

67
24



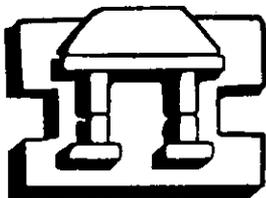
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

CAPACIDAD DE LA METILPREDNISOLONA ADMINISTRADA
A DIFERENTES DOSIS PARA INHIBIR LA
LIPOPEROXIDACION EN LESIONES TRAUMATICAS DE LA
MEDULA ESPINAL DE DISTINTA INTENSIDAD.

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 :
SERGIO TORRES CASTILLO

TUTOR ACADEMICO: DRA. HERMELINDA SALGADO CEBALLOS



IZTACALA

MEXICO, D. F.

ABRIL DE 1999.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

27 7226



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

ENEP-IZTACALA

**CAPACIDAD DE LA METILPREDNISOLONA ADMINISTRADA A DIFERENTES
DOSIS PARA INHIBIR LA LIPOPEROXIDACION EN LESIONES TRAUMATICAS DE
LA MEDULA ESPINAL DE DISTINTA INTENSIDAD.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO PRESENTA:
SERGIO TORRES CASTILLO**

TUTOR ACADEMICO: DRA. HERMELINDA SALGADO CEBALLOS

MEXICO, D. F., ABRIL DE 1999

Agradecimientos

A la Dra. Hermelinda Salgado por su apoyo incondicional durante el desarrollo del trabajo.

A la Biologa Ruth Capin y a Jose Luis Torres por su participación, recomendaciones y sugerencias.

A los compañeros de camina por el apoyo para realizar los experimentos.

A mis compañeros y amigos: Toda la banda de iztacaltecas (modular ultima generación).

Especialmente:

A dios por dejarme ser.

A mis padres y esposa por su confianza permanente.

A mis hermanos y abuelo por ser un estímulo de superación.

A mi hija por provocar un cambio interno en mi persona.

EL QUE TRABAJA CON LAS
MANOS ES UN ARTESANO; ÉL
QUE EMPLEA EN SU OBRA
MANOS Y CEREBRO, UN ARTIFICE;
QUIEN LABORA CON MANOS,
CEREBRO Y CORAZÓN.....
UN ARTISTA.

Louis Nizer

INDICE	
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	2
FISIOPATOLOGÍA DE LA LTME.....	3
LIPOPEROXIDACIÓN.....	4
TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA LTME CON MP.....	5
JUSTIFICACIÓN.....	8
PROBLEMA.....	8
HIPÓTESIS.....	8
OBJETIVOS.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
MODELO EXPERIMENTAL.....	9
ASPECTOS ÉTICOS.....	9
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	9
UNIVERSO DE TRABAJO.....	9
VARIABLES.....	10
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	10
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	10
MÉTODO DE ANESTESIA.....	10
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	10
LESIÓN TRAUMÁTICA DE LA MÉDULA ESPINAL Y LAMINECTOMÍA.....	11
ADMINISTRACIÓN DE METILPREDNISOLONA.....	12
EVALUACIÓN DE LIPOPEROXIDACIÓN.....	12
RESULTADOS.....	18
PROCEDIMIENTOS DE ESTANDARIZACIÓN.....	18
ESTÁNDAR EXTERNO.....	18
CONCENTRACIÓN DEL HOMOGENADO.....	18
CONTROL POSITIVO.....	18

TIEMPO DE MAXIMA CONCENTRACIÓN DEL MDA.....	18
EVALUACIÓN DEL PROCESO DE LIPOPEROXIDACIÓN.....	23
LTME LEVE.....	23
LTME MODERADA.....	23
LTME SEVERA.....	24
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	31
BIBLIOGRAFIA.....	32

ABREVIATURAS

LP:	lipoperoxidación
LTME:	lesión traumática de médula espinal
MDA:	malondialdehído
ME:	médula espinal
MP:	metilprednisolona
4-HNE:	4hidroxi-2(E)-nonenal
TBA:	ácido tiobarbitúrico
TCA:	ácido tricloroacético
TMP:	tetrametoxipropano

RESUMEN.

Después de una lesión traumática de la médula espinal (LTME) en los seres humanos, el único tratamiento aceptado hasta la fecha durante la fase aguda es la administración de megadosis (30 mg/Kg de peso corporal) de metilprednisolona (MP). Sin embargo los resultados obtenidos son controvertibles incluso en modelos experimentales. La razón puede explicarse con base en la existencia de una probable correlación entre la severidad de la LTME y la dosis de MP requerida para inhibir el proceso de lipoperoxidación (LP). La LP es el mecanismo de lesión secundaria responsable, cuando menos en parte, de la destrucción del tejido nervioso y por ende del déficit funcional generado. Debido a lo anterior, se estudio la LP en la médula espinal de 84 ratas adultas divididas al azar en un grupo 1: ratas sanas sin LTME; grupo 2: ratas con LTME leve (n=24); grupo 3: ratas con LTME moderada (n=24); grupo 4: ratas con LTME severa (n=24). Los animales fueron sometidos a LTME utilizando el modelo de lesión por contusión, dejando caer un peso conocido a una distancia conocida sobre la médula espinal expuesta. Cinco minutos después de la LTME, las ratas recibieron la MP como dosis única a 15, 30 ó 45 mg/Kg de peso corporal (8 ratas de cada grupo con lesión, por dosis). Veinticuatro horas después, se estudió la LP tanto por fluorometría como por espectrofotometría en el epicentro de la lesión o en el área correspondiente en el grupo control. Los resultados muestran que en la LTME leve, la MP administrada a dosis de 15 mg/Kg previene la LP ($p < 0.05$), mientras que 30 mg/Kg la incrementa ($p < 0.04$). En la LTME moderada 15 y 30 mg/Kg de MP incrementan la LP y 45 mg/Kg la disminuyen ($p < 0.07$). En la LTME severa todas las dosis probadas disminuyen la LP, sin embargo con 30 mg/Kg se obtuvieron los mejores resultados ($p < 0.03$). Los resultados reflejan una correlación entre la severidad de la LTME y la dosis de MP requerida para disminuir la LP, lo cual debe ser tomado en consideración para elaborar el esquema terapéutico adecuado.

INTRODUCCION.

Antecedentes.

La lesión traumática de la médula espinal (LTME) es un problema de salud pública que pone en riesgo la vida de los pacientes en estado agudo, y produce una serie de secuelas incapacitantes con devastadoras repercusiones personales, económicas y sociales (Whiteneck, 1992; Ditunno y Formal, 1994).

Alrededor del 40% de este tipo de lesiones son completas, lo cual produce pérdida total de las funciones motora y sensitiva por debajo del sitio dañado, traducándose en paraplejía si solo afecta miembros inferiores o en tetraplejía si afecta miembros inferiores y superiores. El resto de las lesiones son incompletas y se caracterizan por presentar cierto grado de funcionalidad por debajo del sitio afectado (Tator y Fehling, 1991).

A nivel mundial se reporta para la LTME una incidencia anual que oscila entre 12 y 40 casos por millón (Whiteneck, 1992; Dixon et al., 1993; Ditunno y Formal, 1994; Tator, 1995), reportándose específicamente en nuestro país una incidencia para la zona metropolitana del Distrito Federal de 12 casos por millón (Ibarra et al, 1990).

Aproximadamente, el 80% de las personas con LTME son del sexo masculino (Bracken et al., 1992) y al momento de la lesión alrededor del 75% se encuentra entre los 15 y los 35 años de edad (Eisenberg y Tierney, 1985; Tator y Fehling, 1991), ubicándose entre las principales causas de esta patología a los accidentes de tránsito en vehículos motorizados, los accidentes en la práctica deportiva, los accidentes en el trabajo y en actividades de recreación, las caídas y la violencia (Tator y Fehling, 1991; Tator, 1995).

En la actualidad, a pesar de los avances en los cuidados médicos y aún en los centros de atención especializados, la mortalidad en individuos con LTME se reporta entre 6 y 17% (De Vivo et al., 1990; Burney et al., 1993) y la frecuencia del suicidio entre los pacientes parapléjicos rebasa 10 veces la reportada en poblaciones similares pero sin este tipo de lesión (Rish et al., 1997).

Fisiopatología de la LTME.

El principal problema en una LTME radica en su complejidad, ya que su fisiopatología involucra tanto al daño mecánico primario como a los mecanismos secundarios de lesión. Lo relevante es que la mayor parte de la destrucción del sustrato anatómico necesario para la recuperación neurológica y el déficit funcional total son el resultado de los mecanismos secundarios de lesión más que del daño mecánico primario (Hall y Braugher, 1987; Young et al., 1982; Stokes et al., 1983).

Entre los mecanismos secundarios que median la autodestrucción del tejido nervioso y conllevan al deterioro progresivo del paciente con LTME se incluyen desequilibrio iónico, isquemia, hemorragia, alteraciones en el metabolismo energético, disminución en la actividad de la $(Na^+ - K^+) - ATPasa$, alteraciones en la excitabilidad neuronal, activación de proteasas, lipasas y endonucleasas, pérdida de la homeostasia del calcio intracelular, elevación de aminoácidos excitatorios como el glutamato, activación de la fosfolipasa A_2 , liberación de ácido araquidónico, formación de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, liberación de especies reactivas de oxígeno, daño a las membranas celulares e hidrólisis de fosfolípidos causados por lipoperoxidación (LP) (Jonsson y Daniell, 1976; Clendenon et al., 1978; Anderson et al., 1980 y 1985; Hall y Braugher, 1982 y 1993; Young y Flamm, 1982; Mean y Anderson, 1983; Hsu et al., 1985; Demediuk et al., 1985a,b; Young, 1985; Saunders et al., 1987; Demediuk y Faden, 1988; Siesjö, 1988; McIntosh, 1994; Regan y Choi, 1994; Yue y Feuerstein, 1994).

De los procesos mencionados, se considera a la LP como uno de los mecanismos más importantes de la degeneración neuronal secundaria postraumática (Demopoulos et al., 1980; Saunders, et al., 1987), ya que si la LP es suficientemente severa, causa la lisis

de las membranas a través del ataque de los radicales libres de oxígeno a los fosfolípidos estructurales de la mielina, a los de las membranas de las células gliales y a los de las neuronas, lo cual genera la disolución del tejido nervioso y por ende la interrupción en la conducción de impulsos nerviosos a través de las vías que conectan al cerebro con el resto del organismo, por lo que el déficit funcional total depende de la magnitud de este proceso (Hall y Braugher, 1981, 1982 y 1993; Hall y Wolf, 1986; Hall et al., 1992).

