



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION MOTORA Y DE LA SOBREVIVENCIA DE NEURONAS
EN EL NUCLEO ROJO DE RATAS CON LESION DE MEDULA
ESPINAL TRATADAS CON PEPTIDOS NEURALES
MODIFICADOS Y UN ANTIOXIDANTE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

TATIANA ORTEGA AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE JUAN ANTONIO IBARRA ARIAS



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

2005

0350265





UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo repositorial.

NOMBRE: Tatiana Ortega
FECHA: 22/ Noviembre 2015
FIRMA: [Firma]

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: Evaluación motora y de la
sobrevivencia de neuronas en el núcleo rojo de ratas con lesión de médula
espinal tratadas con péptidos neurales modificados y un antioxidante.

realizado por Ortega Aguilar Tatiana

con número de cuenta 8129782-7 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dr. José Juan Antonio Ibarra Arias

Propietario

M. en C. María Teresa Romero Romero

Propietario

M. en C. Sara Teresa Méndez Cruz

Suplente

Biól. Beatriz Rodarte Murguía

Suplente

Biól. Beatriz Zúñiga Ruiz

Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez



**Recibid mi enseñanza, y no plata;
Y ciencia antes que el oro escogido.
Porque mejor es la sabiduría que las
Piedras preciosas;
Y todo cuanto se pueda desear no es
De compararse con ella.**

Proverbios 8, versículo 10, 11.

DEDICATORIAS

En agradecimiento a mis padres, Javier Ortega Vázquez y María Elia Aguilar de Ortega, Quienes gracias a su infinito apoyo, paciencia y amor pude realizar este trabajo.

A mis hermanos; Beulah, Samuel, Javier, Itzel, Elisama y mi prima Norma gracias infinitas por su apoyo, estímulo y entusiasmo con el que me motivaron para terminar esta tesis.

A toda la familia Ortega.

A la memoria de mis Abuelos: Ángel Ortega Vázquez, Ángel Aguilar Maldonado, Marina Vázquez Narváez, Juanita Martínez de León y Antonio Roque Sánchez.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Juan Antonio Ibarra Arias por la dirección, asesoría y permitirme realizar esta tesis gracias.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social.

Al Centro de Investigación Proyecto Camina, laboratorio Immunoneurología que me brindo, su apoyo y disposición para concluir este trabajo.

Al Director Rodolfo Barranco Isquierdo, jefe de la escuela donde trabajo y quién me dio todo su apoyo en los momentos que lo necesite gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser la institución que me brindo el conocimiento, educación y formación académica que ha sido una guía en el camino de la vida.

A mis amigos Miguel Ángel, Nora, Gloria, Bertha, Rosita, Isabel por compartir su amistad conmigo y por el apoyo que me brindaron en momentos difíciles para concluir esta tesis.

A mi hermano Samuel Ortega por darme el apoyo con la redacción de la tesis, la fuerza, el impulso y el tesón para terminar esta tesis.

Armando Lerma porque de alguna manera me apoyo con el material necesario para que pudiera escribir esta tesis.

A todas las personas que de alguna forma contribuyeron a la realización de este trabajo gracias.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO 1. Sistema Nervioso.....	6
1.1 Composición del Sistema Nervioso.....	6
1.2 Sistema Nervioso Central	7
1.3 Sistema Nervioso Periférico	8
1.4 Columna Vertebral	11
1.5 Médula Espinal	12
Meninges: duramadre; aracnoides y piamadre	
1.6 Estructura Interna de la Médula Espinal	15
Astas posteriores y anteriores, sustancia gris, sustancia blanca, tractos	
1.7 Componentes del Encéfalo	20
Diencefalo, mesencéfalo y cerebelo	
1.8 Núcleo Rojo	22
..... Núcleos cerebelosos; vías eferentes	
1.9 Neurona.....	24
..... Sensitivas; motoras; interneurona; monopolares; bipolares y multipolares	
1.10 Neuroglia	25
1.11 Mielina.....	26
1.12 Sinapsis.....	27
CAPÍTULO 2. Lesión Traumática de la Médula Espinal	28
2.1 Características LTME.....	28
..... Lesión primaria; secundaria	
2.2 Daño irreversible de la ME	29
Pérdida de regulación iónica; incremento de Ca_2^+ , liberación de glutamato y aspartato; estrés oxidativo; proceso isquémico; óxido nítrico; respuesta inflamatoria; óxidos grasos polisaturados y lipoperoxidación	
CAPÍTULO 3. Neuroprotección de la Médula Espinal.....	35
3.1 Antecedentes	35
Inhibidores de la liberación de glutamato; transplantes; antagonistas de Ca_2^+ Voltaje Dependientes; metilprednisolona; antagonistas de los receptores de NMDA; donadores de óxido nítrico; citicolina como restaurador y antioxidantes.	
3.2 Sistema Inmune.....	39
Respuesta inmune específica; respuesta inmune inespecífica; especificidad; memoria y especialización.	
3.3 Órganos del Sistema Inmune	41
Primarios; secundarios; linfocitos; linfopoyesis y células madre, médula osea, timo, bazo, ganglios linfáticos	

