmunidad innata. Las células NK muestran propiedades similares a células T, macrófagos, células B y granulocitos.

Las células NK son activadas por reconocimiento de tres tipos de blancos: células cubiertas por anticuerpos, células infectadas por virus y algunas bacterias intracelulares, y células a las que les faltan MHC. Una célula que normalmente expresa la moléculas de MHC clase I no es blanco de la acción de las células NK, sin embargo en células que les falta la molécula de MHC como en el caso de algunos tumores, son el blanco de la acción de las NK. Así, células NK pueden ser importantes en la defensa contra células tumorales e infecciones por algunos virus que evitan la acción de células T citotóxicas (CD8) a través de la desregulación de la moléculas del MHC clase I. (Sell y cols., 2001).

I.4.4.6 CELULAS DENDRÍTICAS

Las Células Dendríticas son células accesorias que desempeñan funciones importantes en la inducción de la respuesta inmune. Estas células se identifican morfológicamente como células con proyecciones o espinosas. Existen dos tipos de células dendríticas con diferentes propiedades y funciones. Las células dendríticas interdigitales, están presentes en los intersticios de la mayor parte de los órganos, son abundantes en áreas ricas en células T de los ganglios linfáticos y bazos, y están dispersas a lo largo de la epidermis, donde se llaman células de Langerhans. Son extremadamente eficientes en la presentación de antígenos proteicos (CPAs) a células T CD4 cooperadoras. Las células de Langerhans son capaces de captar antígenos que entran a través de la piel y transportarlos a los ganglios linfáticos regionales, donde se inicia la respuesta inmune. El segundo tipo de célula dendrítica se llama célula dendrítica folicular porque está presente en los centros germinales de los folículos linfoides de los ganglios linfáticos, bazos y tejidos linfoides asociados a mucosas (Abbas y cols., 2000).

I.4.4.7 CELULAS T

La maduración de células T ó linfocitos T a través de estados secuenciales son mejor definidos por la expresión del TCR (receptor de reconocimiento a antígenos) y de los coreceptores CD4 y CD8. Los

timocitos inmaduros que recién arriban de la médula espinal se les denomina dobles negativos (DN), ya que no expresan TCR (del inglés T Cell Receptor), CD3, la cadena ζ (cadena zeta), ni los marcadores CD4, CD8. También son conocidos como el estado pro-célula T de maduración. El siguiente estado de maduración es denominado como estado pre-célula T. La mayoría (> 90%) de los linfocitos DN dan origen al receptor TCR, el cual expresa las cadenas $\alpha\beta$. El estado pre-células T se caracteriza por la expresión de la cadena $\alpha\beta$ del TCR, que se encuentra en bajos niveles sobre la superficie celular en asociación con proteínas invariantes llamadas pre-T α , junto con CD3 y la proteína ζ , formando el pre-receptor de la células T, esencial para la proliferación de los próximos estados de maduración de linfocitos DN. En el siguiente estado de maduración, timocitos expresan tanto los marcadores CD4 y CD8, y son llamadas timocitos dobles positivos (DP). La expresión de CD4 y CD8 es esencial para los eventos subsecuentes de selección. La expresión de los genes del TCR α ocurre en el estado DP y este lleva a la formación del complejo TCR $\alpha\beta$, que es expresado sobre la superficie celular en asociación con CD3 y la proteína ζ . En este estado, los linfocitos responden a antígenos y son sujetos a una selección positiva y negativa. En la selección positiva, los timocitos cuyo TCRs unen con baja afinidad (débilmente) al complejo: *MHC-propio* \leftrightarrow *péptido-propio*, son estimulados para sobrevivir; así timocitos cuyo receptor no reconoce al MHC propio mueren. Durante la selección negativa, los timocitos cuyo TCR une con alta afinidad a antígenos propios en asociación con moléculas del MHC propias son muertos o eliminados. Las células que exitosamente pasan por estos procesos de selección maduran en células T CD4⁺ y CD8⁺ que son conocidos como linfocitos simples positivos (SP). La maduración fenotípica es acompañada por la maduración funcional. Las células T CD4⁺ adquieren la capacidad para producir citocinas en respuesta a una estimulación subsecuente por antígenos y a la expresión de otras moléculas (tales como ligando CD40) que ayudan a reconocer a linfocitos B y macrófagos (células presentadoras de antígenos), donde las células CD8⁺ son capaces de producir moléculas que lisan a otras células (Abbas y cols., 2000).

1.4.4.8 CELULAS B.

La característica celular definitoria de la línea de células B ó linfocitos B, es su capacidad para sintetizar proteínas llamadas inmunoglobulinas. Ninguna otro tipo celular expresa estas proteínas. Las inmunoglobulinas son una familia de proteínas diversas en extremo; cada inmunoglobulina está constituida por dos tipos relacionados de péptidos llamados cadena pesada y cadena ligera. Cada inmunoglobulina se fija específicamente a un gran número de determinantes químicos que se encuentran en proteínas, carbohidratos, lípidos u otras macromoléculas. La función principal de las células B consiste en secretar anticuerpos en la sangre y en otros líquidos corporales, y provocar que los líquidos resulten inadecuados para la proliferación de invasores extraños. Tales células constituyen el principal tipo celular que participa en la inmunidad humoral, por lo que sus efectos de protección son mediados a través de los líquidos tisulares. No obstante, las células B también desempeñan dos funciones adicionales en el sistema inmunitario. En primer lugar, pueden funcionar como células presentadoras de antígenos, al transformar y mostrar las sustancias extrañas, de manera que los linfocitos T puedan reconocerlas. En segundo lugar, las células B activadas pueden secretar ciertas citocinas, y otros factores que influyen en el crecimiento de otras células inmunológicamente importantes (Stites y cols., 1996).

1.7. COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD

La respuesta inmune contra todos los antígenos proteínicos requiere el procesamiento y la presentación inicial del antígeno a las células T por parte de células CPAs. La razón de este requerimiento es que las

células T reconocen sólo antígenos extraños cuando éstos se fragmentan en péptidos cortos, que luego se presentan en relación con proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, del inglés Major Histocompatibility Complex) en las superficies celulares. El MHC también se conoce como complejo HLA, nombre que deriva del hecho que personas que habían recibido transfusiones sanguíneas múltiples o que habían estado embarazadas en varias ocasiones en la década de los 50', presentaban anticuerpos en el suero que reaccionaban con leucocitos de otros integrantes de la población. Los antígenos implicados se denominaron antígenos de leucocitos humanos (HLA). Los HLA y los genes que los codifican, se subdividen en tres tipos:

- Genes MHC Clase I: Codifican glicoproteínas expresadas sobre la superficie de toda las células nucleadas; la principal función de los productos de la clase I es la presentación de péptidos antigénicos a células T CD8 citotóxicas.
- Genes MHC Clase II: Codifican glicoproteínas expresadas en APC (macrófagos, células dendríticas, y células B), donde presentan al antígeno procesado a las células T CD4.
- Genes MHC Clase III: Generalmente codifican varias proteínas secretadas que tienen funciones inmunes, incluyendo los componentes del sistema del complemento y moléculas involucradas en la inflamación. (Stites y cols., 1996).

Los genes que codifican para el MHC humano (complejo HLA) se extienden aproximadamente 3.5×10^6 pb en el brazo corto del cromosoma 6. Puede dividirse en tres regiones separadas, que contienen genes de las clases I, II y III. Hay tres genes dentro de la región de la clase I, designados como *loci* HLA-A, HLA-B y HLA-C. De manera similar, hay tres genes en la clase II, conocidos como *loci* HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR. Cada uno de estos genes existe en múltiples formas alélicas, o sea, una copia cualquiera de múltiples versiones alternativas de cada gen, lo que origina proteínas con secuencias diferentes. Por ejemplo, se han identificado cuando menos 24 alelos de HLA-A y 50 alelos de HLA-B en la población humana, y el número real de alelos funcionalmente distintos puede ser mayor. De hecho, el complejo HLA es el sistema genético más polimórfico que se conoce. Cada persona hereda dos copias del cromosoma y, por lo tanto, puede expresar hasta seis proteínas diferentes de clase I y seis diferentes de clase II (los productos de dos alelos diferentes en cada *locus*). Debido al polimorfismo extremo de estos *loci*, la probabilidad de que dos individuos expresen conjuntos idénticos de proteínas HLA es muy bajo (Stites y cols., 1996).

1.8. FASES DE LA RESPUESTA INMUNE

1.8.1 RECONOCIMIENTO DEL ANTIGENO.

Cuando una proteína antigénica entra al cuerpo, es procesada por células presentadoras de antígenos y mostrada en forma de péptidos asociados al MHC II a los linfocitos T CD4+. La respuesta primaria de células T se lleva a cabo a través del reconocimiento del complejo MHC-péptido en la CPA en los nódulos linfáticos. La consecuencia principal de la activación de células T nativas (naive) es la proliferación de clonas antígeno-específicas, llevando a la diferenciación de la progenie de células T efectoras y de memoria. (Abbas y cols., 2000)

1.8.2 ACTIVACION DE LINFOCITOS.

La activación de células T requiere del reconocimiento del complejo péptido-MHC por el receptor de la célula T (TCR) e interacción de moléculas coestimuladoras (CD3, CD28, CD45) entre ambos tipos celulares, lo que permita una segunda señal para la activación de células T (figura 6) (Abbas y cols., 2000).

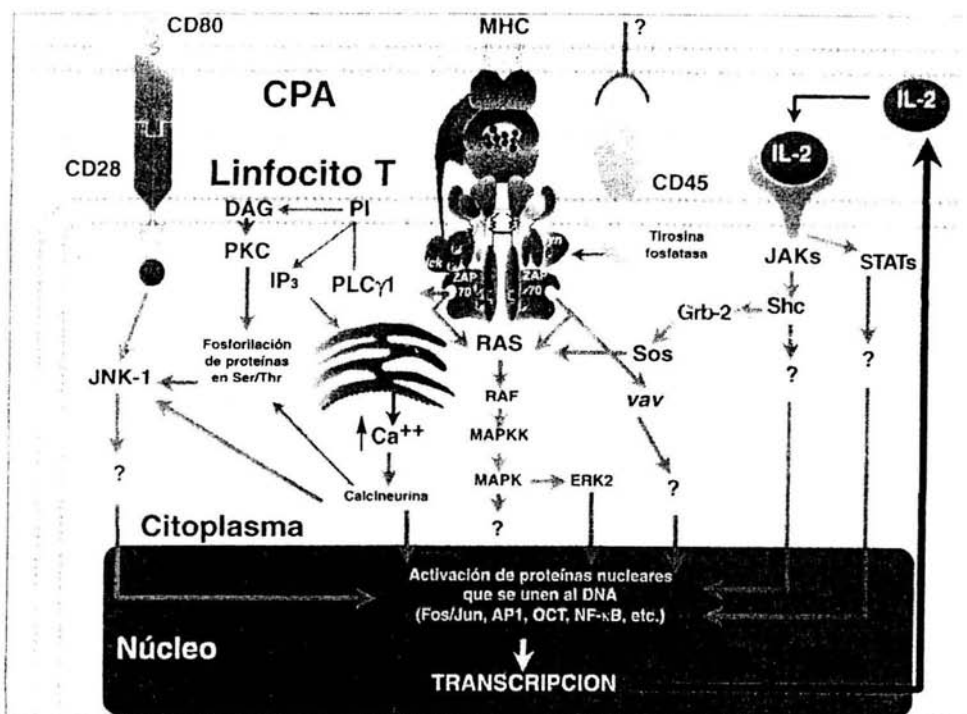


Figura 6. Traducción de señales por el TCR y moléculas coestimuladoras durante la activación de un linfocito T por un antígeno. El esquema ilustra la interacción del linfocito CD4. flecha rosa= actividad de tirosina cinasa; flecha verde= activación por mecanismo diversos; flecha roja= actividad catalítica o inhibición, flecha negra= secreción. Los signos de interrogación indican mediadores desconocidos y en proceso de definición (Moreno, 1996).

1.8.3 DIFERENCIACIÓN EN CELULAS EFECTORAS

Algunos linfocitos estimulados por el antígeno se diferencian en células efectoras, cuya función es eliminar al antígeno. Las células T CD4⁺ secretan citocinas que activan a otras células. Cerca de 48 horas después de la activación, las células T nativas (naive) aumentan de tamaño y pasan por repetidas divisiones celulares. Estas señales dirigen la entrada de la célula T en la fase del ciclo celular de síntesis, y al mismo tiempo, induce la transcripción del gen para IL-2 de la cadena α del receptor de IL-2 de alta afinidad. Además, la señal co-estimuladora incrementa la vida media del mRNA de IL-2. El incremento en la transcripción de IL-2 incrementa la producción de IL-2 100 veces en la células T activadas (Goldsby y cols., 2000).

I.8.4 HOMEOSTASIS:

Al final de la respuesta inmune regresa a su estado basal, en gran parte porque mucha de la progenie de linfocitos estimulados por el antígeno mueren por apoptosis (Abbas y cols., 2000).

I.8.5 DIFERENCIACIÓN EN CELULAS DE MEMORIA

Parte de la progenie de linfocitos B y T estimulados por el antígeno no se diferencia en células efectoras, sino que se transforma en linfocitos de memoria funcionalmente inactivos, capaces de sobrevivir durante largos periodos de tiempo aparentemente en ausencia de antígenos (Abbas y cols., 2000).

I.9. INERVACIÓN DE ORGANOS LINFOIDES

El sistema neuroendocrino está inmediatamente conectado e involucrado en comunicación bidireccional con el sistema inmune. Hay dos conexiones principales: el sistema nervioso simpático (es decir epinefrina) y el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal. A través de estas conexiones una neural, y la otra endocrina, se modula la actividad inmune e inflamatoria. El sistema inmune y sus productos (linfocinas y monocinas) pueden modificar las funciones neuroendocrinas, y a su vez las hormonas neuroendocrinas pueden incrementar o decrementar las reacciones inmunes.