Lipoperoxidación

La LP es un proceso complejo a través del cual los ácidos grasos poliinsaturados reaccionan con el oxígeno molecular generando hidroperóxidos lipídicos, que son degradados a productos secundarios tales como el malondialdehído (MDA) y el 4hidroxi-2(E)-nonenal (4-HNE), los cuales sirven como índice para determinar la extensión de la reacción de peroxidación (Esterbauer y Cheeseman, 1990).

La LP es causada por la acción de radicales libres, y a su vez los genera. Dichos radicales son especies que contienen uno o más electrones no apareados, los cuales suelen reaccionar ávidamente con moléculas susceptibles tales como los ácidos grasos poliinsaturados.

El radical iniciador de la LP generalmente extrae un átomo de hidrógeno de la molécula blanco, dando lugar a un nuevo radical libre. Si la molécula blanco es un ácido graso poliinsaturado, el oxígeno molecular disponible puede combinarse con el radical reactivo del ácido graso permitiendo la formación de dienos conjugados (radicales peróxido). Estos radicales también son reactivos y pueden por sí mismos extraer un átomo de hidrógeno de una molécula vecina y formar hidroxiperóxidos o endoperóxidos y otro radical libre. Es decir que esta reacción en cadena produce un suministro continuo de radicales libres que inician la peroxidación posterior (Regan y Choi, 1994).

Cada hidroperóxido formado puede romperse enzimáticamente o no en productos tales como hidrocarburos volátiles, malonaldehído, precursores del MDA y monóxido de carbono (Regan y Choi, 1994).

Los radicales libres que participan en el mecanismo secundario de lesión posterior a una LTME se producen principalmente durante la isquemia-reperfusión, por la conversión irreversible de la deshidrogenasa de xantina a oxidasa de xantina (Hall y Braughler, 1989).

La susceptibilidad del SNC al daño inducido por los radicales libres (Anderson et al., 1985) está dada por varias razones:

1. Los lípidos de membrana son especialmente ricos en colesterol y ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son blanco de las especies reactivas de oxígeno.
2. El SNC es pobre en actividad de catalasa y de glutatión peroxidasa y tiene una cantidad moderada de superóxido dismutasa. Por el contrario, es rico en hierro y éste es el principal inductor de la producción de radicales libres en lesiones del SNC.
3. Las neuronas contienen un gran número de lisosomas, cuyas membranas son dañadas por los radicales libres, dando por resultado la liberación de enzimas hidrolíticas dentro del citoplasma de las propias neuronas.

Tratamiento farmacológico de la LTME con metilprednisolona.

La metilprednisolona (MP) administrada en megadosis y de manera temprana fue el primer medicamento que permitió la recuperación motora y sensitiva de pacientes con LTME (Bracken et al., 1990 y 1997). Sin embargo, en la actualidad sigue en estudio y debate la explicación de los mecanismos a través de los cuales este fármaco protege a la médula espinal (ME) después de una lesión de este tipo (Hsu y Dimitrijevic, 1990; Blight, 1991; Hall, 1991; Hall, et al., 1995).

Hasta la fecha se sabe que la MP posee un efecto neuroprotector al inhibir la actividad de las fosfolipasas, especialmente la fosfolipasa A₂ (Hirata et al., 1980; Haynes y Murad, 1990), atenuar el incremento de la prostaglandina E₂ (Hall et al., 1995), inhibir los radicales de oxígeno y con ello la LP (Braughler y Hall, 1982; Hall y Baughler, 1981 y 1982; Demopoulos et al., 1982; Anderson y Means, 1985; Anderson et al., 1985; Saunders et al., 1987), proteger las membranas celulares (Braughler, 1985), prevenir la isquemia postraumática en la ME manteniendo el flujo sanguíneo tisular (Young y

Flamm, 1982; Hall et al., 1984), mejorar y mantener el metabolismo energético aeróbico (Anderson et al., 1982; Braughler y Hall, 1983 y 1984), restaurar el calcio intracelular (Young y Flamm, 1982) y prevenir la destrucción del citoesqueleto mediada por enzimas activadas por calcio (Rosenberg-Schaffer y Hill, 1993). La MP también inhibe la hidrólisis lipídica (liberación de ácido araquidónico) y la formación de ecosanoides (Anderson et al., 1985), disminuye la acidosis láctica (Hall, 1991), reduce la degradación de neurofilamentos (Braughler y Hall, 1984), evita la pérdida de colesterol, disminuye la extensión del tejido dañado, aumenta la excitabilidad neuronal y la transmisión sináptica, permite la recuperación de los potenciales evocados somatosensoriales y promueve la recuperación funcional (Green et al., 1980; Means et al., 1981; Demopoulos et al., 1982; Young y Flamm, 1982; Braughler y Hall, 1982, 1983 y 1984; Hall et al., 1984; Braughler et al., 1987; Hall, 1991; Faden, 1996).

No obstante lo anterior, hasta la fecha existe controversia sobre la dosis a la que debe administrarse la MP para que esta ejerza su efecto neuroprotector y/o antioxidante después de una LTME, de tal forma que algunos investigadores afirman que la MP posee efecto benéfico cuando se administra a dosis de 30 mg/Kg de peso corporal (Anderson, 1991; Bracken et al., 1990; Braughler y Hall, 1982 y 1984; Braughler, 1987; Holtz et al., 1990), pierde dicho efecto a 60 mg/Kg de peso (Hall y Braughler, 1982) y produce efectos paradójicos o lesivos a 90 mg/Kg de peso (Hall y Braughler, 1981 y 1982; Braughler y Hall, 1982 y 1983b). Sin embargo, existen estudios en los que no se han podido demostrar efectos clínicos benéficos con el empleo de la MP a dosis de 30 mg/Kg de peso (Faden et al., 1984; Iizuka et al., 1986). Más aún, otros autores indican que la MP tiene efectos benéficos si se administra a razón de 60 mg/Kg de peso, e incluso algunos más afirman que con dosis de 15 mg/Kg de peso también se obtienen efectos favorables (Hall y Braughler, 1982; Means et al., 1981; Young y Flamm, 1982; Young et al., 1988).

Nosotros pensamos que estas diferencias están dadas por la existencia de una probable correlación entre la severidad de la lesión y la dosis de MP requerida para inhibir la LP, ya que en el estudio realizado por el National Acute Spinal Cord Injury Study II (Bracken

et al., 1990) en pacientes con LTME de diferente intensidad, al administrarles el fármaco a dosis de 30 mg/Kg de peso corporal se observó que:

1. Los pacientes paréticos (con movimiento menor al normal) tratados con MP recuperaron el 75% de la función motora perdida, mientras que los pacientes pléjicos tratados con MP sólo recuperaron el 20% de dicha función.
2. En los pacientes pléjicos (paralíticos) con pérdida sensorial total se observó mejoría significativa en la recuperación motora, mientras que en los pacientes pléjicos con pérdida parcial de la sensibilidad no hubo diferencias entre los que recibieron MP y los de placebo.

Aunado a lo anterior, se ha observado en animales de experimentación que después de una LTME por contusión con una intensidad de 12.5, 25 y 50 g/cm² a nivel torácico bajo en ratas adultas en donde la MP se empleó a razón de 30 mg/Kg de peso corporal, 24 horas después de la lesión se observaron efectos benéficos significativos en los 2 primeros casos, pero no así en el tercero en el que las lesiones fueron severas (Constantini y Young, 1994).

JUSTIFICACIÓN.

Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios que correlacionen la LTME leve, moderada y severa con la magnitud de la LP y la capacidad de la MP para atenuarla. Y por ende, se desconoce si se deben variar la dosis de MP para atenuar la LP dependiendo de si la LTME es leve, moderada o severa.

PROBLEMA.

1. ¿Se correlacionará la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP?
2. ¿Será la MP capaz de inhibir la LP de manera similar en LTME de diferente intensidad?
3. ¿Será necesario modificar la dosis de MP dependiendo de la intensidad de la LTME para atenuar la LP?

HIPOTESIS.

1. Mientras más severa sea la LTME mayor será la magnitud de la LP.
2. La capacidad de la MP para inhibir la LP será diferente en LTME leve, moderada y severa.
3. Mientras más severa sea una LTME se requerirán dosis mayores de MP para atenuar la LP, y en lesiones de menor intensidad las dosis requeridas para atenuar la LP serán menores.

OBJETIVOS.

1. Correlacionar la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP.
2. Evaluar la capacidad de la MP para atenuar la LP en animales con LTME de diferente intensidad.
3. Evaluar si la dosis de MP se debe modificar para atenuar la LP dependiendo de la intensidad de la LTME.

JUSTIFICACIÓN.

Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios que correlacionen la LTME leve, moderada y severa con la magnitud de la LP y la capacidad de la MP para atenuarla. Y por ende, se desconoce si se deben variar la dosis de MP para atenuar la LP dependiendo de sí la LTME es leve, moderada o severa.

PROBLEMA.

1. ¿Se correlacionará la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP?
2. ¿Será la MP capaz de inhibir la LP de manera similar en LTME de diferente intensidad?
3. ¿Será necesario modificar la dosis de MP dependiendo de la intensidad de la LTME para atenuar la LP?

HIPOTESIS.

1. Mientras más severa sea la LTME mayor será la magnitud de la LP.
2. La capacidad de la MP para inhibir la LP será diferente en LTME leve, moderada y severa.
3. Mientras más severa sea una LTME se requerirán dosis mayores de MP para atenuar la LP, y en lesiones de menor intensidad las dosis requeridas para atenuar la LP serán menores.

OBJETIVOS.

1. Correlacionar la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP.
2. Evaluar la capacidad de la MP para atenuar la LP en animales con LTME de diferente intensidad.
3. Evaluar si la dosis de MP se debe modificar para atenuar la LP dependiendo de la intensidad de la LTME.

JUSTIFICACIÓN.

Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios que correlacionen la LTME leve, moderada y severa con la magnitud de la LP y la capacidad de la MP para atenuarla.

Y por ende, se desconoce si se deben variar la dosis de MP para atenuar la LP dependiendo de sí la LTME es leve, moderada o severa.

PROBLEMA.

1. ¿Se correlacionará la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP?
2. ¿Será la MP capaz de inhibir la LP de manera similar en LTME de diferente intensidad?
3. ¿Será necesario modificar la dosis de MP dependiendo de la intensidad de la LTME para atenuar la LP?