3.4 Células del Sistema Inmune	44
Células T, células B, fagocitos	
3.5 Complejo Mayor de Histocompatibilidad	48
3.6 Autoinmunidad	49
3.7 Autoinmunidad Protectora	51
3.8 A-91	52
3.9 Glutathion	53
CAPÍTULO 4. Objetivos, Metodología y Diseño Experimental	56
4.1 Objetivo General	56
4.2 Objetivos Particulares	56
4.3 Hipótesis	56
4.4 Material y Métodos	57
4.5 Diseño Experimental	57
4.6 Técnicas	58
Lesión incompleta de la Médula Espinal; inmunización activa; preparación del antioxidante; marcaje retrogrado de la neuronas del núcleo rojo.	
4.7 Métodos de Evaluación	60
Evaluación clínica; evaluación morfológica; recuperación motora; células neuronales sobrevivientes en el núcleo rojo; método estadístico y consideraciones éticas.	
CAPÍTULO 5. Resultados, discusión y conclusiones.....	62
5.1 Evaluación clínica	62
5.2 Evaluación morfológica	64
5.3 Discusión	65
5.4 Conclusiones	68
Bibliografía	69

Resumen

En la actualidad las lesiones y enfermedades relacionadas con el Sistema Nervioso Central representa un grave problema de salud que no sólo afecta a la población, sino que, su paliación resulta sumamente costosa. La Lesión Traumática de la Médula Espinal (LTME), produce daños normalmente irreversibles, como la pérdida total de la motricidad de extremidades y daño subsecuente a ciertos órganos vitales. Esto se debe a que las células neurales carecen de capacidad regenerativa. Por lo tanto era necesario realizar investigación con el objeto de encontrar mecanismos para reducir el daño en la Médula Espinal después de una lesión promoviendo neuroprotección. En el presente trabajo se comparó el efecto neuroprotector ofrecido por el péptido neural modificado A-91 en combinación con un antioxidante el glutatión monoetil ester, contra el ofrecido por cada uno de manera independiente; se contabilizó el número de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo y se evaluó la recuperación motora de cada sujeto de esta investigación. Los resultados indican que en locomoción los sujetos tratados con la combinación presentaron una recuperación significativamente mayor; en la evaluación de capacidad de levantar el tren posterior, la combinación y el grupo de tratado con A-91 fue superior a los demás grupos. En cuanto al análisis del porcentaje de animales capaces de dar pasos después del tratamiento se observa que la combinación es significativamente superior a los demás grupos. En el conteo de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo, los animales del grupo de combinación presentaron una sobrevida superior. Por lo anterior se concluye que el uso de la combinación del glutatión monoetil ester con la estimulación de la autoinmunidad protectora fue la estrategia más efectiva sobre la recuperación motora y la sobrevida de neuronas en el núcleo rojo en ratas con lesión traumática de la médula espinal.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas de salud más serios y que requiere de toda la atención, es el problema de lesión en la Médula Espinal (ME), ya sea por contusión (traumatismo por accidente de tráfico, laboral, deportivo, fortuito, etc.) o por enfermedad (tumoral, infecciosa, vascular o de origen congénito -espinas bífida-). Este tipo de lesiones en la mayoría de los casos afectan al sistema motor del individuo, privándolo de parte de su movilidad en caso de una lesión leve, o bien inmovilizándolo completamente si la lesión es severa.