Hay inervación del timo, bazo y médula ósea a través del sistema nervioso autónomo. El timo es abastecido por nervios derivados del vago, frénico, y nervio laríngeal recurrente, así como otros pequeños ganglios en la cadena simpática torácica; pero muchas de las inervaciones de la médula del timo son derivadas del nervio vago, que termina como un plexo corticomedular; donde timocitos pequeños y de tamaño medio, se cree que son parcialmente diferenciados, y localizados. Las células T no diferenciadas ocupan la mayor parte de la corteza, donde terminan las fibras nerviosas frénica y laríngeal recurrente. No se conoce el posible papel de estas inervaciones en el desarrollo de timocitos. La inervación primaria del bazo son nervios simpáticos colinérgicos del ganglio celiaco, que terminan en la arteriola central de la pulpa blanca. No es claro si estas terminales son importantes para la regulación del flujo sanguíneo. En nódulos linfáticos, fibras acetilcolinérgicas son restringidas a la cápsula, además fibras catecolinérgica del plexo perivascular, parecen regular el flujo sanguíneo. La presencia tanto de fibras nerviosas aferentes y eferentes en la médula sugiere que el reflejo autonómico puede influenciar la función de la médula, que es función de las células sanguíneas.

Los linfocitos tienen receptores adrenérgicos, no sólo para norepinefrina, sino también para una variedad de neuropéptidos incluyendo polipéptidos vaso-activos intestinales. Además, los linfocitos activados pueden ser capaces de secretar neuropéptidos. La estimulación de órganos linfoides puede incrementar o decrementar la producción de anticuerpos, dependiendo de que tipo de receptor (alfa o beta) es activado: La activación del adrenoreceptor 2-beta incrementa la producción temprana de anticuerpos pero suprime la respuesta tardía de los mismos; el efecto de la estimulación del adrenoreceptor-alfa es controversial.

La hormona adrenocorticotropina (ACTH) y la cortisona también se activan en el control de la respuesta inmune. Durante una inmunización activa, los niveles de cortisona de la sangre son elevados, y la respuesta inmune a un segundo antígeno en una respuesta activa es deprimida (competencia antigénica). Ha sido mostrado que las citocinas IL-1 e IL-6 pueden actuar incrementando los niveles de secreción de ACTH a través de la glándula pituitaria, incrementando el factor de liberación de corticotropina en el hipotálamo. ACTH actúa en la glándula adrenal para incrementar la producción de corticosteroides, y los corticosteroides reducen la actividad de linfocitos. ACTH puede también estar incrementada por el estrés, y en varios estudios se ha mostrado que la respuesta inmune puede ser

suprimida durante el tiempo de estrés fisiológico. Finalmente los opioides pueden incrementar el efecto inflamatorio de neutrófilos, macrófagos, células cebadas y células natural killers, decreyendo la producción de anticuerpos. Por lo tanto, el papel de los neurotransmisores de señales específicas a células del sistema inmune y el efecto de las hormonas sobre estos no se comprende del todo, sin embargo tienen un papel importante en la respuesta inmune (Sell y cols., 2000).

I.10. FISIOPATOLOGIA DE LA LESION EN MEDULA ESPINAL.

La lesión traumática de la médula espinal (LTME), ocasiona alteraciones estructurales y funcionales que van desde el bloqueo transitorio de la conducta eléctrica, hasta la falta total de la misma, dependiendo del grado de lesión (Goodkin y Cambell, 1977; Balentine, 1983). Después de producirse una lesión medular mecánica (lesión primaria), se desencadenan una serie de mecanismos autodestructivos (lesión secundaria), que originan una destrucción mayor del parénquima medular con secuelas a largo plazo (Goodki y Cambell, 1979; Balentine, 1983; Lemke y cols., 1987). El primer mecanismo secundario que aparece después de la LTME es la pérdida de la regulación iónica, incrementándose la concentración de los iones de Na^+ y Ca^{2+} intracelulares y disminuyendo los iones K^+ y Mg^{2+} ; esto lleva a una depolarización de la membrana neuronal y al acarreo de moléculas de agua asociadas con los iones de Na^+ y Ca^{2+} , lo que produce un edema (Lemke y cols., 1987; Young y Koreh, 1986). El exceso de Ca^{2+} libre intracelular, activa a las proteasas neutras que destruyen neurofilamentos, parte fundamental del citoesqueleto axonal, observándose en las primeras horas o días poslesión un colapso y fragmentación axonales (Siegel y cols 1998). Además del Ca^{2+} libre también se activan proteasas y fosfolipasas que actúan sobre la mielina destruyéndola (Balentine 1988). Asimismo se observa liberación de glutamato y aspartato en grandes cantidades, como resultado de la entrada masiva de Ca^{2+} provocando excitación intensa de neuronas viables. Este efecto tóxico se conoce como exitoxicidad (Faden y Sinon, 1988). Otro mecanismo de la lesión secundaria es la neurotoxicidad causada por el ataque de los radicales libres (RL) a las biomoléculas del tejido nervioso (estrés oxidativo) (Zwart y cols. 1998). El SNC es particularmente sensible al ataque de los RL por varias razones. La membrana celular lipídica es rica en colesterol y ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son blanco preferencial de los RL de oxígeno. Además el SNC es rico en hierro, y éste es el principal inductor de la producción de RL después de una lesión en el propio SNC. De igual forma, el SNC tiene pocas defensas antioxidantes, lo que origina que sea aún más vulnerable (Faden 1987). Cuando ocurre una LTME, los RL también atacan a otras biomoléculas como las proteínas, el DNA y el RNA, provocando mutaciones o daños irreversibles que llevan a la muerte celular (Zwart y cols., 1998). Otra molécula que es producida por diferentes tipos celulares después de una LTME y que puede dañar el parénquima medular es el óxido nítrico (ON) (Hamada y cols., 1996). Cuando se activan los receptores del tipo NMDA por acción del glutamato, se abren canales de Ca^{2+} acoplados al receptor, así como canales sensibles a voltaje, aumentando la concentración de Ca^{2+} intracelular. El Ca^{2+} a su vez activa a la óxido-nítrico-cintasa constitutiva (ONSc), originando un incremento en la síntesis de ON. El ON reacciona con el anión súper-óxido para formar peroxidonitrito ($\text{O}_2^- + \text{NO} \rightarrow \text{ONOO}^-$). A pH fisiológico el peroxinitrito reacciona con las proteínas, los fosfolípidos, etc., o bien se descompone en productos citotóxicos como ion NO^{2+} , bióxido de nitrógeno NO_2 y radical OH, así que parte de la toxicidad del ON puede deberse a su interacción con O^{2-} (Paker y Murphy, 1994). Por otra parte, se sabe que el ON desacopla la cadena transportadora de electrones en la mitocondria, produciendo RL (Siegel y cols 1998). Además el ON tiene un efecto directo sobre aquellas enzimas en cuyos centros catalíticos existe hierro / azufre, como la ribonucleótido-reductasa, la síntesis del ADN y tres enzimas mitocondriales contenidas en el ciclo de Krebs, además de la NADPH-ubiquinona óxido reductasa, así como la succinato-ubiquinona de la cadena transportadora de electrones (Schweizer y Richter, 1994).

Por otro lado, el ON juega un papel importante sobre la respuesta inflamatoria, por estimulación de la ciclooxigenasa, aumentando la producción de prostaglandinas (Vladutiu, 1995).

Otro mecanismo muy importante que se origina después de una LTME y que tiene una alta participación en la generación de RL, es la respuesta inflamatoria. Casi inmediatamente después del traumatismo ocurre una reacción inflamatoria que involucra la acción de mediadores químicos, la bradicina y sus precursores (Francel, 1992), las citocinas: IL-2, IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α del inglés "Tumoral Necrosis Factor") etc., y la participación de las células inflamatorias, lo que origina la activación de células inmunológicas residentes (astrocitos y microglía) además de células reclutadas desde la periferia como: macrófagos, linfocitos, etc. (Popovich y cols., 1997).

La respuesta inmune a la lesión involucra dos etapas de infiltración celular (Popovich y cols., 1997): la primera, dominada por células denominadas polimorfonucleares (PMN) que predominan durante las primeras horas (Blight, 1992). Los neutrófilos aparecen en la pared de las venas y vénulas adyacentes a la lesión, en las primeras 3 a 4 horas (Dussart y Schwab, 1994; Means y Anderson, 1983), siendo observados en los tejidos hasta las 8 a 24 horas posteriores a la lesión (Means y Anderson, 1983). La respuesta inflamatoria se ve reflejada en el aumento en el número de leucocitos en el líquido cefalorraquídeo (Travlos y cols., 1994), la infiltración de células PMN en el sitio de lesión (Braund y cols., 1990; Means y Anderson, 1983), el incremento en los niveles de leucotrienos (LT), principalmente LTB₄, así como en la actividad de la mieloperoxidasa (Hsu y cols., 1986). Además, en estudios experimentales se ha demostrado que entre 3 y 12 horas posteriores a la lesión, existe un aumento significativo de la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1), la cual participa en la infiltración tisular de los neutrófilos (Hamada y cols., 1996).

La segunda etapa de infiltración celular se caracteriza por la presencia de macrófagos, mismos que se observan en los primeros dos días y alcanzan un pico a los 5-7 días poslesión (Blight 1992). En los siguientes días post-lesión existe proliferación y reclutamiento de macrófagos y microglía, siendo mayor dentro de los 4 a 8 días (Dussart y Schwab, 1994). Después de la lesión se han detectado productos de estas células (IL-1) (Wang y cols., 1997). Durante esta fase también se ha observado infiltración linfocitaria de los 3 a los 7 días poslesión (Popovich y cols., 1997).

A pesar de que se le han conferido efectos benéficos a la respuesta inflamatoria (Lotan y Schwartz, 1994), después de una LTME, esta respuesta puede ser la responsable de la necrosis del tejido lesionado y circundante (Rothwell y Relton, 1993; Lotan y Schwartz, 1994; Zhang y cols., 1997), ya que se sabe que la respuesta inflamatoria juega un papel muy importante en la generación de los RL, que dañan a las células nerviosas y endoteliales. Todas estas alteraciones y fenómenos que ocurren en el ámbito molecular tienen relación con la degeneración gradual del tejido, destruyendo al sustrato anatómico necesario para la recuperación neurológica (Ikeda y Long, 1990).

Por otra parte se sabe que después de una LTME existen alteraciones cardiovasculares, renales, respiratorias, hepáticas, etc., que puede provocar la muerte (Geisler y cols 1983). En un trabajo realizado por Dinmova-Apostolova y colaboradores (Dinova-Apostolova y cols., 1999), reportaron que existe un incremento en la concentración de catecolaminas en hígado de rata después de una lesión en médula espinal, incrementándose los niveles de norepinefrina, desde 1 a 24 h después de la lesión, asimismo existe un incremento en las concentraciones de dopamina (7 veces) a partir de las 4 h después del procedimiento quirúrgico.

Finalmente, se ha observado que en pacientes con LME existe un incremento del 13 al 17% en la transaminasa pirúvica glutámica sérica y en la transaminasa oxalacética glutámica sérica (8 al 17%), además, en algunos pacientes se incrementa la concentración de fosfatasa alcalina y de bilirrubina. Se propone que esta alteración se debe a un daño en el hígado como consecuencia de la lesión, sin embargo no esta del todo claro (Bloom y Freed, 1989).

I.11. GENERALIDADES SOBRE LIPOPEROXIDACION.

I.11.1 LIPIDOS

Los ácidos grasos son los más comunes de varios lípidos y las sustancias que confieren a estos últimos su característica polar. Un ácido graso es un ácido carboxílico alifático de cadena larga, la mayoría son ácidos monocarboxílicos que contienen cadenas lineales de hidrocarburos, con un número par de átomos de carbono. Cuando el diseño es simple y lineal, se dice que el ácido es saturado, cuando existen uno o más enlaces separados casi siempre por un grupo metileno, se dice que los ácidos están insaturados. En los ácidos insaturados los dobles enlaces casi siempre están en configuración cis.

Los lípidos se pueden clasificar en:

- 1) Lípidos simples: se dividen a su vez en dos grupos: los acilgliceroles neutros y las ceras. Son materiales que sólo incluyen ésteres de ácidos grasos y un alcohol.
- 2) Lípidos compuestos: Contienen otras sustancias además de alcohol y ácidos grasos. Los cuatro principales lípidos compuestos son: Fosfoacilgliceroles (también conocidos como fosfoglicéridos, los más conocidos son: fosfatilcolina, fosfatiletanolamina, fosfatilglicerol, fosfatilserina, difosfatilglicerol, y ácido fosfatídico), Esfingomielina, Cerebrósidos y Gangliosidos.
- 3) Lípidos derivados, los más comunes son: Esteroides, Prostaglandinas, Leucotrienos, Vitaminas lipídicas (Bohinski y cols., 1991).

Tabla 1. Características de los principales lípidos (Bohinski y cols. 1991).

LÍPIDOS		COMPUESTO	
		hidrólisis	
		H ₂ O	
Lípidos simples	1) Acilgliceroles	→	Glicerol + ácido graso
	2) Ceroles	→	Alcohol + ácido graso (ambos de cadena larga)
Lípidos compuestos	3) Fosfoacilgliceroles	→	Glicerol + ácido graso + HPO ₄ ²⁻
	4) Esfingomielina	→	Esfingocina + ácido graso + HPO ₄ ²⁻ + colina.
	5) Cerebrósidos	→	Esfingocina + ácido graso + HPO ₄ ²⁻ + azúcar simple.
	6) Gangliosidos	→	Esfingocina + ácido graso + 2-4 azúcares simples, uno de los azúcares es ácido siálico.