HIPOTESIS.

1. Mientras más severa sea la LTME mayor será la magnitud de la LP.
2. La capacidad de la MP para inhibir la LP será diferente en LTME leve, moderada y severa.
3. Mientras más severa sea una LTME se requerirán dosis mayores de MP para atenuar la LP, y en lesiones de menor intensidad las dosis requeridas para atenuar la LP serán menores.

OBJETIVOS.

1. Correlacionar la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP.
2. Evaluar la capacidad de la MP para atenuar la LP en animales con LTME de diferente intensidad.
3. Evaluar si la dosis de MP se debe modificar para atenuar la LP dependiendo de la intensidad de la LTME.

JUSTIFICACIÓN.

Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios que correlacionen la LTME leve, moderada y severa con la magnitud de la LP y la capacidad de la MP para atenuarla.

Y por ende, se desconoce si se deben variar la dosis de MP para atenuar la LP dependiendo de sí la LTME es leve, moderada o severa.

PROBLEMA.

1. ¿Se correlacionará la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP?
2. ¿Será la MP capaz de inhibir la LP de manera similar en LTME de diferente intensidad?
3. ¿Será necesario modificar la dosis de MP dependiendo de la intensidad de la LTME para atenuar la LP?

HIPOTESIS.

1. Mientras más severa sea la LTME mayor será la magnitud de la LP.
2. La capacidad de la MP para inhibir la LP será diferente en LTME leve, moderada y severa.
3. Mientras más severa sea una LTME se requerirán dosis mayores de MP para atenuar la LP, y en lesiones de menor intensidad las dosis requeridas para atenuar la LP serán menores.

OBJETIVOS.

1. Correlacionar la intensidad de la LTME con la magnitud de la LP.
2. Evaluar la capacidad de la MP para atenuar la LP en animales con LTME de diferente intensidad.
3. Evaluar si la dosis de MP se debe modificar para atenuar la LP dependiendo de la intensidad de la LTME.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Modelo experimental.

Los diferentes modelos experimentales que se han empleado en el laboratorio para estudiar la LTME proporcionan un amplio espectro de lesiones de origen diverso, calidad y severidad (Green et al., 1980; Means et al., 1981; Demopoulos et al., 1982; Hall y Braughler, 1982; Braughler y Hall, 1983 y 1984; Hall et al., 1984; Hall, 1985; Iizuka et al., 1986; Braughler et al., 1987). No obstante, en la actualidad las lesiones experimentales de tipo contusión-compresión son modelos que en muchos aspectos semeja lo que ocurre en la mayoría de seres humanos con LTME (Das, 1989), por lo que para el desarrollo del presente trabajo se empleó el modelo de LTME por contusión.

Aspectos éticos.

Todos los procedimientos quirúrgicos y experimentales se realizaron con apego a las normas de la Ley General de Salud (1990).

Diseño del estudio.

Se realizó un estudio de tipo comparativo, prospectivo y experimental.

Universo de trabajo.

Se estudiaron un total de 84 ratas hembras Long-Evans adultas entre 250 y 280g de peso corporal. Las ratas fueron divididas en un grupo control formado por 12 ratas a las que se les realizó una laminectomía y a 6 de ellas además se les administró el vehículo de la MP. A los animales de los 3 grupos experimentales formados por 24 ratas cada uno, se les produjo una LTME leve, moderada o severa según correspondió y cada grupo se dividió en 3 subgrupos de 8 ratas cada uno a los cuales se les administró una dosis de MP a razón de 15, 30 ó 45 mg/Kg de peso corporal, según correspondió en cada caso (fig. 1).

Variables.

a) Variables independientes: MP y LTME, con diferentes niveles cada una:

-MP administrada en 3 diferentes dosis (15, 30 y 45 mg/Kg de peso corporal).

-LTME producida con 3 diferentes intensidades: leve (30 g/cm), moderada (75 g/cm) y severa (150 g/cm).

b) Variable dependiente: LP, evaluada a través de los valores de MDA expresados en nmol/g de tejido.

Criterios de inclusión.

Se incluyeron todas las ratas con las características referidas previamente y que al ser sometidas a la laminectomía no presentaron lesión de la ME en el caso del grupo control, mientras que en el grupo experimental se incluyeron las que al ser sometidas a la LTME presentaron un hematoma en la zona central de la ME.

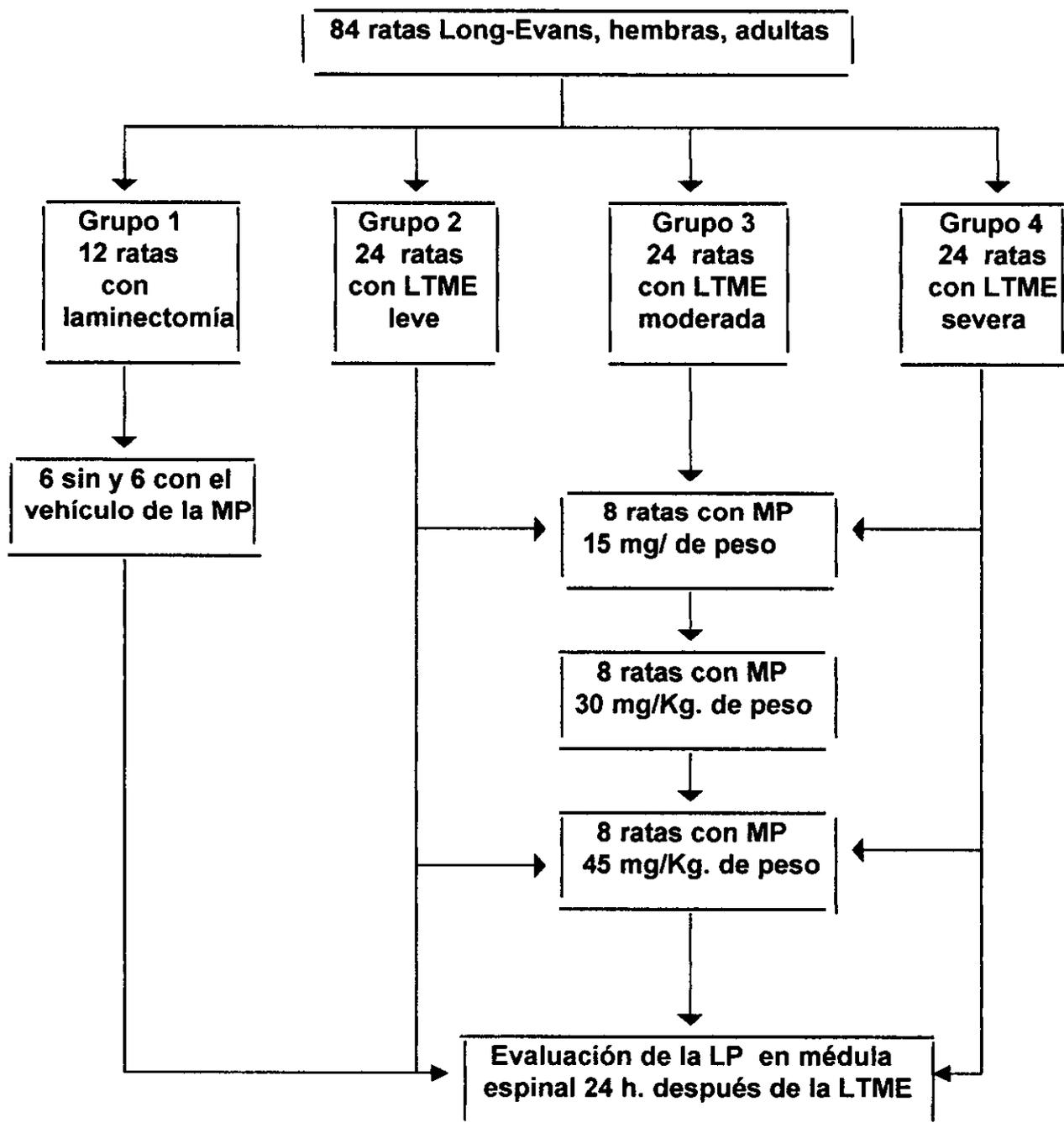
Criterios de exclusión

En el grupo control se excluyó a las ratas que presentaron alguna lesión de la ME durante la laminectomía. En el grupo experimental se excluyeron todas las ratas cuyo hematoma fue lateralizado con respecto a la zona central de la ME.

Método de anestesia.

Para los procedimientos de LTME, laminectomía y obtención del segmento de ME, se aplicó una dosis intramuscular de una mezcla de clorhidrato de ketamina (75 mg/Kg de peso corporal) e hidrocloreuro de xilazina (12.5 mg/Kg de peso corporal). Después de obtener la ME los animales fueron sacrificados mediante una sobredosis con éter etílico.

Figura 1. Diseño experimental.



Lesión traumática de la médula espinal y laminectomía.

Bajo el efecto de la anestesia, previa apepsia y antisepsia, se realizó una incisión media sagital en la piel de la región torácica baja y se disecaron los músculos paravertebrales de las apófisis espinosas. Posteriormente, se separó el periostio de las láminas vertebrales. Se extirparon dos apófisis espinosas (T8 y T9) para visualizar ampliamente las láminas correspondientes. Finalmente se realizó una laminectomía (extirpación de la lámina), para exponer la porción dorsal de la ME sin lesionarla y manteniendo las meninges intactas. Una vez concluida la laminectomía, los animales programados para lesión, se colocaron en un equipo de estereotaxia (Fig. 2).

La contusión de la ME se realizó con la técnica de Allen (1911) modificada (Guizar et al 1994) para lo cual se dejó caer un cilindro de acero inoxidable (con peso de 15 g, con una punta roma de 2 mm de diámetro y 1 cm de largo) de una altura de 2 cm (lesión leve), 5 cm (lesión moderada), ó 10 cm (lesión severa) según correspondió, a través de un tubo guía sobre la ME expuesta. La intensidad de lesión fue de 30, 75 y 150 g/cm respectivamente. Se observó el sitio del impacto a través del microscopio quirúrgico para corroborar la formación de un hematoma central a nivel de la zona de contusión (Fig. 3).

La fascia muscular y la piel en la incisión quirúrgica tanto en el grupo experimental como en el grupo testigo se suturaron por planos con puntos simples. Veinticuatro horas después de la LTME se corroboró que la lesión produjera parálisis completa en ambas extremidades posteriores de los animales incluidos en el estudio (Fig. 4)

Administración de la metilprednisolona.