El problema es grave; por ejemplo, en Estados Unidos alrededor de 11 mil personas por año sufren una lesión en la médula espinal; entre 183 mil y 230 mil personas viven con una lesión de este tipo; más de la mitad de estas lesiones se producen en jóvenes de entre 16 y 30 años de edad; la mayoría de las víctimas (81.6 por ciento) son de sexo masculino.¹ En México se ha informado que la incidencia anual de traumatismos medulares en el Distrito Federal es de aproximadamente 18.1 casos por millón de habitantes.²

Cada año en México una gran cantidad de personas sufren de lesiones de la médula espinal, lo cual significa que diariamente alguien en nuestra comunidad ve radicalmente afectada su vida. Además de una parálisis permanente hay una serie de factores sociales, emocionales, laborales y económicos que hacen de estos problemas una verdadera tragedia.³

El tipo de lesión ocasionado puede ser por contusión o por sección medular completa o incompleta: la completa suele producir choque espinal agudo, con pérdida de todas las funciones sensorio-motoras, incluyendo flacidez y pérdida de los reflejos a nivel de la lesión y por debajo de la misma. Las lesiones menos graves se caracterizan por debilidad de las extremidades con deterioro o pérdida de sensaciones al dolor y temperatura.⁴

¹ Art. *Los Trastornos Neurológicos: Las Lesiones Agudas de la Médula Espinal*. Ubicación: <http://www.mmhs.com/clinical/peds/spanish/neuro/ascinj.htm>

² Art. Díaz Ruiz, Araceli. et al. *Neuroprotección después de una lesión médula*. p. 438. Rev Med IMSS 2002; 40 (5).

³ Art. *Programa Mexicano de Prevención de Lesiones Craneomedulares*. Ubicación: www.neurocirugiamexicana.org/piensa_primer.html

⁴ Art. Bracken MB. Et al. *Indices of acute traumatic hospitalized spinal cord injury in the United States* / Art Young JS. et al. *Statistical information pertaining to some of the most commonly asked question*

La lesión traumática de medula espinal (LTME) ocasiona alteraciones estructurales y funcionales, mismas que son el resultado de una serie de variaciones a nivel neural que pueden ser desde el bloqueo transitorio de la conducción eléctrica, hasta la falta total de la misma, dependiendo del grado de lesión. El tratamiento resulta muy costoso pues consta de varios estudios que implican la utilización de instrumentos de alta tecnología. Actualmente, la incidencia de muerte sigue siendo considerablemente elevada, aún en los centros de atención especializados en este tipo de lesión.⁵

La LTME se divide principalmente en dos: lesión primaria y lesión secundaria. La primaria es el resultado directo del trauma inicial y varía en relación a la intensidad del mismo, puede producirse desde una ligera alteración intersticial de las membranas celulares y de la conducción axonal, hasta la ruptura de una proporción variable de axones y vasos sanguíneos con grave repercusión funcional. La secundaria es la secuencia de eventos autodestructivos que siguen al trauma: desregulación iónica, peroxidación de lípidos, isquemia, liberación de neurotransmisores y otros que en conjunto terminan con la necrosis máxima del tejido dañado.⁶ Al existir shock medular hay alteración en la función autonómica, que produce vejiga neurogénica, parálisis del intestino, y daño en el sistema cardio respiratorio.

El sistema nervioso es el conjunto de estructuras funcionalmente especializadas mediante las cuales el organismo responde adecuadamente a los estímulos que recibe, tanto del medio externo como interno.⁷ El Sistema Nervioso Central está formado por la médula espinal (ME) y el encéfalo; es el sistema de percepción y control de nuestro organismo; cuya función es recoger información de todo el cuerpo a partir de innumerables terminaciones nerviosas sensitivas.

about spinal cord injury./ Young, J. S; Northrup, N. E. *Statistical information pertaining to some of the most commonly asked question about spinal cord injury.*

⁵ Art. Goodkin R., et al. *Sequential pathologic changes in spinal cord injury.*/ Art. Bedbrook GM. *The Development and care of spinal cord paralysis.*

⁶ Art. Balentine, J.D. *Spinal cord trauma: In search of the meaning of granular axoplasm and vesicular myelin.*

⁷ López ,Luis. *Anatomía Funcional del Sistema Nervioso.*

La información se transmite a través de diversos nervios hacia la ME y el encéfalo, que reaccionan ante la información y envían señales hacia los músculos u órganos internos del cuerpo para provocar una respuesta motora.