I.11.2 LIPOPEROXIDACION

Se conoce como lipoperoxidación (LP) a la oxidación de radicales libres en ácidos grasos poliinsaturados en sistemas biológicos. El proceso de lipoperoxidación está dividido en tres etapas: inicio, propagación y terminación (Halliwell y Gutteridge, 1985). El inicio de la lipoperoxidación en un ácido graso poliinsaturado de la membrana, es debido al ataque de una molécula lo suficientemente reactiva como abstraer un átomo de hidrógeno de un grupo metileno ($-\text{CH}_2-$), una vez que el hidrógeno es removido, el átomo de carbono queda con un electrón desapareado ($-\dot{\text{C}}-$). La presencia de dobles enlaces en los ácidos grasos debilita la unión C—H, y así el hidrógeno es fácilmente removido. El radical carbono tiende a estabilizarse por medio de un rearrreglo molecular

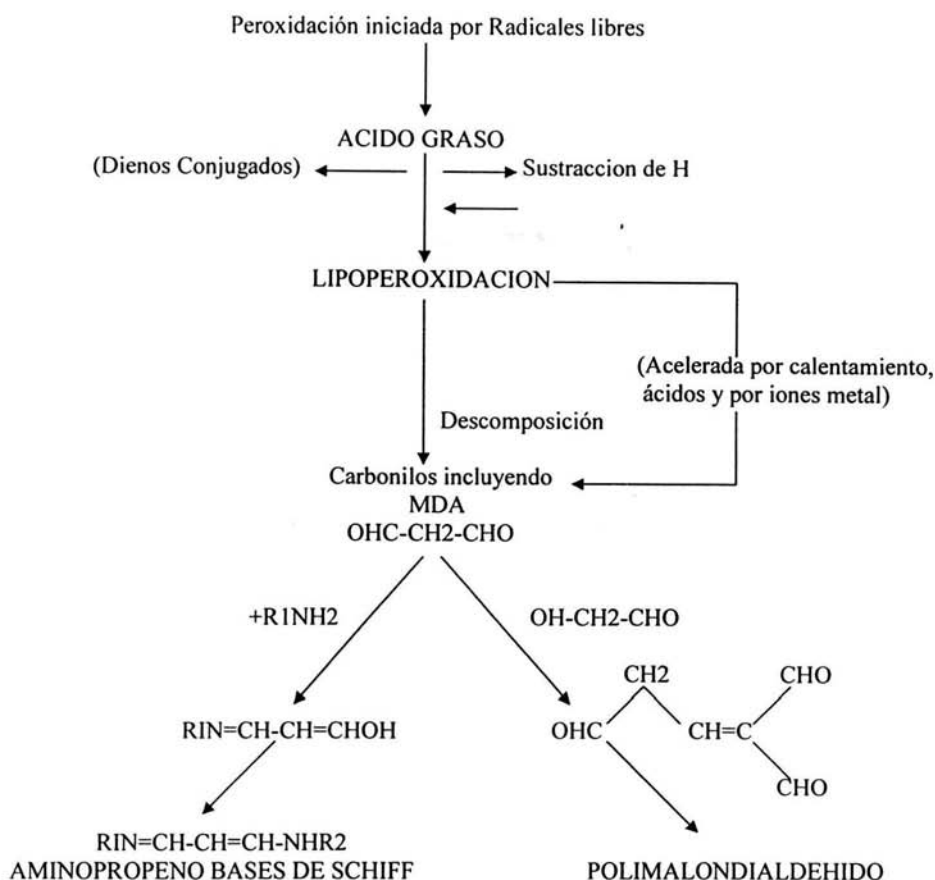


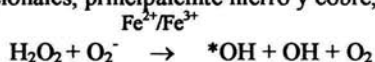
Figura 7. Proceso de lipoperoxidación. H: hidrógeno; MDA: malondialdehido, (Halliwell y cols., 1985)

I.11.2.1 GENERACIÓN DE RADICALES LIBRES.

Los Radicales libres (RL) son moléculas reactivas que tienen uno o más electrones desapareados, ya sea por pérdida o ganancia de ellos (Garnier-Suillerot, 1984). Entre las especies de radicales libres encontramos: anión super-óxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, ozono, óxido nítrico, ácido hipocloroso, y diferentes iones metales (Gutteridge, 1995).

Los radicales libres son generados en las mitocondrias durante la fosforilación oxidativa, que es un proceso por el que se forma ATP como resultado de la transferencia de electrones desde el NADH o el FADH₂ al O₂ a través de una serie de transportadores de electrones (Stryer y cols., 1996). También durante la respuesta inflamatoria se producen radicales libres, uno de los más estudiados es el óxido nítrico. Esta molécula simple ha sido extensamente estudiada debido a su participación como vasodilatador (Moncada y cols., 1987), neurotransmisor, en aprendizaje y memoria (Garthwaite, 1991), lesión cerebral (Chan, 1996; Bekman, 1994) y en la actividad fagocítica (Rosen y cols 1995). Aunque

los radicales libres han adquirido una connotación negativa en la ciencia moderna, su formación es generalmente un fenómeno fisiológico en los organismos. Las células fagocíticas hacen uso de radicales para eliminar bacterias y protozoarios, que infectan a individuos. El radical anión superóxido O_2^- es formado regularmente durante el metabolismo de la glucosa y en la cadena transportadora de electrones que origina ATP. Los electrones que escapan de la mitocondrias y del retículo endoplasmático reducen la cadena transportadora de oxígeno, produciendo al radical superóxido. Normalmente, esta producción no afecta porque los recogedores (antioxidantes) del radical superóxido, como la superóxido dismutasa (SOD), es capaz de desarmar a este radical libre (Rosen y cols., 1995). Los eucariontes han adaptado el oxígeno para su uso en la transformación bioquímica de nutrientes a energía. El oxígeno participa como aceptor de electrones teminal en la cadena citocromo mitocondrial, siendo reducido por una cadena de enzimas a agua inocua. Una consecuencia inevitable en la vida aeróbica es la presencia de una reacción lateral, que convierte al oxígeno en especie menos benignas que O_2 y H_2O . Estos productos incluyen a los radicales libres (anión superóxido O_2^- ; radical hidroxil OH; peroxil radical ROO) o peróxidos, que pueden producir radicales libres o reaccionar con cantidades catalíticas de iones metálicos (Wood, 1998). El oxígeno es reducido a especies reactivas de oxígeno, por ciertos metales transicionales, principalmente hierro y cobre, acorde la reacción de Fenton:



Bajo condiciones normales, el hierro libre en el cerebro es mantenido en niveles extremadamente bajos por unión del hierro a proteínas como transferrina plasmática ó la ferritina intracelular. Sin embargo, cuando ocurre la acidosis durante o después de una lesión cerebral ($pH < 6.0$), el hierro puede ser liberado de dicha unión, y activamente catalizar reacciones de radicales libres. La hemoglobina en una hemorragia intracelular es otro origen de hierro por oxígeno, catalizando reacciones de radicales libres (Bingren y cols., 1999). La hemoglobina liberada de la hemorragia cerebral ha sido descrita como una "proteína peligrosa" en una lesión cerebral (Halliwell, 1992).

I.12. LIPOPEROXIDACION Y LESION TRAUMATICA DE MEDULA ESPINAL.

Uno de los mecanismos secundarios de la LTME es la lipoperoxidación causada por radicales libres (Braund, 1990; Ikeda, 1990; Brow, 1992; Hall, 1994).

La lipoperoxidación es uno de los mecanismos deleterios más importantes que se generan como consecuencia de una LME. Las especies reactivas de oxígeno son mediadores importantes de la degeneración secundaria en médula espinal lesionada. Los radicales libres se incrementan significativamente después de una lesión mecánica en el SNC (Hall, 1989). Los elevados niveles de radicales libres (estrés oxidativo) atacan ácidos grasos poliinsaturados en membranas celulares, debido a que los lípidos de membrana son ricos en colesterol y ácido graso poliinsaturados, además que presenta gran cantidad de hierro y ácido ascórbico, los cuales catalizan la producción de RL y cuenta con pocas defensas antioxidantes (Ikeda, 1990), por lo tanto las lesiones en ME promueven un ambiente favorable para la producción de RL y reacciones de LP (Hall, 1994). El ataque de radicales libres al DNA provoca la ruptura de sus cadenas (Birnbom y cols., 1988) y modifica las bases nitrogenadas originando mutaciones (Arounma y cols., 1989; Imlay y cols. 1988). También el ataque de radicales libres modifica los aminoácidos en las proteínas, alterando sus cadenas y originando entrecruzamientos (Amici y cols., 1989; Cross y cols., 1992), desestabilizando así la estructura cuaternaria e incrementando la susceptibilidad a proteólisis (Simonian y cols., 1991).

Como parte del sistema nervioso central (SNC), la médula espinal es susceptible al daño por RL. Así, en los primeros 15 minutos después de una LME se incrementan significativamente los productos de lipoperoxidación (malodialdehído). Gradualmente los productos de LP aumentan durante las primeras

dos horas alcanzando su pico máximo a las 5 horas, y posteriormente descienden los niveles en ME de ratas contusionadas (Radi, 1991). Es importante considerar, que la LP varía dependiendo del tipo y severidad de la lesión (Stover, 1987).

La LP es uno de los factores más importantes que se producen en el tejido durante una LME, no sólo debido al efecto citotóxico de los RL, sino también al importante papel de estas especies reactivas en el desarrollo de isquemia, edema y disfunciones metabólicas que participan fuertemente en la degeneración de la ME después del trauma. Además de estos eventos postraumáticos, la LP puede también estar implicada directamente en la degeneración y sobrevida de axones espinales después de la lesión.

La LP después de la LME puede ser causada por varios mecanismos, entre ellos, la reacción inflamatoria observada en el área cercana a la lesión. Las células inflamatorias como los neutrófilos y macrófagos pueden producir especies reactivas de oxígeno, de esta manera contribuyen a la LP después del trauma. Se ha observado una gran población de neutrófilos en áreas lesionadas a tiempos tempranos (cerca de una hora) (Horrocks, 1985), después se incrementan hasta un pico máximo de 24 horas post-lesión (Francel, 1992). En otro caso, son visualizados macrófagos periféricos comenzando las 24 horas después de la lesión y se incrementan hasta alcanzar su máximo entre los días 4 a 7 (Francel, 1992; Segal, 1997). En este caso los macrófagos pueden persistir en áreas lesionadas durante la fase crónica de la lesión (Taoka, 1997). Las células de la microglía/macrófagos, son activadas en el epicentro de la lesión entre los días 3 y 7 post-lesión.

Toda estas células inflamatorias del sistema inmune han sido correlacionadas significativamente con la cantidad de tejido dañado después de la lesión (Francel, 1992). Así, los tratamientos para disminuir estas reacciones y secundariamente, la LP son benéficos para proteger el tejido medular y poder recuperar su función después del trauma.

I.13. NEUROPROTECCIÓN EN MÉDULA ESPINAL

La neuroprotección es la prevención o disminución de la degeneración del tejido neural que acompaña a una lesión en el SNC. Esta estrategia busca disminuir el daño infligido al SNC por un trauma, reduciendo el medioambiente nocivo, ya sea por la neutralización de mediadores tóxicos o por el incremento en la resistencia del tejido a la toxicidad. Entre las estrategias neuroprotectoras estudiadas hasta la fecha se encuentran: los trasplantes al SNC que han sido utilizados sobre todo con fines de regeneración y plasticidad neuronal (Aguayo, 1990; Gelderd, 1990; Stokes, 1992; Jakeman, 1987). Este proceso ha demostrado tener un efecto neuroprotector después de una LTME al disminuir el grado de destrucción en la zona lesionada y aumentar la sobrevida de los animales (Guizar-Sahagún y cols., 1994). Además de los trasplantes, existen otras estrategias terapéuticas que pueden disminuir la destrucción del parénquima medular en la zona lesionada. Se sabe por ejemplo, que el uso de glucocorticoides metilpredisolona (MP), iniciado dentro de las primeras 8 horas posteriores a la LTME y administrado a dosis altas durante 24 horas, mejora la recuperación motora de los pacientes (Bracken y cols., 1981), sin embargo, también se ha demostrado que su uso puede presentar efectos negativos ya que su administración es en altas dosis, lo que ocasiona hipertensión, incremento de la susceptibilidad a infecciones, y alteraciones conductuales, entre otros problemas (Goodman, 1990). Además se sabe que puede exacerbar la necrosis neuronal post-isquemia e inhibir el crecimiento axonal (Bracken y Holford, 1993). También se han utilizado antioxidantes como la vitamina E, el ácido retinoico, el ácido ascórbico (vitamina C), el selenio, y ciertas ubiquinonas como la coenzima Q, compuestos que pueden reducir los niveles de lipoperoxidación durante la fase aguda de la LME; sin embargo no se utilizan a tiempos prolongados ya que son degradados con facilidad (fase crónica)(Rhoney, 1996).

El tratamiento con inhibidores de la oxido nítrico sintasa como NG-nitro-L-arginina metilester (L-NAME), administrados durante la fase aguda de la lesión en ME en modelos experimentales, promueven la recuperación clínica significativamente mayor en ratones que recibieron el tratamiento con respecto a los que no (Hamada y cols., 1996). Sin embargo, el óxido nítrico es una molécula importante que promueve la vasodilatación, además de tener efectos directos sobre los receptores NMDA, disminuyendo el efecto citotóxico del glutamato, por lo que una inhibición no selectiva resultaría tener efectos negativos.

El empleo de fármacos anti-excitatorios como el sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y el riluzol, funcionan también como neuroprotectores. Lang-Lazdunski y cols (2000) demostraron que el tratamiento con estos fármacos previene y atenúa el fenómeno necrótico que se observa después de una LME en modelos experimentales. Además se han empleado fármacos moduladores del metabolismo del ácido araquidónico, como el ibuprofeno, que es un inhibidor de la ciclooxigenasa o el U63447A, que inhibe la actividad de la sintetasa de tromboxanos. El tratamiento con estos fármacos en modelos animales han demostrado limitar el desarrollo de la isquemia poslesión y la recuperación neurológica (Faden y Salzman, 1992).