La MP en forma de succinato de sodio se disolvió en solución fisiológica (Na Cl al 0.9%) y se inyectó 5 minutos después de la lesión, como dosis única, en bolo, vía intraperitoneal, a razón de 15, 30 ó 45 mg/Kg de peso corporal según correspondió en cada grupo.



Figura 2. Aparato estereotáxico en el cual se lesionó a los animales. Las ratas se colocaron, bajo los efectos de la anestesia, previa laminectomía a nivel T9, sobre una plancha (P) y se les sujetó la cabeza con los tornillos de fijación (F). Después, se dejó caer el impactador (cilindro de acero inoxidable con 2 mm de diámetro en la punta y 15 g de peso) por un tubo guía (T) a una distancia de 2, 5 ó 10 cm, sobre la médula espinal expuesta. El procedimiento se realizó utilizando un microscopio quirúrgico (Q).



Figura 3. Zona de lesión en médula espinal de rata. Región central y medial de la médula espinal (flecha) de una rata sometida a una LTME severa, en la cual se visualiza a través del microscopio quirúrgico, el hematoma formado inmediatamente después de la contusión (cabeza de flecha).

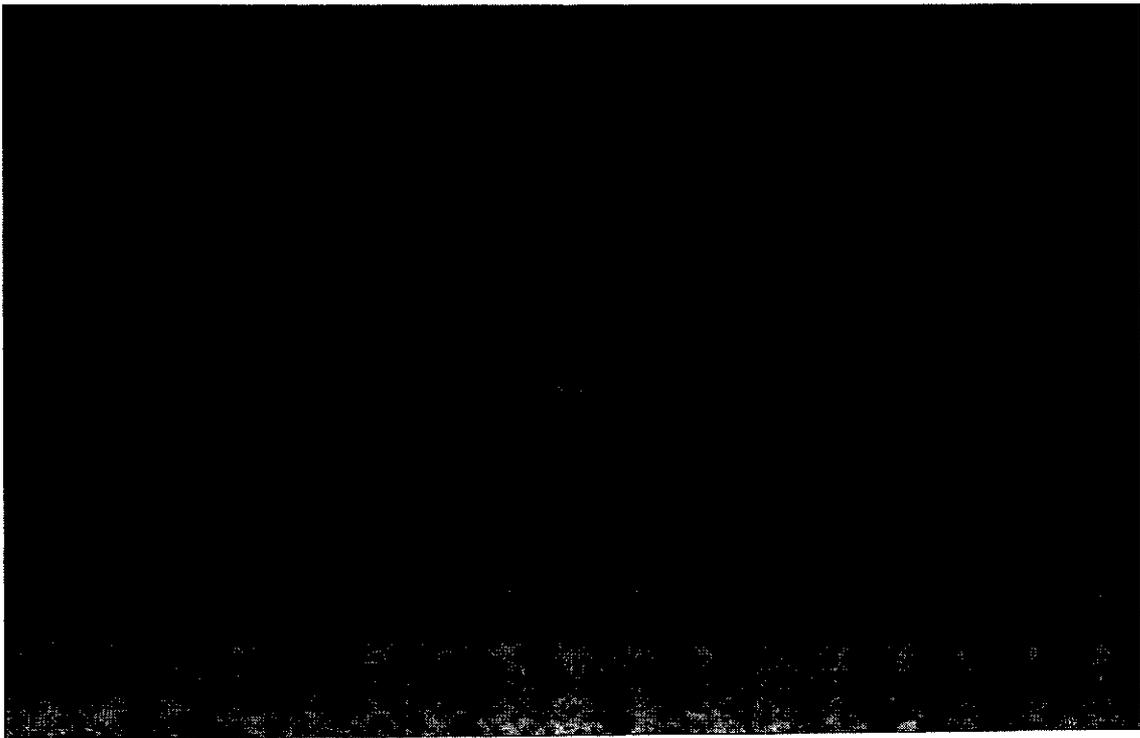


Figura 4. Rata con paraplejía. En la fotografía se muestra una rata 24 horas después de una LTME severa, en la cual se observa que ambas extremidades posteriores presentan parálisis flácida con incapacidad para sostener el tren posterior.

Evaluación de la lipoperoxidación.

La LP produce peróxidos lípidicos y productos de degradación tales como los aldehídos. El MDA reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) y puede detectarse a una absorbancia de 535 nm (Nichaus y Samuelsson, 1968), lo cual sirve como índice para determinar la extensión de la reacción de peroxidación (Esterbauer y Cheeseman, 1990).

En el presente trabajo la LP se evaluó por fluorometría, utilizando la técnica de Kunio Yagi (1984). Para lo anterior, se preparó el estándar de tetrametoxipropano (TMP) de la siguiente manera: a 8.2 ml de TMP se le adicionaron 0.2 ml de HCl concentrado, se hidrolizó a temperatura ambiente toda la noche. Se agregaron 5 ml de H₂O destilada. Se tomaron 2.5 ml del hidrolizado y se aforaron a 1000 ml, quedando la solución a 25 mM. Se realizaron curvas estándar. El ácido tricloroacético (TCA) se preparó a partir de una solución al 50%, para lo cual se tomaron 39.86 ml de dicha solución, se adicionaron 5 ml de ácido clorhídrico y se aforó a 100 ml, quedando una solución al 40% aproximadamente. El TBA se preparó el mismo día en el que se realizaron las determinaciones, adicionando a 500 mg de esta sustancia, 6 ml de NaOH 1M y 64 ml de H₂O, calentándose, con el fin de ayudar a la solubilización, con lo que se obtuvo una solución al 0.67%.

Transcurridas 24 horas después de la lesión, se extrajo el segmento de la ME desde T7 hasta T9, se tomó 1 cm de la misma incluyendo el epicentro de la lesión o el segmento correspondiente en el grupo control y posteriormente se lavó y se colocó en una solución de cloruro de potasio (0.1N) enfriada en hielo. El fragmento de ME se pesó y se colocó el cloruro de potasio, guardando una relación peso/volumen de 1x9 para hacer el homogenado correspondiente, del cual se tomaron 0.05 y 0.1 ml para realizar el siguiente procedimiento:

1. Se agregaron 4 ml de N/12 H₂SO₄ y se agitó suavemente.
2. Se agregó 0.5 ml de ácido fosfotúngstico al 10% y se mezcló.
3. Se resuspendió el sedimento en 4 ml de agua destilada y 1 ml de TBA.
4. Se calentó durante 60 minutos a 95°C en un baño de aceite.
5. Se enfrió al chorro de agua y se agregaron 5 ml de n-butanol. Se agitó vigorosamente.
6. Se realizó la medición de LP en un fluorómetro Perkin-Elmer LS-3, a 515 nm de excitación con 553 nm de emisión.
7. Se realizó la medición de LP en un espectrofotometro Beckman DU-650, a una absorbancia de 532 nm.

RESULTADOS.

Procedimientos de estandarización.

1. Estándar externo: El tetrametoxipropano (TMP) se empleó como estándar externo, por lo cual se probaron diferentes cantidades del mismo a una absorbancia de 532 nm y se graficaron los resultados para corroborar la linealidad de la reacción (Fig.5). El nivel de LP se expresó en nmol de MDA.

2. Concentración del homogenado: De cada una de las ratas se extrajo un cm de la ME incluyendo el epicentro de la lesión o la región correspondiente en la ME de los animales del grupo control, se realizó el homogenado de la muestra y se procedió a probar diferentes concentraciones de la misma con el fin de determinar cual era la concentración ideal para desarrollar el experimento en las mejores condiciones. Se encontró que 0.05 ml del homogenado eran suficiente por caer en los rangos de absorbancia (entre 0.1 y 0.2) que de acuerdo a las concentraciones del estándar interno empleado queda dentro de los rangos detectables (Fig. 6).

3. Control positivo: Debido a que las concentraciones de MDA se incrementan en forma importante en presencia de especies reactivas tales como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), en el presente trabajo se empleó dicha sustancia como control positivo. El H_2O_2 se utilizó al 0.75% y 3%. En la figura 7, se muestran los resultados obtenidos, observándose, con respecto al homogenado de tejido en ausencia de H_2O_2 , un incremento considerable en los valores de MDA cuando la muestra se incubó con H_2O_2 al 3% ($p < 0.02$).

4. Tiempo de máxima concentración del MDA: Con base a que los productos de la LP varían en su concentración con respecto al tiempo a partir del momento en el que se inflige la LTME, se realizaron evaluaciones a 30, 60, 120 y 1440 minutos después de la LTME, decidiéndose realizar las evaluaciones para el presente trabajo a los 1440 minutos posteriores a la lesión, momento en el cual se alcanzaron las concentraciones más altas de MDA (Fig. 8).

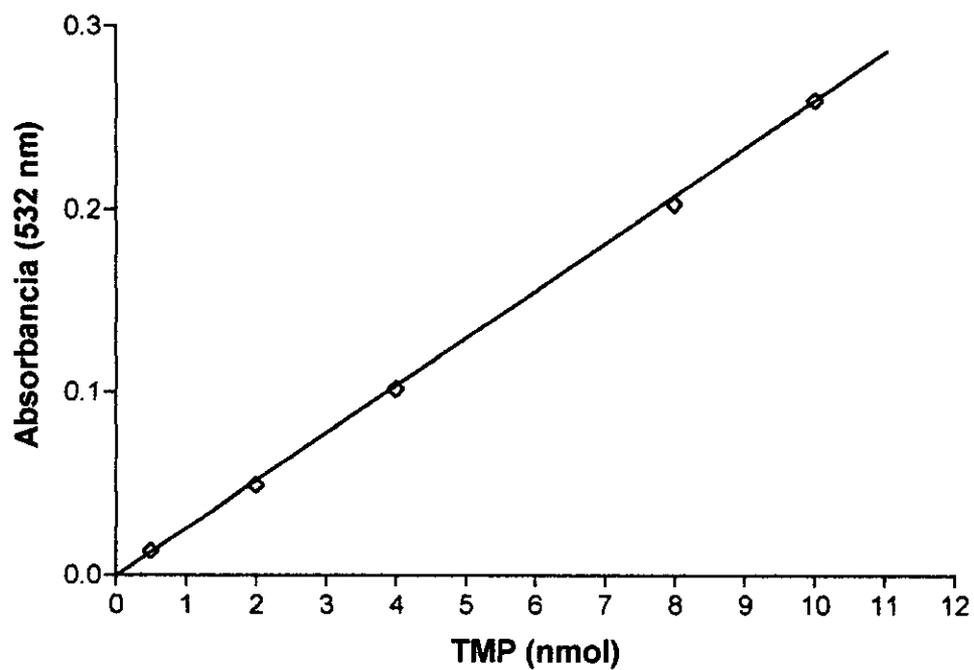


Figura 5. Estándar externo. La gráfica muestra la relación entre la cantidad de tetrametoxipropano (TMP) empleado como estándar externo y la absorbancia a 532 nm registrada mediante espectrofotometría.