El organismo cuenta con el sistema inmune (SI) que es un conjunto de mecanismos de defensa específicos que protegen al organismo de agentes patógenos externos. Las células que forman el sistema inmune se organizan en tejidos y órganos (sistema linfático) y su objetivo es promover la respuesta inmunológica.⁸

Durante la ontogenia las células inmunes desarrollan en forma aleatoria la capacidad para responder contra los agentes extraños (antígenos). Ahora bien, la autoinmunidad supone la agresión del sistema inmune de un individuo contra estructuras propias (auto-antígenos), provocando un daño en el órgano o estructura al que se dirigen los mecanismos defensivos del organismo.

La autoinmunidad es la causa del desarrollo de diversas enfermedades con importancia clínica. Dentro de estos fenómenos son especialmente relevantes por su incidencia la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis múltiple, la miastenia gravis, la diabetes juvenil tipo 1, la tiroiditis y la cirrosis biliar primaria.⁹

Después de una lesión en el SNC las células T migran hacia el sitio dañado y ahí se acumulan en cantidades que son incluso mayores a las observadas en el SNC no lesionado.¹⁰ Existe 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 o por la producción de quimiocinas las cuales puedan atraer a otros elementos del

⁸Art. Referencia Internet. <http://www.med.uva.es/~pingo/Inmunologia/Apuntes/tema2.htm>

⁹Art. Referencia Internet. <http://www.diariomedico.com/hematologia/n140601tris.html>

¹⁰ Arts. Schwartz, M., et al. *Innate and adaptive immune responses can be beneficial for CNS repair.* / Hauben, E. et al. *Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion.* / Yoles, E. et al. *Protective autoimmunity is physiological response to CNS trauma.* / Kipnis, J. et al. *Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response.*

sistema inmune como neutrófilos y macrófagos, que se sabe pueden participar en la regeneración axonal.

A la estrategia que busca disminuir la degeneración del tejido neural en una lesión del SNC se le llama neuroprotección; el objetivo es reducir el medio ambiente nocivo mediante la neutralización de mediadores tóxicos o por el aumento en la resistencia del tejido a la toxicidad. Existen diversas estrategias de neuroprotección que se describen en el desarrollo del presente trabajo, pero la que se utilizó en éste experimento fue la de una inmunización activa con la combinación de un antioxidante y un péptido neural modificado.

La estrategia propone estimular el propio sistema inmunológico para promover protección del tejido neural.¹¹ En esta línea, varios estudios han demostrado que la estimulación del SI mediante inmunización activa o pasiva con auto-antígenos neurales como la proteína básica de la mielina MBP (del inglés myelin basic protein), reduce el daño neuronal después de una lesión incompleta de la médula espinal.

La inmunización activa con péptidos no encefalitogénicos promueve una mejor recuperación motora después de una LTME. Sin embargo con esta estrategia, algunos de los fenómenos destructivos como la lipoperoxidación no están siendo inhibidos desde la fase aguda de la lesión. Por otra parte, el antioxidante Glutación Monoetil Ester (GSH-MEE, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser un excelente antioxidante en modelos experimentales con LTME. La combinación de la vacuna protectora (inmunógeno) con la administración inmediata del antioxidante podría ofrecer una mejor recuperación neurológica que la observada en individuos tratados sólo con la inmunización protectora.

¹¹ Moalem, G. et. al. *Autoimmune T cells Protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy.*/ Hauben. op. cit.

CAPÍTULO. I Sistema Nervioso

1.1 Composición del Sistema Nervioso.

El Sistema Nervioso (SN) controla las funciones del organismo; está compuesto básicamente por células especializadas cuya función es recibir estímulos sensitivos y transmitirlo a los órganos efectores, musculares o glandulares.¹² Este sistema es complejo por el gran número de funciones de regulación que realiza; por su estructura viajan millones de pequeños datos de información procedentes de diferentes órganos sensoriales, para después codificar la respuesta adecuada que debe dar el organismo.