Recientemente, una nueva terapia que estimula al propio sistema inmune para proveer neuroprotección del tejido dañado es objeto de estudio. Esta estrategia experimental utilizando ratas y ratones inyectados con células T específica contra componentes del SNC (proteína básica de la mielina), ha demostrado una mayor neuroprotección del SNC de animales tratados en comparación a los no tratados (Moalem y cols., 1999b; Shwartz y cols., 1999) después de una lesión en médula espinal. Los resultados de estos experimentos abren un campo nuevo de investigación en donde el control de la respuesta autoinmune puede ser benéfico bajo ciertas condiciones.

I.14. AUTOINMUNIDAD

La autoinmunidad resulta de un fallo o ruptura de los mecanismos normales responsables del mantenimiento de la autotolerancia. En todos los individuos existe la posibilidad de que se genere una respuesta autoinmune, ya que todo individuo hereda genes que codifican a receptores linfocíticos que pueden reconocer a antígenos propios (Paul, 1998). Múltiples factores que interaccionan entre si contribuyen al desarrollo de enfermedades autoinmunes. Estos factores pueden ser las alteraciones inmunitarias, el fondo genético que predisponga a la autoinmunidad, las alteraciones tisulares locales y las infecciones microbianas o virales. Además, la presencia de linfocitos reactivos contra componentes propios es resultado de una reacción autoinmune. Su actividad puede ser regulada en un individuo normal a través de un proceso denominado “anergia clonal” o “supresión clonal”. La autoinmunidad puede ser el resultado de las alteraciones primarias de células B y T o de ambas. El papel de las células $T CD4^+$ en la autoinmunidad es muy importante por dos razones: 1) Las células $T CD4^+$ cooperadoras son reguladoras importantes de todas las respuestas inmunitarias frente a antígenos, y 2) Varias enfermedades autoinmunes están ligadas a nivel genético con el MHC. Asimismo, la producción excesiva o desequilibrada de citocinas puede ser un mecanismo de estimulación anormal de múltiples linfocitos, incluidas las células autoreactivas. Algunos modelos experimentales apoyan el papel de las citocinas en la ruptura de la tolerancia de las células T. Otras citocinas pueden servir como efectoras de la lesión tisular (Paul, 1998). Sin embargo, no hay ejemplos convincentes de alteraciones de citocinas que sean la causa inicial de enfermedades autoinmunes espontáneas. También se propone que subpoblaciones de células $T CD4$ (TH1, TH2) están presentes en enfermedades autoinmunes. Si células TH2 actúan normalmente para controlar a células TH1 autorreactivas, como se ha sugerido, entonces una alteración en el equilibrio de estos subgrupos, es decir, un déficit inferior de células TH2 ó un exceso de células TH1, puede dar lugar a una enfermedad autoinmune. Sin embargo, no existen

pruebas de un déficit de células reguladoras o de un desequilibrio de subgrupos de células T CD4⁺ que produzca una enfermedad autoinmune (Paul, 1998).

Las enfermedades autoinmunes son frecuentemente subdivididas en: Patologías causadas por anticuerpos (lupus sistémico, eritroma, enfermedad de Graves y Miasthenia gravis) y patologías causadas por células T (Esclerosis múltiple, y Diabetes de tipo I). Una de las enfermedades autoinmunes que ha sido mas ampliamente estudiada es la esclerosis múltiple. En esta enfermedad hay un ataque contra un componente de mielina: la proteína básica de la mielina. El mediador central del ataque autoinmune en esta enfermedad se cree que son las células T CD4⁺ a más de un antígeno en el CNS; estas células subsecuentemente producen mediadores inflamatorios, mismos que incrementan la respuesta destructora en la zona de lesión (Olsson, 1995; Steinman, 1996). El modelo animal más comúnmente utilizado para esta enfermedad es el de la Encefalitis Alérgica Experimental (EAE). La EAE es una enfermedad mediada por células T que muestra muchos rasgos clínicos e histológicos de la esclerosis múltiple de humanos (Zamvil y cols., 1990; Wekerle, 1993). La enfermedad es caracterizada por una ascendente parálisis (generalmente en extremidades), en la segunda semana después de la inducción acompañada de desmielinización en el cerebro y médula espinal, además de una inflamación general en el SNC.

I.15. AUTOINMUNIDAD PROTECTORA

La interacción entre el sistema inmune y el SNC es única, en parte porque este último se caracteriza por ser un sitio de privilegio inmune, lo que restringe el desarrollo de una respuesta inmune local. Este fenómeno puede ser una adaptación evolutiva desarrollada para proteger la intrincada red neuronal del SNC de una incursión potencialmente destructiva del sistema inmune (Lotan y Schwartz, 1994; Schwartz y cols., 1999a; Schwartz, 2000). Este concepto de privilegio inmunológico fue sustentado por la incapacidad observada del SNC para rechazar tejidos injertados de la misma especie pero de diferente haplotipo del MHC. La respuesta inmune es relativamente restringida en el SNC (Streilein, 1995; Lazarov-Spiegler y cols., 1998; Aloisi y cols., 2000; Shrikant y Benveniste, 1996). La única naturaleza de comunicación entre el SNC y el sistema inmune puede ser observada, por ejemplo, en el diálogo entre el SNC y las células T. En el SNC, bajo condiciones normales, las células T activadas pueden atravesar la barrera hematoencefálica y entrar al parénquima del SNC (Flugel y cols., 2001). Sin embargo, se restringe el paso a células T capaces de reaccionar contra antígenos propios. Se han realizado estudios comparativos de la respuesta de células T en sitios de lesión en el SNC y en el sistema nervioso periférico (SNP), utilizando técnicas histoquímicas, las cuales han revelado una gran acumulación de células T endógenas en axones lesionados del SNP en comparación con axones lesionados del SNC (Hirschberg y cols., 1998; Moalem y cols., 1999a)

Para examinar si la acumulación mayor de células T es benéfica ó dañina en el SNC lesionado, se han utilizado modelos experimentales de lesión parcial en nervio óptico de ratas. En este modelo, la lesión axonal fue seguida por una acumulación transitoria de células T endógenas en el sitio de lesión (Hirschberg y cols., 1998). La administración pasiva de células T singénicas activadas específicas a antígenos propios del SNC, tal como la proteína básica de la mielina (PBM), o un antígeno no propio como la ovalbumina, resultaron en una mayor acumulación de células T en el sitio de lesión. Dos semanas después, ratas inyectadas con células T anti-PBM muestran significativamente menos degeneración secundaria que ratas inyectadas con solución salina (PBS) o con células T específicas para ovoalbumina (Hauben y cols., 2000). Esta propiedad protectora de las células T anti-MBP fue demostrada usando criterios morfométricos y eletrofisiológicos (Moalem y cols., 1999a, 2000a,b; Schwartz y cols., 1999). El resultado obtenido en nervio óptico abrió la posibilidad de examinar si el efecto de células T anti-MBP también pudiera llevarse a cabo en otro tipo de lesiones del SNC asociada a mielina. Estudios recientes indican que ratas sujetas a una contusión en ME, y que además recibieron

vía sistémica células T anti-MBP después de la LME, presentaron una mejor recuperación de la actividad motora en comparación con ratas tratadas con células T específicas a ovoalbúmina o con sólo el vehículo amortiguador de fosfatos (PBS) (Hauben, 2001).

Estas investigaciones apuntan la posibilidad de que las células T autoinmunes puedan, directa o indirectamente, promover protección axonal disminuyendo los efectos de la degeneración secundaria a través de múltiples mecanismos, ya sea por la secreción de citocinas, factores neurotróficos y o por la producción de quimiocinas, las cuales puedan atraer a otros elementos del sistema inmune como neutrófilos y macrófagos que se sabe pueden participar en la regeneración axonal. También es conocido que la inmunización activa con péptidos neurales modificados puede favorecer la protección del tejido nervioso después de una lesión (Hauben y cols., 2000; Yoles y cols., 2001; Kipnis y cols., 2001), y que puede ser observada como una segunda línea de defensa del cuerpo cuando los mecanismos locales son insuficientes. La degeneración secundaria asociada con algunos desórdenes en el SNC es mediada en parte, por compuestos fisiológicos (tales como el glutamato y radicales libres en cantidades excesivas) (Faden y Szalman, 1992; Faden, 1993; Yoles y Schwartz, 1998b), los cuales pueden amortiguar los mecanismos específicos de regulación local, que contribuye a la primera línea de defensa. Estudios recientes sugieren que en situaciones donde los mecanismos locales homeostáticos no pueden hacer frente adecuadamente al estrés oxidativo que se genera como consecuencia de una lesión, el organismo necesita reclutar un mecanismo de mantenimiento adaptativo alterno que le permita aminorar este evento destructivo. Tal mecanismo podría ser desencadenado por el propio sistema inmune. Cuando la señal de estrés es una lesión y no un patógeno, el reclutamiento del sistema inmune es dirigido contra componentes propios (Schwartz y Cohen, 2000)

II JUSTIFICACIÓN

Hasta el momento no se conoce con exactitud cual es el mecanismo por el cual el sistema inmunológico lleva a cabo este fenómeno de neuroprotección. Debido a que la respuesta inflamatoria está fuertemente ligada a la producción de radicales libres y con ello al fenómeno de lipoperoxidación (Lotan y cols., 1994; Taoka, 1997) y a que dicha respuesta podría estar importantemente modulada por la autoinmunidad protectora, nosotros pensamos que la disminución del fenómeno de lipoperoxidación podría ser uno de los mecanismos por medio de los cuales dicha respuesta autoinmune promueve neuroprotección. Para empezar a establecer la factibilidad de dicha hipótesis, en una primera etapa se exploraron los niveles de lipoperoxidación en ratas susceptibles y en ratas resistentes a la enfermedad autoinmune EAE, tomando en consideración que tanto la respuesta inflamatoria (Popovich, 1996) como la respuesta autoinmune protectora (Kipnis y cols., 2001) muestran características diferentes en cada una de estas cepas después de una lesión al tejido neural (la autoinmunidad protectora es más eficiente y existe un menor infiltrado inflamatorio en la cepa resistente). Así pues, si la autoinmunidad protectora tiene algún efecto sobre el fenómeno de lipoperoxidación, éste se reflejará parcialmente al observar una mayor lipoperoxidación en los animales susceptibles.

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Los niveles de lipoperoxidación después de una LME son menores en las ratas resistentes a la EAE en comparación a los presentados por los animales susceptibles a dicha enfermedad?

IV HIPOTESIS

* Hipótesis Nula:

Los niveles de lipoperoxidación después de una LME en ratas resistentes a la EAE serán inferiores a los niveles observados en ratas susceptibles a la EAE

* Hipótesis Alternativa:

Los niveles de lipoperoxidación después de una LME en ratas resistentes a la EAE no serán diferentes a los niveles observados en las cepas susceptibles.

V OBJETIVO GENERAL

Cuantificar los niveles de lipoperoxidación después de una LME en ratas resistentes y en ratas susceptibles a Encefalomiélitis Alérgica Experimental (EAE).

V.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Cuantificar los niveles de lipoperoxidación en la médula espinal lesionada de ratas susceptibles a EAE.
2. Cuantificar los niveles de lipoperoxidación en la médula espinal lesionada de ratas resistentes a EAE.
3. Comparar los niveles de lipoperoxidación de ratas susceptibles y resistentes a EAE.

VI MATERIAL Y METODOS

Para el experimento se utilizaron 12 ratas de la cepa Fisher 344 (cepa singénica y resistente a EAE), 12 ratas de la cepa Sprague Dawley (SD) (cepa no singénica pero resistente a EAE) y 12 de ratas de la cepa Lewis (cepa singénica y susceptible a EAE), hembras con un peso de 200-240 g .

Se distribuyeron de la siguiente forma:

***Grupo 1 Ratas Fischer 344 con lesión (n=6)**

***Grupo 2 Ratas Lewis con lesión (n=6).**

***Grupo 3 Ratas Sprague Dawley con lesión (n=6).**

***Grupo 4 Ratas Fischer 344 sólo con laminectomía (n=6).**

***Grupo 5 Ratas Sprague Dawley sólo con laminectomía (n=6).**

***Grupo 6 Ratas Lewis sólo con laminectomía (n=6)**

En todos los casos, los animales fueron sacrificados 24 h después del procedimiento quirúrgico, para realizar los estudios correspondientes.

VI.1 CONDICIONES

Los animales fueron donados por Centro de Investigación CAMINA, S.A. Los animales desde su nacimiento estuvieron en condiciones de Temperatura ambiente. En lo referente a la alimentación se les administro a libre demanda, y siempre se manejo sus periodos de luz-oscuridad de forma exacta.

VI.2 TECNICAS

VI.2.1 LESION INCOMPLETA DE LA MEDULA ESPINAL

Las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de clorhidrato de xilazina (10mg/kg) y Ketamina (50 mg/kg) vía intramuscular. Diez minutos después de dicha inyección y previa asepsia de la región toraco-lumbar, se hizo un corte longitudinal por planos y se practicó una laminectomía al nivel de la 9ª vértebra torácica hasta exponer la médula espinal. Posteriormente se dejó caer un cilindro de 10 g de una altura de 50 mm sobre el sitio expuesto, utilizando el impactador de la Universidad de Nueva York (NYU), un aparato que ha demostrado infligir una lesión por contusión en la médula espinal bien calibrada (Yung, 1996). La figura 12 muestra la posición en que la rata fue lesionada.