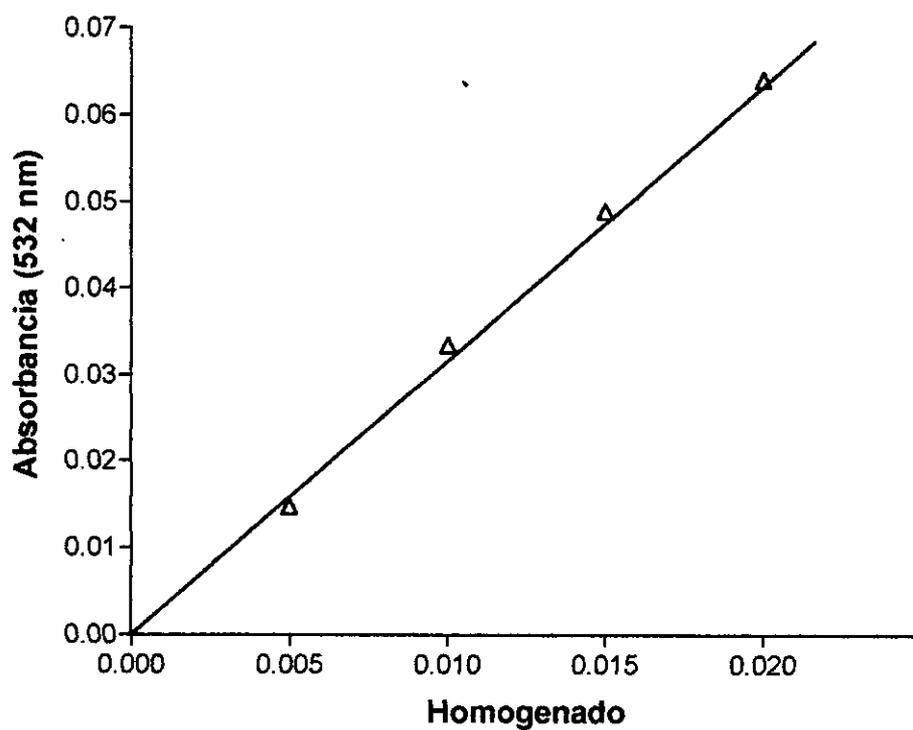


Figura 6. Concentración del homogenado. La gráfica muestra la relación entre la cantidad del homogenado de la médula espinal y la absorbancia a 532 nm. Cada punto representa la media \pm la desviación estándar de 3 determinaciones.

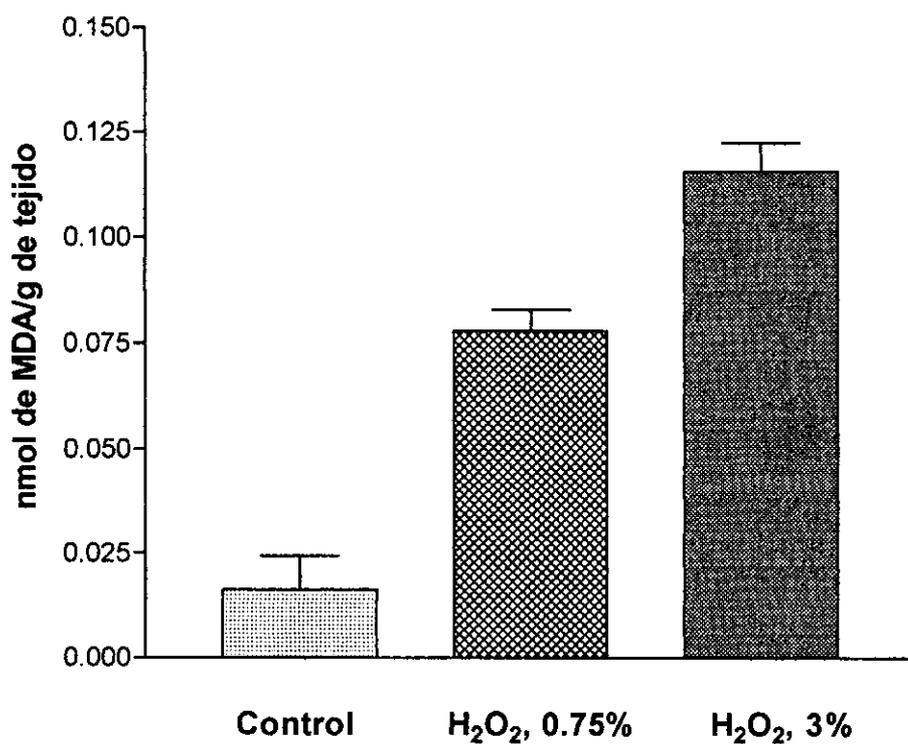


Figura 7. Control positivo. En la gráfica de barras se muestran los valores de malondialdehído (MDA) obtenidos en los grupos control negativo y control positivo de ratas sin lesión traumática de médula espinal. En el grupo control positivo se agregó al homogenado de la médula espinal H₂O₂ al 0.75% y al 3%, observándose con esta última concentración un incremento significativo en los niveles de MDA ($p < 0.02$).

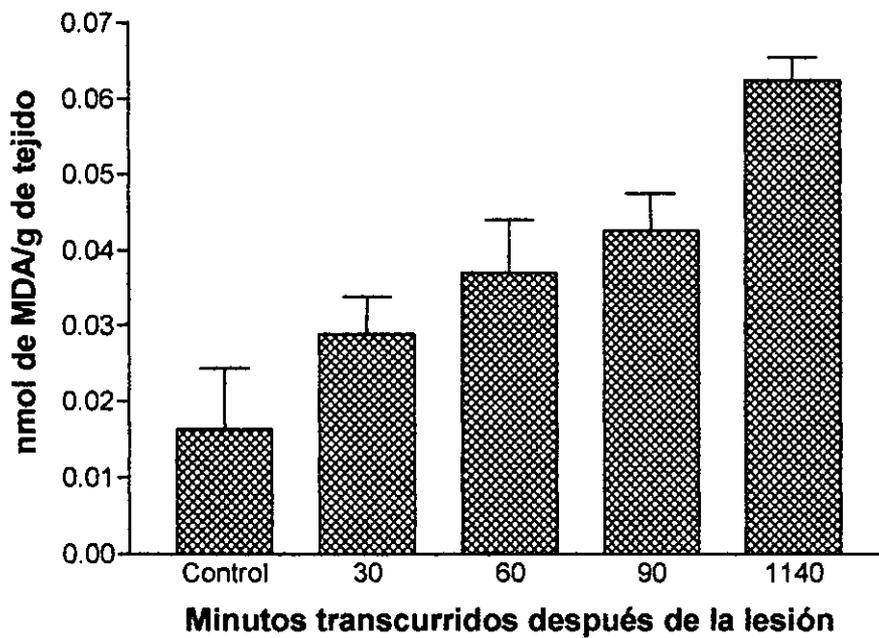


Figura 8. Tiempo de máxima concentración del malondialdehído (MDA) después de la lesión. Evaluación del proceso de lipoperoxidación a través de la formación de MDA en homogenado de médula espinal extraída a diferentes tiempos después de la lesión traumática, donde se muestra que el máximo nivel se alcanza a los 1140 minutos. Cada punto representa la media \pm la desviación estándar de 3 determinaciones.

Evaluación del proceso de LP.

Al estudiar el epicentro de la zona de lesión (1 cm de médula espinal), la región proximal al sitio de lesión (0.5 cm de médula espinal en ambas direcciones a partir del epicentro) y la región distal (0.5 cm de la médula espinal en ambas direcciones a partir de la región proximal) se observaron las máximas concentraciones de MDA en el epicentro; estas disminuyeron en la región proximal y aún más en la porción distal a la misma. Sin embargo, los valores en esta última región fueron mayores que los observados en la médula espinal de los animales del grupo control (Fig. 9), lo anterior indica que la LP no se localiza exclusivamente en el sitio lesionado, si no que se extiende a lo largo de la médula espinal.

La magnitud de la LP evaluada tanto por técnicas espectrofotométricas como fluorométricas, mostró diferencias dependiendo de la intensidad de la lesión y diversas respuestas al tratamiento con la administración de MP a distintas dosis (Fig.10 y 11), obteniéndose los siguientes resultados:

1. LTME leve: Se observaron diferencias entre el subgrupo sin tratamiento y los subgrupos tratados con MP a dosis de 15 y 45 mg/Kg de peso corporal, siendo mayor en el subgrupo tratado con 15 mg/Kg. Aún cuando estas dosis lograron disminuir las concentraciones de MDA, no se alcanzó significancia estadística ($p < 0.06$). En lo que respecta al subgrupo tratado con MP a razón de 30 mg/Kg de peso corporal, se observó un incremento significativo en los valores de MDA al compararlo con el subgrupo no tratado ($p < 0.05$). Lo anterior significa que con dicha dosis se incrementa el proceso de LP cuando la intensidad de la LTME es leve.

2. LTME moderada: Al comparar los valores de MDA observados en el subgrupo sin tratamiento con los obtenidos en los subgrupos que recibieron la MP a razón de 15 y 30 mg/Kg de peso corporal, se observó un incremento en los valores de MDA, siendo significativa solo en el subgrupo de 30 mg/Kg ($p < 0.05$). Aún cuando la MP administrada

a razón de 45 mg/Kg de peso corporal disminuyó los valores de MDA, no se alcanzó significancia estadística ($p < 0.08$).

3. LTME severa: Al comparar el subgrupo no tratado con los que recibieron la MP se observó que en todas las dosis probadas los valores de MDA disminuyeron, sin embargo la mejor respuesta se observó en el grupo que recibió la MP a razón de 30 mg/Kg de peso corporal ($p < 0.03$).