Se calcula que el cerebro humano contiene más de 100 billones de neuronas, cada una de éstas son capaces de influir a muchas otras células. Se requiere de un mecanismo eficiente y sofisticado para controlar la comunicación entre éste gran número de elementos. Entre las células nerviosas existen contactos celulares de un tipo especial llamado sinapsis (unión) a través de la cual un impulso nervioso es transmitido desde una célula nerviosa a otra (fig.1). Existen dos tipos de sinapsis, la eléctrica que consiste en permitir el flujo directo pasivo de corriente eléctrica de una neurona a otra y la sinapsis química que permite la comunicación célula-célula vía secreción de neurotransmisores.¹³

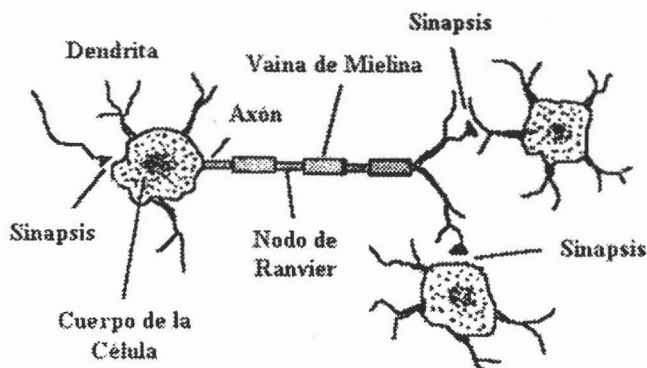


Fig. 1 Sinapsis neuronal

¹² Snell S. Richard. *Neuroanatomía Clínica*. p. 4, 5.

¹³ Purves, D. et. al. *Neuroscience* Sinaur Associates.

El Sistema Nervioso (SN) se divide en 2 partes principales: el Sistema Nervioso Central (SNC) que consiste en el encéfalo, cerebro, cerebelo, puente, bulbo y médula espinal y el Sistema Nervioso Periférico (SNP) que consiste en los nervios craneanos y espinales y sus ganglios asociados.

1.2 Sistema Nervioso Central

En el SNC, el encéfalo y la médula espinal son los centros principales donde ocurre la correlación e integración de la información nerviosa; por lo tanto, están bien resguardados; tanto el encéfalo como la médula espinal están suspendidos en líquido cefalorraquídeo, y están protegidos por los huesos del cráneo y la columna vertebral (Fig.2). Está compuesto por gran número de células nerviosas excitables y sus prolongaciones, las cuales están sostenidas por tejido especializado denominado neuroglia.