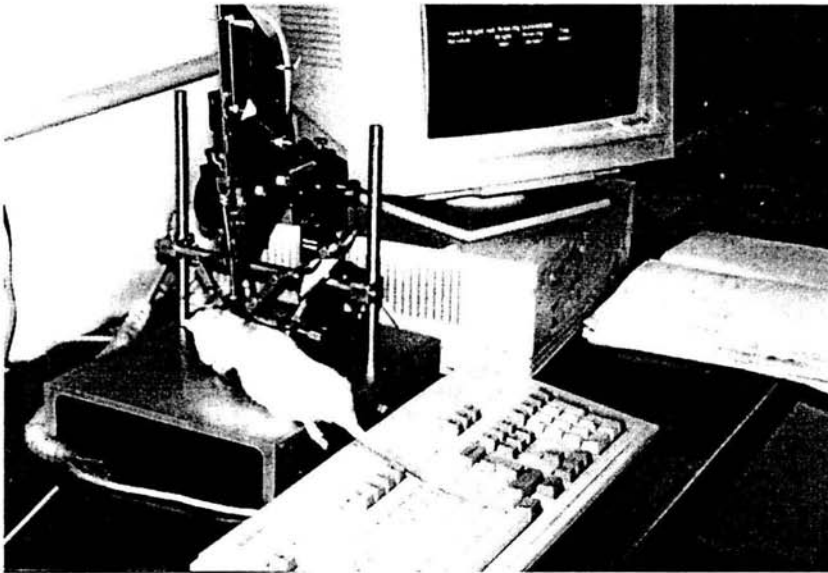


Figura 8. Posición de la rata durante la lesión en medula espinal.

VI.2.2 PERFUSION

Se anestesiaron las ratas con mismo anestésico utilizado durante las cirugías, enseguida se montaron sobre una maya de acero, se le administraron 1000 U de heparina vía intraperitoneal, se realizó un corte sobre la caja torácica a nivel del esternón, se expuso el corazón, se realizó un corte en el ápice, se le

introdujo una cánula en el ventrículo izquierdo hasta llegar a la aorta, se pinzó para sujetar la cánula, posteriormente se cortó la aurícula derecha y se permitió el paso de 500 ml de solución fisiológica.

VI.2.3 EXTRACCION DE MEDULA ESPINAL

Se expuso la médula espinal a partir de la vértebra T1 hasta las vértebras lumbares, se cortaron las raíces nerviosas, enseguida se colocó sobre plástico "parafilm" y posteriormente se cortó 0.5 cm a la derecha y 0.5 cm a la izquierda de la lesión. Una vez separada la sección, con mucho cuidado se separó la médula espinal de las meninges. Posteriormente se pesó la muestra y se continuó con la técnica de medición de lipoperoxidación. La figura 11 muestra la zona de impacto



Figura 9. Zona de impacto.

VI.2.4 DETECCIÓN DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACION

Se realizaron por medio de la técnica descrita por Triggs y Willmore (1984) modificado por Santamaría (Santamaría y cols., 1993) para determinar base de Schiff y polimanoldiadehído que son productos finales de la lipoperoxidación con capacidad de emitir fluorescencia en el espectro de 370 nm de excitación y 430 nm de emisión.

Previo sacrificio de animales, se obtuvo un segmento de médula espinal de aproximadamente 1 cm (proceso explicado en la sección anterior), que fue pesado y colocado en 3 ml de solución fisiológica; posteriormente se sonicó la muestra dando 3 descargas durante 30 segundos cada una a máxima frecuencia, de este tratamiento se obtuvo un homogenizado, y se tomaron 1 ml al cual se adicionó 4 ml

VII RESULTADOS

VII.1 COMPARACION DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACION EN MEDULA ESPINAL DE RATAS SIN LESION.

Durante esta parte experimental se compararon los niveles de lipoperoxidación entre cepas de ratas a las que sólo fueron sometidas al proceso quirúrgico (laminectomía). Las ratas fueron pareadas en peso y edad, posteriormente fueron anestesiadas y sometidas al proceso quirúrgico. Después de 24 horas post-cirugía, se midieron los niveles de lipoperoxidación.

Los resultados de estos experimentos son mostrados en la tabla 4.

Tabla 2. Comparación de los niveles de lipoperoxidación encontrados en médula espinal de ratas sin lesión.

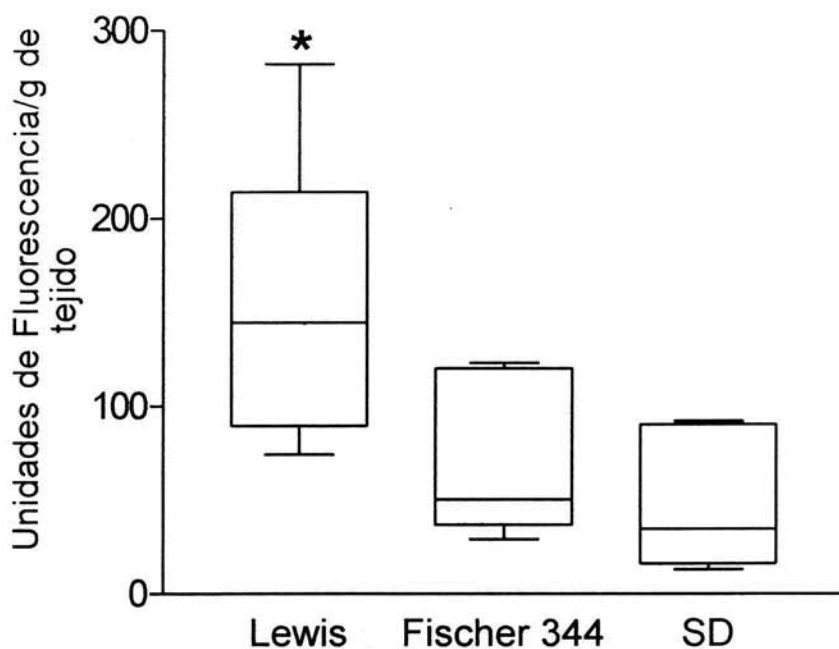
	RATAS SIN LESION			Comparaciones Realizadas	(Valor de P) T student, dos colas
	Fisher	Lewis	SD		
1	45.65977	143.6881	90.45002	Fisher vs Lewis	0.036945
2	54.91751	145.6056	34.90643	SD vs Lewis	0.006199
3	123.2274	282.2102	13.00297	Fisher vs SD	0.205279
4	44.20092	74.28281	28.1522		
5	116.9389	146.0797	16.0031		
6	29.07399	104.7159	92.20397		
PROM DE UF/G	69.00308	149.4304	48.02437		
DE	16.52363	29.06076	12.67817		

1-6= Unidades de Fluorescencia de cada animal.

PROM DE UF/G= Promedio de Unidades de fluorescencia por grupo.

DE= Desviación Estandar.

La gráfica 1 muestra el comportamiento de los niveles de lipoperoxidación encontrados en ratas sin lesión. En el caso de la cepa Lewis se detectó una mayor lipoperoxidación en médula espinal sin lesión en comparación a las demás cepas. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas.



Gráfica 1. Cuantificación de los niveles de lipoperoxidación en médula espinal de ratas sin lesión. Ratas Lewis, Fisher 344 y SD fueron sometidas sólo al proceso quirúrgico (laminectomía) a nivel de T9. Las cajas representan la distribución de 6 animales desde la percentila 25 a 75; la línea corresponde a la media. Las líneas de dispersión representan el valor más alto y el valor más bajo. Se midieron los niveles de lipoperoxidación utilizando la técnica propuesta por Triggs y Willmore (1984). Las diferencias fueron significativas ($P < 0.05$).

VII.2 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE LIPOPEROXIDACION EN MEDULA ESPINAL DE RATAS LESIONADAS

En esta etapa experimental se procedió a la comparación de los niveles de lipoperoxidación en médula espinal lesionada de las tres cepas de ratas. La tabla 2 muestra los resultados obtenidos en cada grupo tratado.

Tabla 3. Niveles de lipoperoxidación en médula espinal de ratas lesionadas.

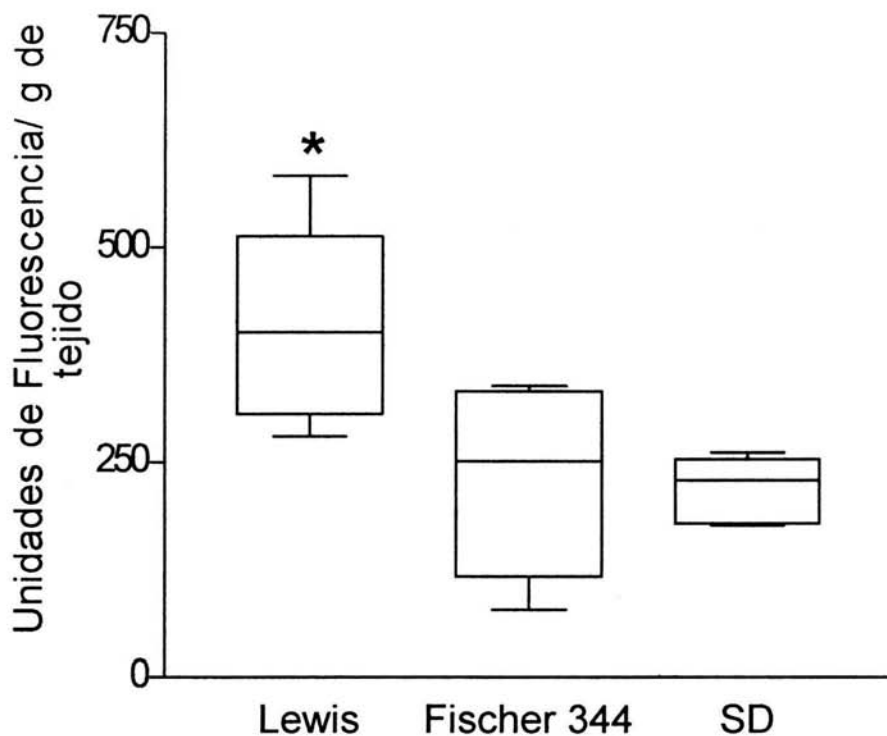
RATAS CON LESION					(Valor de P)
	Fisher	Lewis	SD	Comparaciones Realizadas	T student, dos colas
1	283.7408	437.1724	226.3178	Fisher 344 vs Lewis	0.023094
2	326.8101	280.3915	177.4624	SD vs Lewis	0.008969
3	154.4571	443.352	244.8526	Fisher 344 vs SD	0.919402
4	219.9496	583.3983	233.1093		
5	78.26956	330.1145	261.6785		
6	338.9324	366.4707	179.0076		
PROM DE UF/G	233.6933	406.8166	220.4047		
DE	41.98197	43.56287	14.20723		

1-6= Unidades de fluorescencia de cada animal.

PROM DE UF/ G=Promedio de Unidad de fluorescencia por grupo.

DE= Desviación Estandar.

La gráfica 2 muestra niveles de lipoperoxidación observados, que en el caso de la cepa Lewis fueron superiores al encontrado en las cepas Fischer 344 y SD. Dichas diferencias son estadísticamente significativas. Las diferencias encontradas en médula espinal lesionada de las dos cepas resistentes a desarrollar EAE (Fisher 344 y SD), no fueron significativamente diferentes, sin embargo se encontró un comportamiento similar al de los grupos sin lesión, donde la cepa SD presentó menores niveles de lipoperoxidación.



Gráfica 2. Comparación de los niveles de lipoperoxidación en médula espinal de ratas lesionadas. Ratas de las cepas Lewis, Fisher 344 y SD fueron anestesiadas, sometidas a laminectomía y enseguida lesionadas a nivel de T9. La caja representa la distribución de los datos de 6 animales desde la percentila 25 a la 75, la línea corresponde a la media. Las líneas de dispersión representan el valor más alto y el valor más bajo. Se midieron los niveles de lipoperoxidación utilizando la técnica propuesta por Triggs y Willmore (1984). Las diferencias fueron significativas ($P < 0.005$).

VIII DISCUSION

Durante este proyecto se midieron los niveles de lipoperoxidación presentes en médula espinal lesionada y no lesionada para lo cual se eligió un método que nos permitiera medir los niveles de lipoperoroxidación de forma confiable.

Los resultados del presente trabajo muestran que hay una mayor producción de productos finales de la lipoperoxidación en médula espinal de ratas Lewis (susceptible a la EAE), al compararse con los observados en ratas Fischer 344 y SD (cepas resistentes a la EAE). Dicha diferencia fue estadísticamente significativa. Además se encontró que los niveles de lipoperoxidación en el caso de la cepa Fischer 344 no difirieron significativamente con respecto a los observados en la cepa SD. En el caso de las ratas sin lesión se observó una tendencia similar. El proceso quirúrgico (laminectomía) es capaz de producir lipoperoxidación en ratas sin lesión, lo cual indica que estos animales no son un testigo confiable para la experimentación en lo que respecta a lesiones de médula espinal y lipoperoxidación. Por lo tanto creemos que se pudieran utilizar un nuevo tipo de testigo, como ratas solamente anestesiadas a las cuales no se les someta al proceso quirúrgico (laminectomía).

Las diferencias observadas en el fenómeno de lipoperoxidación entre animales susceptibles y resistentes a la EAE pueden deberse a diferentes factores. Entre ellos destaca el relacionado al sistema inmunológico. Existen diferencias genéticas entre dichas cepas en los alelos del MHC. Se sabe que las cepas Lewis y Fischer 344 poseen los mismos alelos del MHC en el locus RT1.B excepto por un sólo alelo en la región no clásica correspondiente a la región QA-TLA en el ratón (Kunz y cols., 1989). Dicha diferencia puede tener influencia importante sobre la capacidad de presentar o no susceptibilidad a la EAE ya que se ha sugerido que los genes relacionados con el MHC, controlan de alguna forma la autoinmunidad y la autotolerancia (Gasser y cols., 1973; Moore y cols., 1980; Wicker, 1997). De la misma forma dicha diferencia puede también influir en la capacidad de presentar mejor o menor protección del tejido nervioso después de un daño, fenómeno que ya ha sido descrito y que se ha demostrado que depende estrictamente de las características genéticas de cada cepa (Kipnis y cols 2001). Es bien sabido que la activación de la respuesta celular es dependiente de las moléculas del MHC, en tal forma que las señales que se originen de dicha interacción influirán de manera importante sobre la modulación de la respuesta inmune inducida (Popovich y cols., 1997). Así pues, estas diferencias genéticas en las cepas resistentes a la EAE pueden estar modulando la respuesta inmune en tal forma que originen un microambiente en el que el estrés oxidativo esté siendo neutralizado o bien se inhiba de alguna forma la formación de radicales libres y con ello la lipoperoxidación. Uno de los factores que participan en forma importante en el desarrollo de la lipoperoxidación es la respuesta inflamatoria. A este respecto Popovich y cols. (1997), demostraron que existe una gran acumulación de macrófagos y monocitos cercanos al epicentro de la médula espinal lesionada, lo que puede ser la causa subsecuente de la patología del tejido neuronal, durante el fenómeno de lipoperoxidación. Popovich también reportó que la migración de estas células inflamatorias hacia el sitio de la lesión es diferente en cepas resistentes (Fischer 344) o susceptibles (Lewis) a la EAE (Popovich y cols., 1997). Existe una mayor y más prolongada infiltración de células inflamatorias en las cepas susceptibles en comparación con las resistentes (Popovich y cols., 1997). Esta importante diferencia podría ser la causa principal de la mayor (ratas Lewis) o menor (ratas Fischer 344 y SD) lipoperoxidación observada entre las cepas estudiadas en este trabajo.