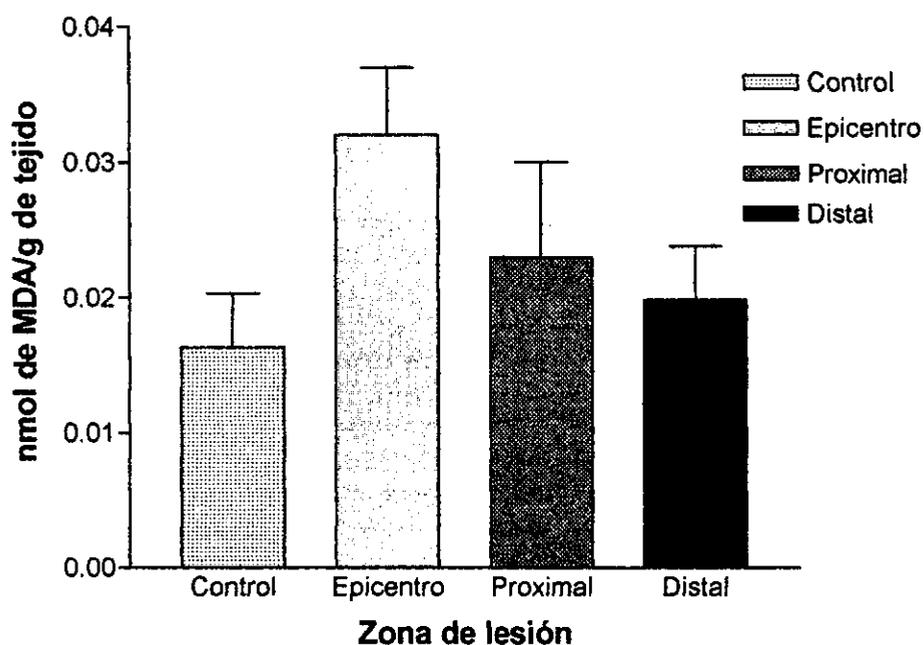


Figura 9. Detección de Malondialdehído (MDA) en distintas regiones de la médula espinal. La gráfica de barras muestra la diferencia en las concentraciones de MDA registradas tanto en el epicentro de la lesión como en la región proximal y distal del mismo. Se observa la mayor concentración de MDA en el epicentro de la lesión y una disminución en dichos valores en la región proximal al sitio de lesión y aún más en la región distal. Cada punto representa la media \pm la desviación estándar de 3 determinaciones.

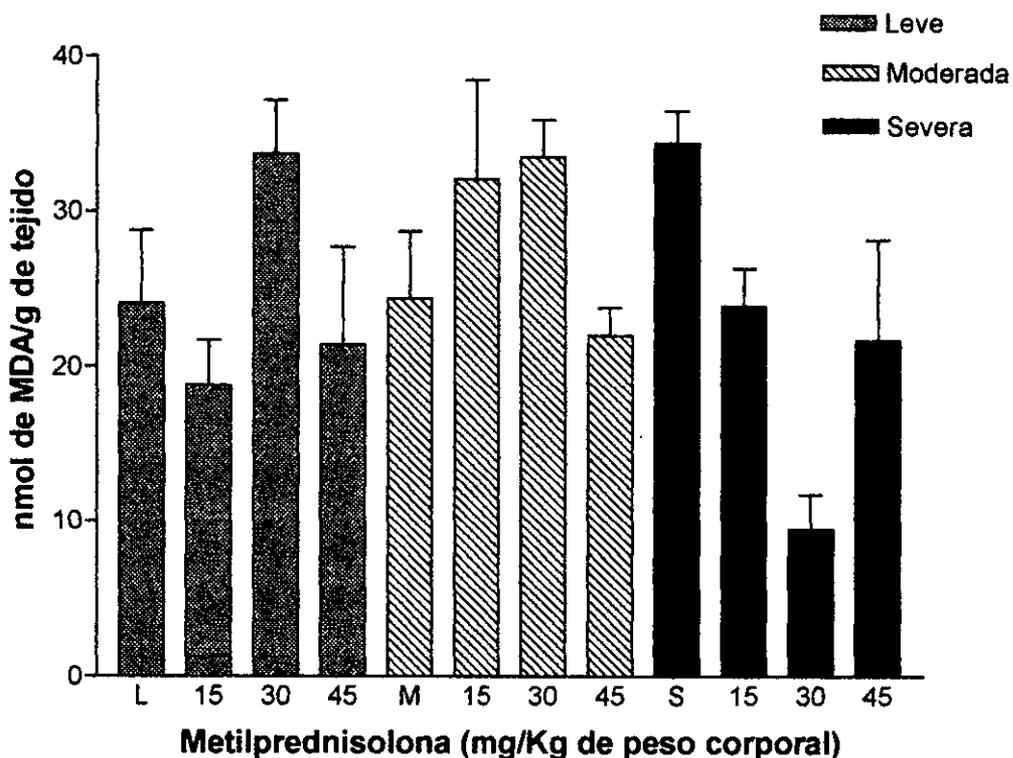


Figura 10. Evaluación del proceso de lipoperoxidación. En la gráfica de barras se presenta el efecto que sobre el proceso de lipoperoxidación se observó posterior a la administración de metilprednisolona en diferentes dosis después de una lesión traumática de la médula espinal de intensidad leve, moderada o severa,. La evaluación se realizó por técnica por fluorométrica. Cada punto representa la media \pm la desviación estándar de 8 determinaciones.

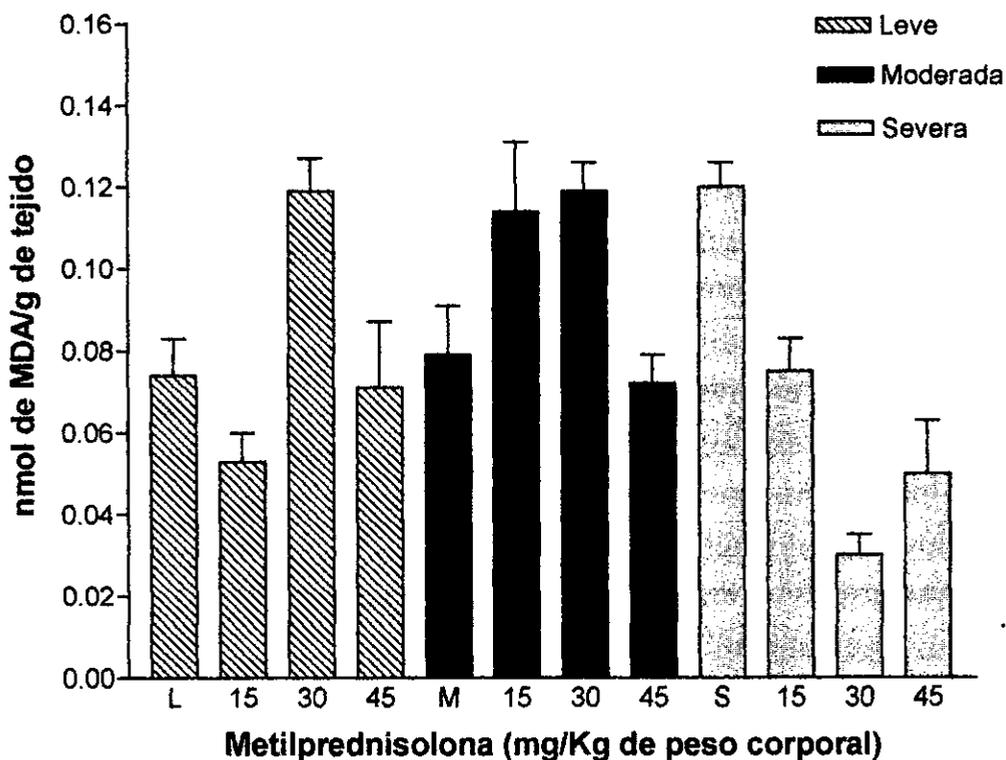


Figura 11. Evaluación del proceso de lipoperoxidación por espectrofotometría. En la gráfica de barras se presenta el efecto que sobre el proceso de lipoperoxidación se observó posterior a la administración de metilprednisolona en diferentes dosis después de una lesión traumática de la médula espinal de intensidad leve, moderada o severa. Cada punto representa la media \pm la desviación estándar de 8 determinaciones.

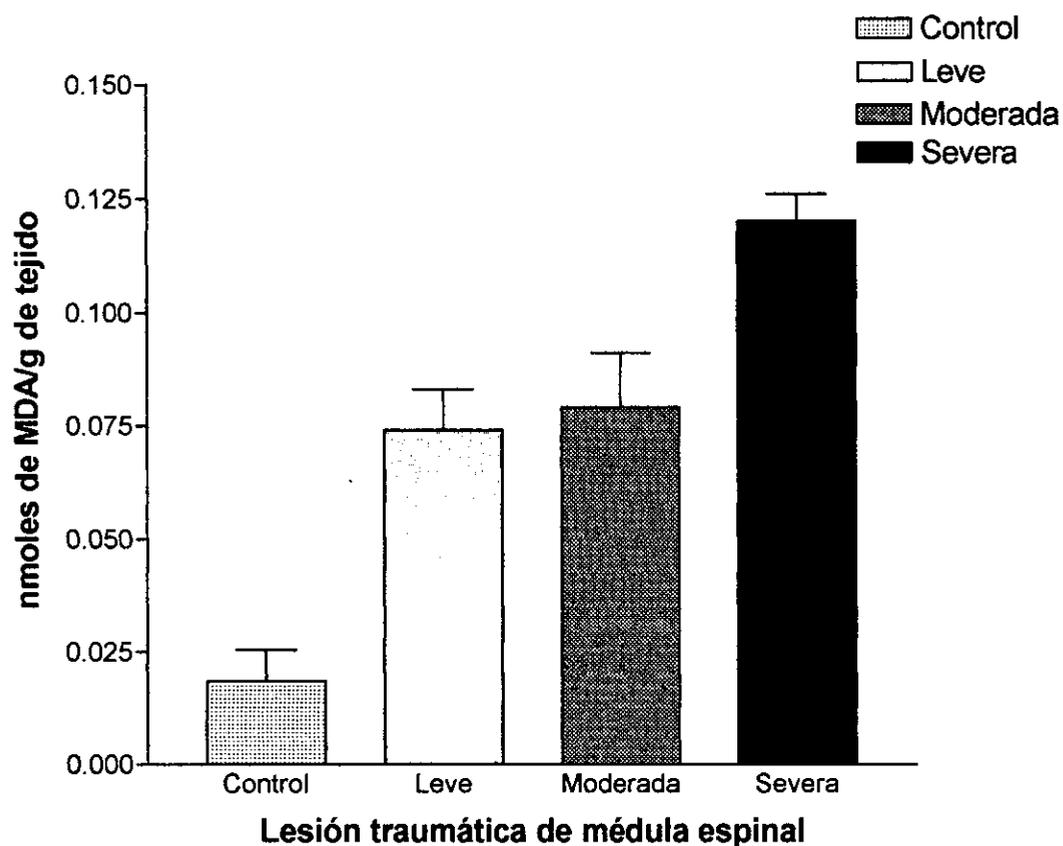


Figura 12. Grupo control. En la gráfica de barras se muestran las concentraciones de malondialdehído en el grupo control y los grupos con lesión leve, moderada y severa sin administración de metilprednisolona. Cada punto representa la media \pm desviación estándar de 8 determinaciones.