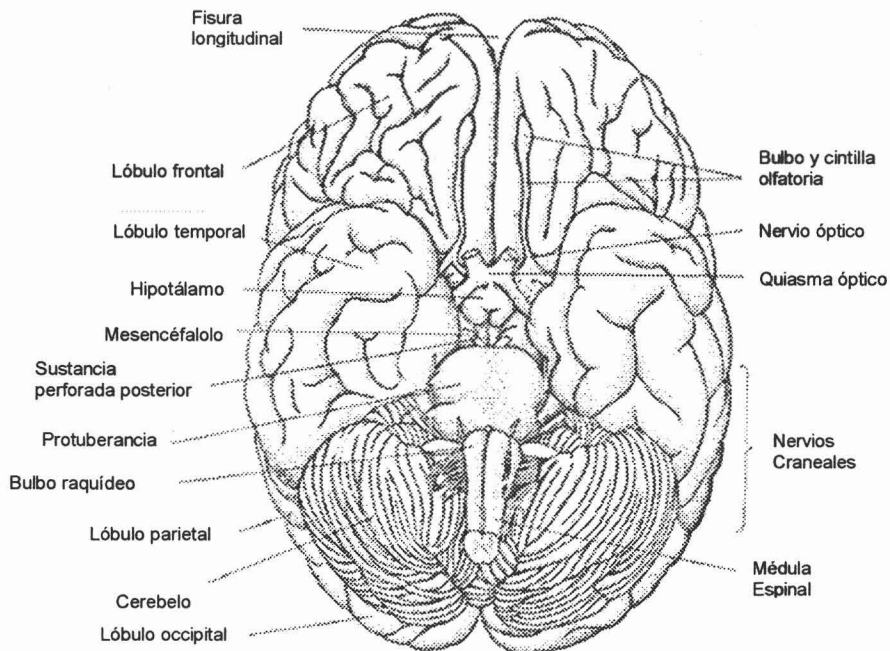


Fig. 2 Componentes del Sistema Nervioso Central

Se origina por modificación y sucesiva evolución de la parte medial (placa neural) de la hoja externa o ectodermo del embrión, durante las primeras semanas del desarrollo. Cada elemento del SNC va envuelto en membranas de naturaleza conectiva denominadas meninges, que, desde el exterior hacia el interior, son la duramadre, la aracnoides y la piamadre.

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 SNC, donde la información se recibe y se distribuye para la organización de reacciones a diferentes niveles. La conducción del impulso puede ser vía axónica (conducción que se aleja del cuerpo celular) o vía dentrita (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 neurona a neurona a través de una sinapsis la transmisión típica es química.

La capacidad de permeabilidad selectiva de los iones es función de la membrana celular. Es ésta 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 la *bomba de sodio*, es la capacidad selectiva más importante de la membrana celular nerviosa. Esto da lugar a un potencial de membrana.¹⁴

1.3 Sistema Nervioso Periférico

El SNP es una cadena formada por ganglios que se localiza fuera del encéfalo y la médula espinal. Estas fibras son de dos tipos funcionales: fibras aferentes para la transmisión de información sensitiva hacia la médula espinal y el encéfalo, y fibras eferentes para transmitir de regreso las señales motoras desde el SNC hacia la periferia.

¹⁴ Barne, Robert. Fisiología.

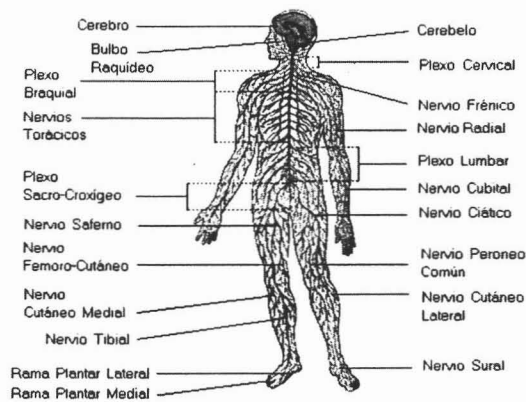


Fig.3 Órganos y nervios del Sistema Nervioso Periférico

Los nervios tienen forma de cordones cilíndricos más o menos gruesos, de diferente longitud y de un color blanco rosáceo; están formados esencialmente por prolongaciones o neuritas de las células nerviosas y tienen el fin de asegurar la unión entre los centros nerviosos y las diferentes partes del cuerpo. Las células nerviosas o neuronas representan la unidad estructural del sistema nervioso. Su característica más llamativa es la presencia de una o más expansiones protoplasmáticas (prolongaciones) de distinta longitud, que emergen del propio cuerpo celular: las dendritas y el neuroeje. Estas características están en relación con las funciones específicas de las células nerviosas: la transmisión y la recepción de los impulsos. Las dendritas, pequeñas expansiones, a veces ramificadas, reciben y transmiten el impulso hacia el cuerpo celular (soma); las neuritas (o axones) tienen la función de transmitir el impulso desde el soma a otras células nerviosas o a los órganos efectores (por ejemplo, músculos, glándulas, etc.)

Los nervios se dividen en cerebrospinales y simpáticos. Los nervios cerebrospinales pueden ser: motores somáticos, para los músculos estriados, voluntarios, y sensitivo-somáticos, que son aquellos que se encargan de la sensibilidad estereoceptica y propioceptiva. Los nervios simpáticos pueden ser: motores viscerales, que inervan los músculos lisos y las glándulas, y sensitivos viscerales, para la sensibilidad introceptiva. Los nervios, constituidos por fibras motoras y sensitivas, o por fibras somáticas y viscerales simultáneamente, se denominan nervios mixtos. Los nervios motores tienen su origen en el interior de un segmento del eje cerebroespinal, mientras que los nervios sensitivos tienen su origen fuera del mismo, en un grupo de células contenidas dentro de un ganglio nervioso.