La función exacta de las células inflamatorias en la zona de lesión no ha sido del todo aclarada e incluso ha originado considerables debates (Benveniste, 1992; Rotwell y Renton, 1993; Lotan y Schwartz, 1994; Rothwell y Hopkins, 1995). Originalmente se pensaba que la función de estas células era meramente de limpieza, eliminando el tejido necrótico producido por el mecanismo de lesión, sin embargo datos recientes sugieren que los macrófagos favorecen el crecimiento axonal del SNP y el

SNC a través de la liberación de diferentes citocinas y factores de crecimiento (David y cols., 1990; Lu y Richardson, 1991; Perry y Brown, 1992; Hirschberg y cols., 1994). Esta función contrasta en forma importante con su demostrada capacidad para mediar el daño a la mielina (vesiculación de mielina y lipoperoxidación) vía la liberación de citocinas inflamatorias (INF- γ), nitrógenos reactivos e intermediarios de oxígeno (Wisniewski y Bloom., 1975; Cammer y cols., 1978; Dijkstra y cols., 1992; Griot y cols., 1989; Merrill y cols., 1993). De hecho las células inflamatorias son consideradas como el principal generador de estrés oxidativo y por lo tanto del fenómeno de lipoperoxidación. Por otra parte, se ha sugerido también que otros genes mapeados fuera del locus del MHC y que determinan los niveles de glucocorticosteroides, pueden estar contribuyendo a las diferencias observadas entre estas cepas (Sapolsky y cols., 1987; Mason, 1991; Peers y cols., 1995). En este caso la diferente respuesta inflamatoria observada podría ser explicada por diferencias existentes en el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal entre las cepas de ratas Fisher 344, SD y Lewis. En ratas Lewis, se produce poca corticosterona en respuesta a estrés físico o inmune (Dhobhar y cols., 1993). Esta deficiencia en ratas Lewis es probablemente una de las bases importantes de su susceptibilidad a varias enfermedades autoinmunes, permitiendo una mayor respuesta inmune directa contra la señal antigénica (Sterberg y cols., 1989; Mason y cols., 1990; Mason, 1991). Además, la activación funcional del receptor adrenal tipo II en tejidos inmunes (bazo, células de sangre periférica) de ratas Lewis es 20-30% menor que en los mismos tejidos de ratas SD (Dhabhar y cols., 1995). Así, la producción deficiente en corticosterona, acoplada con un incremento en el tráfico de leucocitos y liberación de citocinas, puede parcialmente explicar la elevada respuesta microglia/macrófagos y la temprana infiltración de células T observada en la médula espinal lesionada de ratas Lewis (Popovich y cols., 1997).

Además de la respuesta inflamatoria, también se ha observado un fenómeno que involucra la respuesta inmune adquirida dependiente de células T, las cuales son capaces de proteger al tejido dañado como consecuencia de una lesión, modulando la respuesta inmune que se genera contra componentes propios; a tal fenómeno se le conoce como: "autoinmunidad protectora" (Schwartz y cols., 1999, 2001). Estas células T autoinmunes son reclutadas al sitio de lesión, donde son activadas, en presencia de CPAs que presentan antígenos propios bajo el contexto de las moléculas del MHC, lo que desencadena una respuesta autoinmune (Schwartz y Kipnis, 2001). En cepas susceptibles a la EAE, estas células son potencialmente encefalitogénicas, lo que podría sugerir que en estos animales podría no existir una población que module la respuesta contra componentes propios durante una LME. La neuroprotección mediada por células T, se refiere como un mecanismo endógeno de protección que es reclutado para resistir a las consecuencias de una lesión en el SNC. Tales mecanismos disminuyen el proceso inducido por la lesión, llevando al rescate de neuronas que escapan a la lesión primaria (Maalem y cols., 1999a; Hauben y cols., 2001b). En ausencia de los elementos reguladores se podría desencadenar una degeneración secundaria (Agrawal y Fehrlings, 1996; Linch y Dawson, 1994; Yoles y Schwartz, 1998). La autoinmunidad protectora es un fenómeno fisiológico que varía en eficiencia acorde al propio fondo genético de los individuos (Kipnis y cols., 2001; Yoles y cols., 2001).

Se ha descrito que las células T del fenotipo TH1 anti PBM participan en la protección del tejido neural contra un traumatismo. Esta población puede ser protectora o encefalitogénica, ya que su comportamiento depende del tipo de señal que se esté originando, el modo en como estas células respondan al estímulo y a la forma en que estén siendo moduladas. Por otra parte, se ha demostrado en estudios realizados por Kipnis y cols. (2002) que existe una segunda subpoblación de células T CD4 TH1 reguladoras que participa fuertemente en la neuroprotección. Más aún, se han encontrado diferencias en poblaciones de células T reguladoras entre estas cepas susceptibles y resistentes a la EAE (Kipnis y cols., 2002). Estas células T CD4 supresoras fueron identificadas como células T que expresan el marcador CD25 (Sakaguchi y cols., 1995; Thornton y cols., 1998). El papel de estas células T CD4⁺ CD25⁺ reguladoras es asegurar la tolerancia de células T potencialmente autoreactivas que escapan a la deleción en el timo (Seddon y cols., 2000; Shevach, 2000). La relación entre las células

efectoras y reguladoras determina la intensidad, tiempo, duración y resultado de la respuesta autoinmune. La supresión inducida por células T reguladoras puede ser mediada a través de las citocinas TGF- β (del inglés Transforming Growth Factor), IL-10, por el contacto célula-célula o por ambos (Yamagiwa y cols., 2001; Nakamura y cols., 2001). Es posible que en cepas que les falta la capacidad para manifestar una autoinmunidad protectora espontáneamente (cepa Lewis), el repertorio de antígenos presentes en el timo difiere de los encontrados en cepas resistentes (Fisher 344 y SD), así, tales antígenos presentan epitopos caracterizados por interacciones de alta afinidad a moléculas del MHC clase II (Schwartz y cols. 2002). Por lo tanto, muchas de las células T en la periferia de individuos susceptibles serían tanto T reguladoras o efectoras (autoinmunes) de alta afinidad que han escapado a la delección. Kipnis y cols. (2002) sugieren también que la capacidad para presentar espontáneamente una autoinmunidad protectora es en parte debido a la presencia de células reguladoras CD4⁺ CD25⁺ que proveen un mecanismo de activación diferencial de algunas pero no de todas las células T autoreactivas. De tal forma que las células T CD4⁺ CD25⁺ podrían estar suprimiendo a clonas que pudieran favorecer la autoinmunidad protectora. Conciliar ambas ideas ha originado un gran debate con respecto a la función de las células reguladoras, sin embargo su función benéfica así como su función deleteria podría explicar el fenómeno que hemos observado durante esta primera fase experimental.

Uno de los mecanismos por los que la respuesta autoinmune protectora podría llevar a cabo su efecto protector, es mediante la respuesta inflamatoria que se genera como consecuencia de la LTME. Además se han observado también una fuerte infiltración de células B en la zona de lesión. Estos tipos celulares se han observado capaces de estar generando diferentes neurotrofinas en tejido neural dañado como: BDNF y NT-3 (Rina y cols., 2002) las cuales están fuertemente asociadas a la regeneración y protección de tejidos (Meyer, 1992; Ide, 1996). Por lo que el efecto benéfico de la autoinmunidad protectora podría ser dirigido tanto a detener la inflamación (y con ello la producción de radicales libres), así como a modular a CPAs para la presentación de antígenos propios en moléculas del MHC, de forma más eficiente, pero al mismo tiempo dicha respuesta provee los mecanismos de protección y regeneración que minimicen el daño producido por la lesión.

Los mecanismos de lipoperoxidación e inflamación han sido ampliamente estudiados y son el objetivo de numerosos intentos para crear nuevas terapias que puedan disminuir el daño causado por estos dos fenómenos deletéreos. Minimizar el estrés oxidativo podría a su vez disminuir la inflamación postraumática, ya que el estrés oxidativo activa mecanismos proinflamatorios (Cristman y cols 2000). Estudios recientes han demostrado que la lipoperoxidación está incrementada en un gran número de condiciones autoinmunes, incluyendo la esclerosis múltiple (Naidoo y cols., 1992; Toshniwal y cols., 1992), artritis reumatoide (Selley y cols., 1992; Yahya y cols., 1996), diabetes (Griesmacher y cols., 1995; Suárez y cols., 1996; Traverso y cols., 1998) y lupus eritromatoso (Grune y cols., 1997). La lipoperoxidación puede inducir una respuesta de células T a proteínas propias modificadas, ya que se ha comprobado que productos de la peroxidación son capaces de cambiar la estructura de proteínas nativas (naive), modificando antígenos o mostrándolos a través de CPAs (antígenos crípticos) (Wuttge 1999), generando con esto la posibilidad de producir anticuerpos contra proteínas naive, fenómeno que puede jugar un papel importante durante el desarrollo de estas enfermedades (Wuttge, 1999).

En términos generales, podemos decir que existen mecanismos de regulación en cepas de ratas resistentes a la EAE al momento de sufrir un traumatismo en médula espinal, que hacen que sus sistemas de defensa, encabezados por una red inmunológica sean capaces de hacer frente al medio tóxico que se genera, llevando a la protección del tejido lesionado. En tal caso, la cepa susceptible (Lewis) no cuenta al parecer con una red regulatoria protectora o simplemente no es tan eficiente como la observada en ratas resistentes a la EAE. Es importante recordar que la respuesta autoinmune benéfica es un mecanismo fisiológico que se desarrolla en mayor o menor medida en todo individuo. Si algún

factor (genético o traumático) desencadena una respuesta excesiva que sobrepase el umbral normal de la respuesta autoinmune benéfica se puede originar una enfermedad autoinmune.

Sin duda la administración de células capaces de amortiguar el efecto nocivo que se genera como consecuencia de una LME, podría utilizarse como terapia, que beneficiaría a una gran cantidad de gente que ha sufrido una LME; en este sentido las investigaciones realizadas hasta este momento apuntan a proponer una terapia que en primer lugar, promueva la respuesta fisiológica propia del organismo para contrarrestar el efecto tóxico generado por radicales libres y que por lo tanto brinden protección. Sin embargo potencializar dicho mecanismo implica nuevas investigaciones sobre esta línea, lo que a futuro podría garantizar nuevas formas de terapias más seguras y eficaces que no presenten reacciones secundarias a personas que han sufrido algún tipo de LTME. Así, estudios de transferencia de células T podrían darnos una visión más clara de qué pasa en el microambiente que se genera como consecuencia de un traumatismo en médula espinal.

El presente trabajo demuestra que el fenómeno de lipoperoxidación es significativamente mayor en ratas susceptibles a la EAE (Lewis) en comparación con las que son resistentes (Fischer 344 y SPD) y sugiere que uno de los posibles mecanismos de acción de la autoinmunidad protectora podría ser la disminución del estrés oxidativo y con ello de la lipoperoxidación.

IX CONCLUSIONES

1. La cepa susceptible a la EAE (Lewis) presentó mayores niveles de lipoperoxidación en médula espinal en comparación con las cepas resistentes (Fischer 344 y SD).
2. Resultó correcta la hipótesis planteada.

X PERSPECTIVAS

1. Se evaluarán los niveles de lipoperoxidación en ratas SD y Fisher 344 atímicas contra ratas de la misma cepa normales, de esta forma se pretende comparar la participación de los linfocitos T en el fenómeno de lipoperoxidación después de una lesión en médula espinal
2. Se evaluarán la participación de células T, a partir de transferencia de células T de una cepa resistente (Fisher) a una susceptible (Lewis), para posteriormente medir los niveles de lipoperoxidación.
2. Estudiar de forma más detallada las subpoblaciones de células T que puedan estar participando en esta respuesta benéfica autoinmune.

XI BIBLIOGRAFÍA

Agrawal SK., & Fehlings MG. Mechanisms of secondary to spinal cord axons in vitro: role of Na⁺, Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-ATPase, the Na⁽⁺⁾-H⁺ exchanger and the Na⁽⁺⁾-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci.* 1996;16:545-552.

Aguayo AJ, *et al.*. Synaptic connections made by axons regenerating in the central nervous system of adult mammals. *J Exp. Biol.* 1990;153: 199-224.

Aloisi F, Ria F, Adorini L. Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells; different roles for microglia and astrocytes. *Immunol. Today.* 2000;21:141-147

Amci A., Levine RL., Tsai L., Stadtman ER. Conversion of amino acid residues and amino acid homopolymers to carbonyl derivatives by metal-catalyzed oxidation reactions. *J Biol Chem.* 1989;264:3341-3346.

Anderson TE., Stoke BT. Experimental models for spinal cord injury research: Physical and physiological considerations. *J Neurotrauma (Suppl 9)* 1992 ;1:S135-S142.

Arunma OI., Hawiwell B., Dizdaroglu M. Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *J Biol Chem.* 1989;264:13024-13028.