DISCUSION.

Los resultados obtenidos indican que en LTME de intensidad leve y moderada la administración de MP a razón de 30 mg/Kg de peso corporal en lugar de proteger del daño a la médula espinal, intensifica el proceso de LP. Contrariamente, en LTME severa esta dosis demostró disminuir el proceso de LP en forma importante. Lo anterior puede explicar, cuando menos en parte, las diferencias tan marcadas que se han observado en los resultados obtenidos por distintos autores quienes al administrar la dosis recomendada de MP (30 mg/Kg de peso) obtuvieron respuestas diversas tanto en modelos experimentales como en seres humanos (Means et al., 1981; Braughler y Hall, 1982 y 1984; Hall y Braughler, 1982; Faden et al., 1984; Iizuka et al., 1986; Braughler, 1987; Young et al., 1988; Bracken et al., 1990; Holtz et al., 1990; Anderson, 1991).

En la LTME severa parece ser que la dosis de MP adecuada es de 30 mg/Kg de peso corporal y para la LTME leve es de 15 mg/Kg de peso corporal, mientras que para la LTME moderada no se pudo determinar la dosis requerida. Aparentemente la dosis adecuada es de 45 mg/kg de peso corporal, sin embargo, los resultados no fueron concluyentes. Lo anterior puede deberse a que el tamaño de la muestra no fue suficiente o a que quizá se requiera probar otras dosis.

En el presente estudio se observó que los niveles máximos de LP se encuentran 24 horas después de una LTME. Sin embargo, en otros estudios se han encontrado los valores máximos de dichos productos a tiempos que van desde los 5 minutos posteriores a la lesión (Clendenon et al., 1978; Saunders et al., 1987; Hall y Braughler, 1987), 30 minutos (Kurihara, 1985), una hora (Demediuk et al., 1985b; Saunders et al., 1987), 5 horas (Pietronigro et al, 1983) y 18 horas (Milvy et al, 1973). Estas diferencias pueden estar dadas con base en los modelos de lesión empleado (contusión, compresión, sección), en el tiempo de seguimiento, y/o en el método empleado para evaluar la LP.

Este fenómeno deberá estudiarse más a fondo ya que aún cuando el rápido decremento en los niveles de ácidos grasos poliinsaturados sugiere que estos son objeto de la LP en el periodo posisquemico temprano (Yoshidata et al, 1985), se ha reportado que la medición de sustancias reactivas al TBA en un modelo de isquemia cerebral global en ratas Wistar no muestra cambios en sus concentraciones ni siquiera en periodos de isquemia superiores a 30 minutos o durante la recirculación por mas de 72 horas (McIlitosh,1994). De manera similar se ha observado que los niveles de glutatión reducido disminuyen en la misma magnitud tanto en la isquemia cerebral incompleta como en la completa, mientras que los niveles de glutatión oxidado permanecen sin cambio en ambas circunstancias (Rehncrona et al, 1980).

Otro punto a tomar en consideración es que cuando se revisaron metodológicamente los trabajos previos, se encontró la existencia de variaciones importantes en las concentraciones de los reactivos empleados para detectar los niveles de MDA, no se mencionaban detalles importantes como el pH, se agregaban o eliminaban pasos en la técnica base de la detección de MDA utilizando TBA. Lo anterior es relevante ya que la reacción colorimétrica del TBA con los productos de la LP (MDA) en los tejidos animales depende del pH de la reacción y aparentemente el óptimo es 3.5. De tal forma, por ejemplo, que la reacción del TBA con otras sustancias como los hidroperóxidos de ácido linoleico también forman el mismo pigmento que con el MDA, pero esta reacción ocurre a pH de 4.0. Por lo que este factor puede ser la variable más importante en esta reacción y por ello debe controlarse estrictamente (Onkawa et al., 1979). Así mismo, se ha reportado que algunas sustancias interfieren con la estimación del nivel de LP utilizando la reacción del TBA, pero si no se usa el TCA no se observa esta interferencia (Onkawa et al, 1979).

CONCLUSIONES.

1. En la LTME de intensidad leve y moderada la MP administrada a razón de 30 mg/Kg de peso corporal incrementa el proceso de LP.
2. En LTME de intensidad severa la MP administrada a razón de 30 mg/Kg de peso corporal disminuye el proceso de LP.
3. Aparentemente la dosis de MP requerida para disminuir el proceso de LP en LTME leve es de 15 mg/Kg de peso corporal y en la de LTME moderada podría ser de 45 mg/Kg. Sin embargo, se deberán probar otras dosis de MP en LTME y/o aumentar el número de determinaciones.
4. Aparentemente existe una correlación entre la severidad de la lesión y la cantidad de MP requerida para disminuir el proceso de LP.

BIBLIOGRAFIA.

Allen, A.R. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. *J Am Med Assn* 1911; 57:878-880.

Anderson, D.K., Means E.D., Waters T.R. y Spears D.J. Spinal cord energy metabolism following compression trauma to the feline spinal cord. *J Neurosurg.* 1980;53:375-380.

Anderson, D.K., Means E.D., Waters T.R. y Green E.S. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg* 1982;56:106-113.

Anderson, D.K. y Means, E.D. Iron induced lipid peroxidation in spinal cord: protection with mannitol and methylprednisolone. *J Free Rad Biol Med* 1985; 1:59-64.

Anderson, D.K., Saunders, R.D., Demediuk, P., Dugan, L.L., Braugher, J.M., Hall E.D., Means, E.D. y Horrocks, L.A. Lipid hydrolysis and peroxidation in injured spinal cord: Partial protection with methylprednisolone or vitamin E and selenium. *CNS Trauma* 1985; 2:257-267.

Anderson D.K., Reir P.J., Wirth E.D., Theele D.P., Mareci T. y Brown S.A. Delayed grafting of fetal CNS tissue into chronic compression lessions of the adult cat spinal cord. *Res Neurol Neurosci* 1991;2:309-325.

Bancroft J. Enzyme histochemistry. In: Bancroft J. y Stevens (eds): *Theory and practice of hitological techniques*. 3rd ed. Churchill Livingstone, London UK 1990 pp 379-399.

Barut S., Canbolat A., Bilge T., Aydin Y., Cokneeseli B. y Kaya U. Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. Time-level relationship. *Neurosurg Rev* 1993;16:53-59.

Blight, A.R. Macrophages and inflammatory damage in spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1991; 9 (Suppl.1): S83-S92.

Bracken, M.B., Shepard, M.J., Collins, W.F., Holford, T.R., Young, W., Baskin, D.S., et al. A randomized controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *New Engl. J. Med.* 1990; 322:1405-1411.

Bracken, M.B., Shepard, M.J., Collins, W.F., Holford, T.R., Baskin, D.S., Eisenberg, H.M., Flamm, E., Summers, LL., Maroon, J., Marshall, LF., Perot, PL., Sonntag, VKH., Wagner FC., Wilberger, JE. y Winn, HR. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow-up data. *J. Neurosurg.* 1992; 76:26-31.

Bracken, M.B., Shepard, M.J., Holford, T.R., Leo-Summers L., Aldrich E.F., Fazi M., Fehlings M., Herr D.L., Hitchon P.W., Marshall L.F., Nockles R.P., Pascale, V. y Perot P.L. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylated for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Study. *JAMA* 1997;277(20)1597-1604.

Braugher, J.M. y Hall, E.D. Correlation of methylprednisolone levels in cat spinal cord with its effects on $(Na^{+} + K^{+})$ -ATPase, lipid peroxidation, and alphamotor neuron function. *J. Neurosurg.* 1982; 56:838-844.

Braugher, J.M. y Hall, E.D. Lactate and Pyruvate metabolism in injured cat spinal cord before and after a single large intravenous dose of methylprednisolone. *J. Neurosurg.* 1983a; 59:256-261.

Braugher, J.M. y Hall, E.D. Uptake and elimination of methylprednisolone from contused cat spinal cord following intravenous injection of the sodium succinate ester. *J Neurosurg* 1983b;58:538-542.

Braugher, J.M. y Hall, E.D. Effects of multi-dose methylprednisolone sodium succinate administration on injured cat spinal cord neurofilament degradation and energy metabolism. *J. Neurosurg.* 1984; 61:290-295.

Braugher, J.M. Lipid peroxidation-induced inhibition of gamma-aminobutyric acid uptake in rat brain synaptosomes: protection by glucocorticoids. *J Neurochem* 1985;44:1282-1288.

Braugher, J.M., Hall E.D., Means, E.D., Waters, T.R. y Anderson, D.K. Evaluation of an intensive methylprednisolone sodium succinate dosing regimen in experimental spinal cord injury. *J. Neurosurg.* 1987; 67:102-105.

Burney R.E., Mario R.F., Maynard F. y Karunas R. Incidence, characteristics and outcome of spinal cord injury at trauma centers in North America. *Arch Surg* 1993;128:596-599.

Clendenon N.R., Allen H., Gordon W.A. y Bringham W.G. Inhibition of Na⁺K⁻ activated ATPase activity following experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg.* 1978;49:563-568.

Coggi G., Dell'Orto P. y Viale G. Avidin-Biotin methods. In: Polak, J. and S. Van Norden (eds.): *Inmunocytochemistry*. 2nd. ed. John Wright and Sons Ltd. England 1986 pp 54-70.

Constantini, S. y Young, W. The effects of methylprednisolone and the ganglioside GM1 on acute spinal cord injury in rats. *J. Neurosurg.* 1994; 80:97-111.

Das G.D. Perspectives in anatomy and pathology of paraplegia in experimental animals. *Brain res Bull* 1989;22:7-32.

Demediuk, P., Saunders, R.D., Anderson, D.K., Means, E.D. y Horrocks, L.A. Membrane lipid changes in laminectomized and traumatized cat spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985a; 82:7071-7075.

Demediuk, P., Saunders, R.D., Clendenon, R.D., Means, E.D., Anderson D.K. y Horrocks, L.A. Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Prog. Brain Res.* 1985b; 63:211-226.

Demediuk, P. y Faden, A.I. Traumatic spinal cord injury in rats causes increases in thromboxane but not peptidoleukotrienes. *J. Neurosci. Res.* 1988; 20:115-121.

Demopoulos, H.B., Flamm, E.S. y Pietronigro, D.D. The free radical pathology and the microcirculation in the motor central nervous system disorders. *Acta Physiol Scand (suppl III)* 1980;492:91-119.

Demopoulos, H.B., Flamm, E.S., Seligman, M.L., Pietronigro, D.D., Tomasula, J. y Decrescito, V. Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: Effects of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol* 1982; 60:1415-1424.

DeVivo M.J., Kartus P.L., Stover S.L. y Fine R.R. Benefits of early admission to an organised spinal cord injury care system. *Paraplegia* 1990;510:355-359.

Ditunno, J.F. y Formal, C.S. Chronic spinal cord injury. *New Engl J Med* 1994;330:550-556.

Dixon, G.S., Danesh, J.N, y Caradoc, T.H. Epidemiology of spinal cord injury in new Zeland. *Neuroepidemiology.* 1993; 12:88-95.

Eisenberg M.G. y Tierney D.O. Changing demographic profile of the spinal cord injury population: implications for health care support systems. *Paraplegia* 1985;23:335-343.

Esterbauer, H. y Cheeseman, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol.* 1990; 186:407-421.

Faden, A.I. Pharmacological treatment of central nervous system trauma. *Pharmacol. Toxicol.* 1996; 78:12-17.

Faden A.I., Jacobs t.P. y Patrick D.H. Megadose corticosteriod therapy following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1984;60:712-717.

Fehlings M.G. Current medical management of acute spinal injury. *Neurol Emerg Worldwide Studies* 1994; 5(2)1-4.

Green B.A., Kahn T. y Klose K.J. A comparative study of steroid therapy in acute experimental spinal cord injury. *Surg Neurol* 1980;13:91-97.

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

Hall, E.D. y Braughler, J.M. Acute effects of intravenous glucocorticoid pretreatment on the *in vitro* peroxidation of cat spinal cord tissue. *Exp. Neurol.* 1981; 73:321-324.

Hall, E.D. y Braughler, J.M. Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and (Na⁺ + K⁺)-ATPase activity: Dose-response analysis during 1st hour after contusion injuury in the cat. *J. Neurosurg.* 1982; 57:247-253.

Hall, E.D., Wolf, D.L. y Bruaglher, J.M. Effects of a single large dose of methylprednisolone sodium succinate on experimental posttraumatic spinal cord ischemia. Dose-response and time-action analysis. *J. Neurosurg.* 1984; 61:124-130.

Hall E.D. Beneficial effects of acute intravenous ibuprofen on neurologic recovery of head-injured mice: comparison of cyclooxygenase inhibition with inhibition of thromboxane A₂ synthetase or 5-lipoxygenase. *Cent Nerv Syst Trauma* 1985;2:75-83.

Hall, E.D. y Wolf, D.L. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanism of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg.* 1986; 64:951-961.

Hall, E.D. The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone. *J. Neurosurg* 1992;76:13-22.

Hall, E.D. y Braughler, J.M. Free radicals in CNS injury, in: *Molecular and cellular Approaches to the Treatment of Neurological Disease.* S.G. Waxman (ed.). Raven Press, New York, 1993, pp.81-105.

Hall, E.D., Yonkers, P.A., Taylor, B.M. y Sun, F.F. Lack of effect of postinjury treatment with methylprednisolone or tirilazad mesylate on the increased in eicosanoid levels in the acutely injured cat spinal cord. *J. Neurotrauma.* 1995; 12:245-255.

Haynes, R.C. y Murad, F. Adrenocorticotrophic hormone, adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of synthesis and actions of adrenocortical hormones, in: *The pharmacological Basis of Therapeutics.* A.G. Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies, and P. Taylor (eds.). Pergamon Press, New York, 8th de., 1990 pp1431-1462.

Hirata F., Schiffman E., Venkatasubramanian K., Solomon D. y Axelrod J. A phospholipase A₂ inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77:2533-2536.

Holtz A., Nyström B. y Gredin B. Effect of methylprednisolone on motor function and spinal cord blood flow after spinal cord compression in rats. *Acta Neurol Scand* 1990;82:68-73.

Hsu, C.Y., Halushka, P.V., Hogan, E.L., Banik, N.L., Lee, W.A., y Perot, P.L. Alterations of thromboxane and prostacyclin levels in experimental spinal cord injury. *Neurology*. 1985; 35:1003-1009.

Hsu, C.Y. y Dimetrijevic, M.R. Methylprednisolone in spinal cord injury: the possible mechanism of action. *J. Neurotrauma*. 1990; 7:115-119.

Ibarra L.G., Donati S.R, y Contreras R.V. Lesiones traumáticas de la médula espinal. *Estudio epidemiológico cirugía y medicina de urgencia* 1990: 15 (63): 51-55.

Izuka H., Iwasaki Y. y Yamamoto T. Morphometric assessment of drug effects in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1986;65:92-98.

Jonsson, H.T. y Danieli, H.B. Altered levels of PGF in cat spinal cord tissue following traumatic injury. *Prostaglandins*. 1976; 11:51-59.

Kurihara M. Role of monoamines in experimental spinal cord injury in rats: relationship between Na⁺ K⁺ ATPase and lipid peroxidation. *J Neurosurg*. 1985. 62: 743-749.

Ley General de Salud de la República Mexicana. Título Séptimo: De la investigación que incluye la utilización de animales de experimentación. Editorial Porrúa, sexta Edición., México D.F. 1990; pp430-431.

McIntosh, T.K. Neurochemical sequelae of traumatic brain injury: therapeutic implications. *Cereb. Brain Metab. Rev*. 1994; 6:109-162.

Means E.D. y Anderson D.K. Neuronophagia by leucocytes in experimental spinal cord injury. *J. Neuropathol Exp Neurol* 1983;42:707-719.

Means E.D., Anderson D.K., Waters T.R. y Kalaf, L. Effect of methylprednisolone in compression trauma of the feline spinal cord. *J Neurosurg* 1981;55:200-208.

Milvy P, Kakari S, Campbell JB, Demopoulos HB. Paramagnetic species and radical products in cat spinal cord. *Ann N Y Acad Sci* 1973;222:1102-1111.

Moffett J. R., Namboodiri M.A., Cangro C.B. y Neale J.H.. Immunohistochemical localization of N-acetylaspartate in rat brain. *Neuroreport* 1991;2:131-134.

Ohkawa H, Nobuko O y Kunio Y. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979. 95: 351-358.

Pietronigro DD, Hovsepian M, Demopoulos HB, y Flamm ES. Loss of ascorbic acid from injured feline spinal cord. *J Neurochem*. 1983. 41: 1072-1076.

Regan, R.F. y Choi, D.W. Excitotoxicity and central nervous system trauma. In: *The neurobiology of Central Nervous System Trauma*. Eds: S.K. Slazman and A. Y. Faden. Oxford University Press, New York. 1994, pp. 173-181.

Rehncrona S, Folvergrová J, Smith DS, y Siesjo BK. Influence of complete and pronounced incomplete cerebral ischemia and subsequent recirculation on cortical concentrations of oxidized and reduced glutathione in the rat. *J Neurochem*. 1980. 34: 477-486.

Rish B.L., Dilustro J.F. Salazar A.M., Schwab K.A, y Brown H.R. Spinal cord injury: a 25 years morbidity and mortality study. *Mil-Med* 1997;162(2):141-148.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Rosenberg-Schaffer, L.J. y Lucas, J.H. An *in vitro* study of the effects of methylprednisolone on lesioned and uninjured mammalian spinal neurons. *Brain Res.* 1993; 605:327-331.

Saunders, R.D., Dugan, L.D., Demediuk, P., Means, E.D., Horrocks, L.A. y Anderson, D.K. Effects of methylprednisolone and the combination of alphatocopherol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. *J. Neurochem.* 1987; 49:24-31.

Siesjö, B.K. Historical overview:calcium, ischemia and death of brain cells. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 1988; 522:638-661.

Sterio D. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microscopy* 1984;134:127-136.

Stokes B.T., Fox P. y Hollinden G. Extracellular calcium activity in the injured spinal cord. *Exp Neurol* 1983;80:561-572.

Tarlov I.M., Klinger H. y Viales S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *Arch neurol Psych* 1953;70:813-819.

Tator, C.H. y Fehlings, M.G. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanism. *J. Neurosurg.* 1991; 75:15-26.

Tator, CB. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathology* 1995; 5. 407-413.

Wrathall J.R. Behavioral methods for evaluating rats with contusive spinal cord injury: The combined behavioral score. In: Brown M. Goldberger M. (Eds). Conference proceedings: Criteria for assessing recovery of function: Behavioral methods. American Paralysis Association, Springfield NJ 1989; pp26-33.

Whiteneck, G.G., Charlifue, S.W., Frankel, H.L., Fraser, M.H., Gardner, B.P., Kerhart, K.A., Krishnan, K.R., Meter, R.R., Nuseibeh, I., Short, D.J. y Silver, J.R. Mortality, morbidity, and psychosocial outcomes of persons spinal cord injured more than 20 years ago. *Paraplegia. J. Neurosurg.* 1992; 30:617-630.

Yagi K. Assay for blood plasma or serum. *Methods in enzymology.* 1984;105:328-331.

Young, W. y Flamm, E.S. Effects of high dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials, and extracellular calcium in experimental spinal injury. *J.Neurosurg.* 1982; 57:667-673.

Young, W. The role of calcium in spinal cord injury. *Cent. Nerv. Syst. Trauma.* 1985; 2:109-114.

Young, W., Decrescito, V., Flamm, E.S., Blight, A.R. y Graner, J.A. Pharmacological therapy of acute spinal cord injury. Studies with high dose methylprednisolone and naloxone. *Clin. Neurosurg.* 1988; 34:675-697.

Yue T.L. y Feuerstein G. Platelet activating factor: a putative neuromodulator and mediator in the pathophysiology and brain injury. *Crit Rev Neurobiol* 1994;8:11-24.