Balentine J.D. Calcium toxicity as a factor in spinal cord injury. *Surv Synth Path Res.* 1983, 2: 184-193.

Benveniste EN. Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am. J. Physiol.* 1992;263:C1-16

Birnboim HC. Superoxide anion may trigger DNA strand break in human granulocytes by acting at a membrane target. *Ann NY Acad Sci.* 1988;551:82-94.

Blight AR. Macrophages and inflammatory damage in spinal cord injury. *J. Neurotrauma.* 1992; 9 Suppl 1:S83-S91.

Bloom KK, Freed MM. Liver enzymes abnormalities in spinal cord injury. *J. Am. Paraplegia. Soc.* 1989; 12:11-13.

Bracken MB, Freeman DH Jr, Hellenbrand K, Incidence of acute traumatic hospitalized spinal cord injury in the United States 1970-1977. *AmJ. Epidemiol.* 1981;113:615-622

Bracken MB, Holford TR. Effect of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NACIS 2. *J. Neurosurg.* 1993; 79:500-507.

Braund KG., Shores A., Brawner WR. The etiology, pathology and pathophysiology of acute spinal trauma. *Vet. Med.* 1990;85:684-691

Bregman BS, Kunkel-Begden E, Schnell L, Dai HN, Gao D, Swab ME, Recovery from spinal cord mediated by antibodies to neurite growth inhibitors. *Nature* 1995;30:498-501

Brow SA., Hall ED. Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of shock and trauma, with focus on central system injuries. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992;200:1849-1858

Bunge RP., Puckett WR., Becerra JL., et al. Observations on the pathology of human spinal cord injury: A review and classification of new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. In Seil FJ (ed): "Advances in Neurology, 7th ED. New York: Raven Press, 75-85 p.p.

Cammer W., Bloom BR., Norton WT. and Gordon S. Degradation of basic protein in myelin by neutral proteases secreted by stimulated macrophages: A possible mechanism of inflammatory demyelination. *Proc. Natl. Acad.* 1978;75:1554-1558.

Chan P. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996;27:1124-1129.

Cristman JW., Blackwell TS. and Juurlink BHJ. Redox regulation of nuclear factor kappa B: therapeutic potential for attenuating inflammatory responses. *Brain Pathol.* 2000;10:153-162

Cross CE., Reznick AZ., Packer L., Davis PA., Suzuki YJ., Halliwell B. Oxidative to human plasma proteins by ozone. *Free Radic Res Commun.* 1992;15:347-352.

David S., Bouchard C., Tsatas O. and Giftchristos N. Macrophages can modify the nonpermissive nature of the adult mammalian central nervous system. *Neuron* 1990;5:463-469.

Dijkstra CD., de Groot CJ. and Huitinga I. The role of macrophages in demyelination. *J. Neuroimmunol.* 1992;40:183-188.

Dinova-Apostolova G, Angelova A, Vaptzarova K, Catecholamine concentration in rat liver after high level transection of spinal cord. *Life Sci.* 1999; 64:2375-2381.

Duong TT., St Louis J., Gilbert JJ., Finkelman FD., Strejan GH. Effect of anti-interferon- γ and anti-interleukin-2 monoclonal antibody treatment on the development of actively and passively induced experimental allergic encephalomyelitis in The SJL/J mouse. *J. Neuroimmunol.* 1992;36:105-115

Dhabhar FS., McEwen BS., and Spencer RL. Stress response adrenal steroid receptor level and corticosteroid-binding globulin levels a comparison between Sprague-Dawley, Fisher 344 and Lewis rats. *Brain Res.* 1993;616:89-98.

Dhabhar FS., Miller AH., McEwen BS., Spencer RL. Differential activation of adrenal steroid receptor in neural and immune tissues of Sprague-Dawley, Fisher 344 and Lewis rats. *J. Neuroimmunol.* 1995;56:77-90.

Dussart I, Schwab ME. Secondary cell death and the inflammation reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord. *Eur. J. Neurosci.* 1994; 6:712-724.

Faden AI., Chan PH., Longer S. Alterations in lipid metabolism, Na⁺, K⁺-ATPase activity and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J. Neurochem.* 1987;48:1809-1916.

Faden AI., Salzman S. Pharmacological strategies in CNS trauma. *Trends Pharmacol. Sci.* 1992;13: 29-35

Faden A.I, Simon R.P. A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann. Neurol.* 1988; 23:623-626.

Faden AI. Experimental neurobiology of central nervous system trauma. *Crit. Rev. Neurobiol.* 1993;7:175-186.

Feringa ER., McBride RL., Pruitt II JN. Loss of neurons in the red nucleus after spinal cord transection. *Exp. Neurol.* 1988;100;112-120.

Flugel A, Matsumuro K, Neumann H, Klinkert WE, Birnbacher R, Lassmann H, Otten U, Wekerle H. Anti-inflammatory activity of nerve growth factor in experimental autoimmune encephalomyelitis inhibition of monocyte transendothelial migration. *Eur. J. Immunol.* 2001;31:11-22.

Francel PC, Bradkinin and neuronal injury. *J. Neurotrauma* 1992;9 suppl 1: S27-S45

Frazer R, Schoenen J, Leprince P, Joosten E, Moonen G, Matin D. Effects of macrophage transplantation in the injured adult rat spinal cord; a combined immunocytochemical and biochemical study. *J. Neurosci. Res.* 1998;51:316-327.

Garnier-Suillerot a., Tose L., Paniago E. Kinetic and mechanism of vesicle lipoperoxide decomposition by Fe (II). *Biochim Biophys Acta* 1984;794:307-12.

Gasser DL., Newin CM., Palm J., Gonatas NK. Genetic control of susceptibility to experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *Science.* 1973;181:872-873

Geisler WO, Jousse AT, Wynne-Jones M, Breithaupt D. Survival in traumatic spinal cord injury. *Paraplegia.* 1983; 21:364-373.

Gelderd JB, Quarles JE. A preliminary study of homotopic fetal cortical and spinal cotransplants in adult rats. *Brain Res. Bull.* 1990;25: 35-48.

Giulian D. and Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes induces ischemic injury in the spinal cord. *Ann. Neurol.* 1990;27:33-42.

Gold R, Schmied M, Tontsch U, Hartung HP, Wekerle H, Toyka KV, Lassmann H. Antigen presentation by astrocytes primes rat T lymphocytes for apoptotic cell death. A model for cell apoptosis in vivo. *Brain* 1996;119:651-659.

Goodkin R, Cambell JB. Sequential pathologic changes in spinal cord injury. Arch Neurol 1979; 30: 197-201.

Griesmacher A., Kindhauser M., Andert SE. et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. Am J Med. 1995;98:469.

Griot C., Burge T. Vandeveld M, and Peterhans E. Antibody-induced generation of reactive oxygen radicals by brain macrophages in canine distemper encephalitis: A mechanism for bystander demyelination. Acta Neuropathol. (Berl.) 1989;78:396-403.

Grune T., Michel P., Sitte N., et al. Increased levels of 4-hydroxynonenal modified proteins of children with autoimmune diseases. Free Rad Biol 1997;23:357.

Guizar-Sahagun G, Grijalva I, Madrazo I, E Franco-Bourland R, Salgado-Ceballos H, Ibarra A, Larriva-Sahd J. Neuroprotection of completely lacerated spinal cord of adult rats by homotopic and heterotopic transplantation. Restor Neurol Neurosci 1994;7: 61-70.

Guizar-Sahagún F, Grijalva I, Madrazo I, Franco-Bourland R, Ibarra A, Oliva E, and Zepeda A., Development of post-traumatic cysts in the spinal cord of rats subjected to severe spinal cord contusion. Surg Neurol 1994;41:241-249.

Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. ClinChem 1995;41(12):1819-1828.

Hall DE., and Braughler JM. Central nervous system trauma and stroke. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. Free Radical Biol. 1989;6:303-307.

Hall ED., Free radical central nervous system injury. In Rice-Evans, Burden RH. Free radical damage and its control. Netherland. Elsevier Science. 1994: 217-230

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine .Cledon. press. Oxford. 1985.

Hamada Y., Ikata T., Katoh S., Tsuchiya K., Niwa M., Tsutsumishita T and Fukusawa K. Roles of nitric oxide in compression injury of rat spinal cord. Free Rad. Biol. Med. 1996;20: 1-9

Hauben E, Butovsky O, Nevo U, Yoels E, Moalem G, Agranov E, Mor F, Leibowitz-Amit R, Pevsner S, Akselrod S, Neeman M, cohen IR, Schwartz M., Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion. J. Neurosci. 2000a;20: 6421-6430.

Hauben E., Ibarra A., Mizrahi T., Barouch R., agranov E. & Schwartz M. Vaccination with a Nogo-A-derived peptide after incomplete spinal cord injury promotes recovery via a T-cell mediated neuroprotective response: comparison with other myelin antigens. Proc Natl Acad Sci USA. 2001b;98:15173-15178.

Hirschberg DL., Moelem O., He, J., Mor F., Cohen IR., Schwartz M., Accumulation of transferred primed T cells independently of their antigen specificity following central nervous system trauma. *J. Neuroimmunol.* 1998;89:88-96

Huang DW, Mckerracher L, Braun PE, David S. A therapeutic vaccine approach to stimulate axon regeneration in the adult mammalian spinal cord. *Neuron* 1999;24:639-647.

Ide C. Peripheral nerve regeneration. *Neuroscience Research.* 1996;25:101-121.

Ikeda Y., Long M. The molecular basis if brain edema the role of oxygen free radical. *Neurosurg.* 1990;27:1-11.

Imlay JA., Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988;240:1302-1309.

Jakeman L, Reier PJ. The response of corticospinal tract fibers following injury and transplantation in the adult rat spinal cord. *Soc Neurosci Abstr* 1987;13: 750.

Kennedy MK, Torrance DS, Picha KS, Mohler KM. Analysis of cytokine mRNA expression in the central nervous system of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis reveals that IL-10 mRNA expression. *J. Immunology* 1992;149:2496-2505.

Kiefer R., and Kreutzberg GW. Gamma interferon-like immunoreactivity in the rat nervous system. *Neuroscience.* 1990;37:725-734.

Kim JS., Gautam SC., Chopp M., Zaloga C., Jones ML., Ward PA., Welch KM. Expression of monocytes chemoattractant protein-1 and macrophages inflammatory protein-1 after focal cerebral ischemia in the rat. *J. Neuroimmunol.* 1995;56:127-134.

Kipnis J, Yoles E, Schori H, Hauben E, Shaked I, Schwartz M. Neuronal survival after CNS insult is determined by genetically encoded autoimmune response. *J. Neurosci.* 2001;21:4564-4571.

Kipnis J. et al. Myelin specific Th1 cells are necessary but sufficient for post-traumatic protective autoimmunity. *J. Neuroimmunol.* 2002;130:78-85.

Kipnis J, Mizrahi T, Hauben E, Shaked I, Shevach E, Schwartz M. Neuroprotective autoimmunity: Naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells suppress the ability to withstand injury to the central nervous system. *PNAS.* 2002; 99: 15620-15625.

KuchrooVK., et al. Experimental allergic encephalomyelitis mediated by cloned T cells specific for a synthetic peptide of myelin proteolipid protein. Fine specificity and T cell receptor V β usage. *J. Immunol.* 1992;148: 3776-3782.

Kunz HW., Cortese Hassett Al., Inomata T., Misra DN., Gill TDJ. The RT1.G locus in the encodes a Qa/TL-like antigen. *Immunogenetics* 1989;30:181-187.

Lang-Lazdunski L, Heurteaux C, Dupont H, Widmann C, Lazdunski M. Prevention of ischemic spinal cord injury: comparative effect of magnesium sulfate and riluzole. *J. Vasc Surg.* 2000, 32(1):179-189.

Lazarov-Spiengler, O, et al. Transplantation of activated macrophages overcome central nervous system regrowth failure. *FASEB J.* 1996;10:1296-1302.

Lazarov-Spiegler, O. *et al.* Transplantation of activated macrophages overcomes central nervous system regrowth failure. *FASEB J.* 1996; 10: 1296-1302.

Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AI. Alterations in tissue Mg⁺⁺, Na⁺ and spinal cord edema following impact trauma in rats *Bioch. Cioph. Res. Com.* 1987; 147:1170-1175

Ley general de Salud. Título Séptimo: De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación. Editorial porrua 6ª. De México, D.F., 1990 pp430-431

Liblau RS., Singer SM., McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4⁺ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol. Today* 1995;16: 34-38.

Lotan M., Schwartz M., Crosstalk between the immune system and nervous system in response to injury implication for regeneration. *FASEB J.* 1994;8: 1026-1033.

Lynch DR., & Dawson TM. Secondary mechanisms in neuronal trauma. *Curr. Opin. Neurol.* 1994;7:510-516.

Mason D., MacPhee I., and Antoni F. The role of the neuroendocrine system in determining genetic susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the rat. *Immunology.* 1990;70:1-5.

Mason D. Genetic variation in the stress response: Susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis and implications for human inflammatory disease. *Immunol. Today.* 1991;12:57-60.

Means DE, Anderson DK. Neuronophagia by leucocytes in experimental spinal cord injury. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1983; 42:707-719.

Mayer M., Matsuoka I., Wetmore C., Olson L. and Thoenen H. Enhanced synthesis of brain-derived neurotrophic factor in the lesioned peripheral nerve: Different mechanisms are responsible for the regulation of BDNF and NGF mRNA. *Journal of Cell Biology.* 1992;119:45-54.

Merrill JE., Ignarro LJ., Sherman MP., Melinek J. and Lane TE. Microglia cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J. Immunol.* 1993;151:2132-2141.

McCarty R., Gilad GM., Weise VK., and Kopin IJ. Strain differences in rat adrenal biosynthetic enzymes and stress induced increases in plasma catecholamines. *Life Sci.* 1979;25:747-754.

Miller SD., Karpus WJ., The immunopathogenesis and regulation of T-cell mediated demyelinating diseases. *Immunology Today* 1994; 15: 356-361.

Moalem G, Yoles E, Leibowitz-Amit R, Muller-Gilgor S, Mor F, Cohen IR, Schwartz M., Autoimmune T cells retard the loss of functions in injured rat optic nerves. *J. Neuroimmunol.* 2000b;106:187-197.

Moalem G. Et al. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central system axotomy. *Nat. Med.* 1999a;5:49-55.

- Moalem G, Monsonogo A, Shani Y, Cohen IR, Schwartz M, Differential T cell response in central and peripheral nerve injury: connection with immune privilege. *FASEB J.* 1999b;13:1207-1217.
- Moalem G, Gdalyahu A, Shani Y, Otten U, Lazarovici P, Cohen IR, Schwartz M., Production of neurotrophins by activated T cells: Implications for neuroprotective autoimmunity. *J. Autoimmun.* 2000a;15: 331-345.
- Moncada S. and Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 1993;329:2002-2012.
- Moore MJ., Singer DE., Williams RM. Linkages of severity of experimental allergic encephalomyelitis to the rat major histocompatibility locus. *J. Immunol.* 1980;124:1815-1820.
- Naidoo R. & Knapp ML. Studies of lipid peroxidation products in cerebrospinal fluid and serum in multiple sclerosis and other conditions. *Clin. Chem.* 1992;38:2449
- Nakamura K. et al. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4 (+) CD25 (+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor β . *J. Exp. Med.* 2001;194:629-644.
- Olsson T., Critical influences of the cytokine orchestration on the outcome of myelin antigen-specific T-cell autoimmunity in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *1995;144:245:268.*
- Olsson T., Kristensson K., Ljungdahl A., Maehlen J., Holmdahl R., Klareskog L. Gamma-interferon-like immunoreactivity in axotomized rat motor neurons. *J Neurosci.* 1989;9:3970-3875.
- Packer MA, Murphy MP. Peroxynitrite cause calcium efflux from mitochondria which is prevented by Cyclosporin A. *FEBS Letters.* 1994; 345:237-240.
- Peers SH., Duncan GS., Flower RJ., Bolton C. Endogenous corticosteroids modulate lymphoproliferation and susceptibility to experimental allergic encephalomyelitis in the Brown Norway rat. *Int Arch Appl Immunol.* 1995;106:20-24.
- Perretti M., Duncan GS., Flower RJ. and Peers SH. Serum corticosterone, interleukin-1 and tumor necrosis factor in rat experimental endotoxaemia: comparasion between Lewis and Wistar strains. *Br. J. Pharmacol.* 1993;110:868-874.
- Perry VH., Crocker PR. and Gordon S. The blood-brain barrier regulates the expression of macrophages sialic acid-binding on microglia. *J. Cell Sci.* 1992;101:201-207.
- Popovich PG, Stokes BT, Whitacre CC., Concept of autoimmunity following spinal cord: posible roles for T lymphocytes in the traumatized central control nervous system. *J. Neurosci. Res.* 1996;45:349-363.
- Popovich PG, Wei P., Stokes BT. Celular inflamatory response after spinal cord injury in Sprague-Dawley and Lewis rats. *1997;377:443-464.*

Radi R., Becman JS., Bush KM., Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991;288:481-487

Repalino O., Lazarov-Spiegler O., Agronov E, Velen GJ, Fraidakis M, Yoles E, Solomon A, Gepstein R, Katz A, Belkin M, Hadani M, Schwartz M., Implantation of stimulated homologous macrophages results in partial of paraplegic rats. *Nat. Med.* 1998;4:814-821.

Rhoney DH., Luer MS., Hughes M et al. New pharmacology approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy.* 1996;16: 382-92.

Rina B. and Schwartz M. Autoreactive cells induce neurotrophin production by immune and neural cells in injured rat optic nerve: implications for protective autoimmunity. *FASEB J.* 2002;16:1304-1306.

Rosen GM., Pou S., Ramos CL., Cohen MS., and Britigan BE. Free radical and phagocytic cells. *FASEB J.* 1995;9:200-209.

Rothwell NJ, Relton JK. Involvement of cytokines in acute neurodegeneration in the CNS. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1993; 17:217-227.

Rothwell NJ. And Hopkins SJ. Cytokines and nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci.* 1995;18:130-136.

Sakaguchi S. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. immunol.* 1995;155:1151-1164.

Santamaria A. and Rios C. MK an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, blocks quinolinic acid-induced lipid peroxidation in rat corpus striatum. *Neurosci Lett.* 1993;159:51-54.

Sapolsky R. Rivier C., Yamamoto G., Plotsky P., Vale W. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science.* 1987;238:522-524.

Schwartz M., Moalem G., Leibowitz-Amit. R., & Cohen IR. Innate and adaptive immune responses can be beneficial for CNS repair. *Trends. Neurosci.* 1999;22: 295-299

Schwartz M., and Cohen IR. Autoimmunity can benefit self-maintenance. *Immunology Today* 2000;21: 253-256.

Schwartz M., Yoles E. Cellular and molecular basis of neuroprotection: implication for optic neuropathies. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2000;11:107-111

Schwartz M. and Kipnis J. Autoimmunity on alert: naturally occurring regulatory CD4⁺ CD25⁺ T cells as part of the evolutionary compromise between a "need" and a "risk". *Trends in Immunol.* 2002;11:530-534.

Schweizer M y Richter C. Nitric Oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 204:169-175.

Seddon B. and Mason D. The third functions of the thymus. *Immunol. Today*. 2000;21:95-99.

Segal DS., Gayer MA., and Weiner BE. Strain differences during intraventricular infusion of norepinephrine: possible role of receptor sensitivity. 1975;189:301-303.

Sedgwick JD., MacPhree IA., Puklavec M., Isolation of encephalomyelitis CD4+ T cells clones in the rat. Cloning methodology and interferon- γ secretion. *J. Immunol. Methods* 1989;121:187-196.

Selley ML., Bourne DJ., Bartlett MR., et al. Occurrence of (E)-4hydroxy-2-nonenal in plasma and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ann. Rheum Dis* 1992;51:481.

Shevach EM. Regulatory T cells in autoimmunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2000;18:423-449.

Shrikant P, Benveniste EN. The central nervous system as an immunocompetent organ: role of glial cells in antigen presentation. *J. Immunol.* 2000;157:1819-1822.

Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. Basic neurochemistry molecular, cellular and medical aspects. 6th edition, Lippincott Raven; New York 1998; pp 1104.

Simonian NA., Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1996;36:83-106.

Steinman L. Multiple sclerosis: a coordinated immunological attack against myelin in the central nervous system. *Cell* 1996;85:299-302.

Sternberg EM., Young WS., Bernardi R., Calogero AE., Chrousos GE., Gold PW., and Wilder RL. A central nervous systems defect in biosynthesis of corticotropin-releasing hormone is associated with susceptibility to streptococcal cell-wall-induced arthritis in Lewis rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989;86:47771-47775.

Streilein JW. Unraveling immune privilege. *Science* 1995;270:1158-1159

Stokes BT., Behrmann DL. An electromechanical spinal cord device with dynamic sensitivity. *J. Neurotrauma* 1987;9: 187-195

Stokes BT, Reier PJ. Fetal grafts alter chronic behavioral outcome after contusion damage to the adult rat spinal cord. *Exp. Neurol* 1992;116:1-12.

Stover SI., Fine PR. The epidemiology and economics of spinal cord injury. *Paraplegia* 1987;25: 225-228

Sun D., Whitaker JN., Wilson DB. Regulatory T cells in experimental allergic encephalomyelitis. III. Comparison of disease resistance in Lewis and fisher 344 rats. *Eur J Immunol* 1999;29:1101-1106.

Suarez PW., Strynadka K. & Rabinovitch A. Destruction of rat pancreatic islet beta-cells involves the production of cytotoxic aldehydes. 1996;137:5290.

Taoka Y., Okajim K., Uchiba M., Murakami K, Kushimoto S, Johno M, et al. Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. 1997;79: 1177-1182

Taoka Y., Okajima K., Uchiba M., Murakam K., Harada N, Johno, M, et al. Activated protein C reduces the severity of compression-induced spinal cord in rats by inhibiting activation of leukocytes J. Neurosci. 1998;18:1393-1398.

Thornton AM. and Shevach EM. CD4⁺ CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T-cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. J. Exp. Med. 1998;188:287-296.

Toshniwal PK. & Zarlign EJ. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. Neurochem Res. 1992;17:205.

Traverso N., Menin S., Cosso L. et al. Immunological evidence for increased oxidative in diabetic rats. Diabetologia. 1998;41:265

Travlos A, Anthon HO, Wing DC. Cerebrospinal fluid cell count following spinal cord injury. Arch Phys Med. Rehabil. 1994; 75:293-296.

TriggsW. And Willmore. In vivo lipid peroxidation in rat brain following intracortical Fe²⁺ injection. J. Neurochem. 1984;42:976-980.

Vladutiu AO. Short analytical review Role nitric oxide in autoimmunity. Clin. Immunol. Immunopath. 1995; 76:1-11.

Wekerle H. Experimental autoimmune encephalomyelitis as a model of immune-mediated CNS disease. Curr. Opin. Neurobiol. 1993;3:779-784.

Wicker LS. Major histocompatibility complex-linked control of autoimmunity. J Exp Med. 1997;186:973-975.

Wisniewski HM. and Bloom BR. Primary demyelination as a nonspecific consequence of a cell-mediated immune reaction. J. Exp. Med. 1975;141:346-359.

Wood, P.L. Neuroimmune mechanisms in the treatment of multiple sclerosis. En Neuroinflammation, 1a edición, ed. Humana Press Inc. New Jersey USA. 1998.

Wuttge DM., Bruzelius M. & Stemme S. T-cell recognition of lipid peroxidation products breaks tolerance to self to self proteins. Immunology. 1999;98:273-279.

Yahya MD., Pinna JL., Meinke GC. & Lung CC. Antibodies against malondialdehyde (MDA) in MRL/lpr/lpr mice: evidence for autoimmune mechanism involving lipid peroxidation J. Autoimmune. 1996.1996;9:3

Yamagiwa S. et al. A role for TGF- β in the generation and expansion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells from human peripheral blood. J. Immunol. 2001;166:7282-7289.

Yoles E. and Schwartz. Degeneration of spared axons following partial white matter lesion: implications for optic nerve neuropathies. *Exp. Neurol.* 1998;153:1-7.

Yoles E, Schwartz M,. Elevation of intraocular glutamate in rats with partial of the optic nerve. *Arch Ophthalmol.* 1998b;116:906-910.

Yoles E., Hauben E, Palgi O., Agranov E., Gothilf A., Cohen A., Kuchroo VK., Cohen LR., Weiner H., Schwartz M. Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma. *J. Neurosci.* 2001;21:3740-3748.

Young JS, Northrup NE,. Statistical information pertaining to some of the most commonly asked question about spinal cord injury. *Spinal Cord Injury Digest* 1979;1:11.

Young W, Koreh I. Potassium and calcium changes in injured spinal cords. *Brain. Res.* 1986; 365:42-53.

Zamvil SS., and Steinman L. The lymphocyte in experimental allergic encephalomyelitis. *Annu Rev Immunol.* 1990 ;8 :579-621.

Zhang Z, Krebs CJ, Guth L. Experimental analysis of progressive necrosis after spinal cord trauma in the rat: etiological role of the inflammatory response. *Exp. Neurol.* 1997; 143:141-152.

Zhu J., Zou LP., Bakhiet M. and Mix E. Resistance and susceptibility to experimental autoimmune neuritis in Sprague-Dowley and Lewis correlate with different levels of autoreactive T and B cell responses to myelin antigens. *J. Neurosci. Res.* 1998;54:373-381.

Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Varmeulen NP. Biomarkers of free radical damage application in experimental animals and in humans. *Free Rad. Biol. Med.* 1998; 26:202-226.

LIBROS:

Abbas KA. A et al. 2000. Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Company. Phyladelphia. USA. 553 p.p.

Barne Robert M. 1992. Fisiología. Times Mirror. España. 689 p.p.

Bohinski R.C. y cols. 1991. Bioquímica. Addison-Wesley. Iberoamericana. Wilmington USA. 739 p.p

Carpenter BM y cols. 1994. Neuroanatomía. Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 448 p.p.

Gayton Arthuer C. 1994. Anatomía y Fisiología del sistema Nervioso. Panamericana Médica. Madrid. España. 472 p.p.

Gayton Arthuer C. 1997. Fisiología Médica. Interamericana. México DF. 1262 p.p.

Geneser Finn. 2000. Histología. Panamericana. Buenos aires. Argentina. 813 p.p.

Goldsby Richard A. 2000. Kuby Immunology. W.H. Freeman and company. New York. USA. 670 p.p.

- Moreno J. Respuesta Inmune y Mecanismos de Autoinmunidad. Ed por UTEHA, México, 1996
- Paul William E. 1999. Fundamental Immunology. Lippincott-Raven. New York. USA. 1589 p.p.
- Purves D. et al. 2001. Neuroscience. Sinauer Associates, Inc. USA. 681 p.p.
- Rodney A.R. y cols. 1997. Fisiología Médica. Masson-little, brawn. Barcelona. España. 974 p.p.
- Ross MH, et al. 1997. Histología. Edit Panamericana. México D.F. 817 p.p.
- Russell E. Materson. 1992. Myelin: Biology and Chemistry. CCR-Press. USA. 980 p.p.
- Sell Stewart. 2001. Immunology, Immunopathology, and Immunity. ASM Press. Washington DC. USA. 753 p.p.
- Sherwood L. 1997. Human Physiology. Wadsworth Publishing Company. USA. Belmont. 888 p.p.
- Snell Richard S. 2001. Neuroanatomía Clínica. Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 636 p.p.
- Stites Daniel P. 1998. Inmunología Básica y Clínica. El Manual moderno. México. DF. 1079 p.p.
- Stryer L. 1996. Bioquímica. Reverté. México.DF. 1007 p.p.