Los nervios espinales son aquellos que tienen su origen aparente en la médula espinal y atraviesan los orificios vertebrales para distribuirse a los territorios orgánicos a los cuales están destinados. Son 31 pares y todos ellos son nervios mixtos, es decir, sensitivos y motores. De éstos, ocho pares son cervicales, doce dorsales, cinco lumbares, cinco sacros y uno coccígeo. Cada nervio espinal está formado por dos raíces, una anterior y una posterior; la anterior o motora tiene su origen real en la sustancia gris espinal (parte en el asta gris anterior y parte en el tramo anterior de la zona intermediolateral); emergen por el surco lateral anterior de la médula espinal que representa su origen aparente. La raíz posterior o sensitiva tiene su origen real en el ganglio espinal y penetra en la médula espinal a través del surco lateral posterior que constituye su origen aparente. Termina en el asta gris posterior, y en el tramo posterior de la zona intermedio-lateral y en los núcleos de Goll y de Burdach del bulbo. En su curso se encuentra el ganglio espinal, el cual, en el tramo cérvico-dorso-bulbar de la columna vertebral, está colocado en el canal de conjunción y en el tramo sacro en el canal sacro. En cada raíz, anterior y posterior, se distinguen dos porciones: la primera está contenida en el saco de la duramadre; la segunda se encuentra fuera, pero está envuelta en una vaina propia que está en dependencia con la duramadre; esta última porción se denomina nervio radicular.

1.4 Columna Vertebral

La columna vertebral proporciona soporte estructural al tronco y rodea y protege la médula espinal; también proporciona puntos de unión para los músculos de la espalda y para las costillas. Los discos vertebrales tienen la función de absorber los impactos durante actividades tales como caminar, correr y saltar. Éstos también permiten la flexión y extensión de la espina dorsal.¹⁵

La columna vertebral se compone de 33 vértebras: 7 cervicales, 12 torácicas, 5 lumbares, 5 sacras (fusionadas para formar el sacro) y 4 coccígeas. Es una estructura flexible debido a que está segmentada y se compone de vértebras, articulaciones y discos fibrocartilaginosos llamados discos intervertebrales (Fig.4). Estos representan una cuarta parte del largo total de la columna. Una vértebra típica está formada por un cuerpo redondeado anterior y un arco vertebral posterior. Estos rodean un espacio llamado agujero vertebral, a través del cual pasa la ME y sus envolturas. El arco vertebral lo crea un par de pedículos cilíndricos, que conforman los lados del arco, y un par de láminas planas que completan el arco.¹⁶

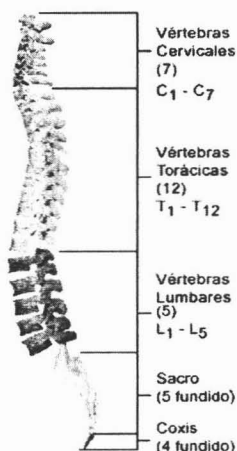


Fig. 4 Columna Vertebral

¹⁵ Referencia Internet. University of Maryland Medicine http://www.umm.edu/esp_imagepages/1116.htm

¹⁶ Snell, op cit.

1.5 Médula Espinal

La Médula Espinal (ME) es una estructura blanco grisácea que está ubicada dentro del conducto raquídeo de la columna vertebral; comienza, arriba, en el agujero occipital del cráneo, donde se continua con el bulbo raquídeo del encéfalo y termina a nivel del borde inferior de la primera vértebra lumbar (Fig.5).¹⁷

La ME cumple 2 funciones: primero, sirve como conductor para vías nerviosas hacia el cerebro y desde éste, segundo, sirve como área integradora para la coordinación de actividades nerviosas subconscientes, tales como la reacción refleja de una parte del cuerpo ante un estímulo doloroso.

La ME es aproximadamente cilíndrica. Sin embargo, en la región cervical, donde da origen el plexo branquial, y en las regiones torácicas inferior y lumbar, donde da origen al plexo lumbosacro, existen unos ensanchamientos fusiformes, denominados ensanchamientos cervical y lumbar. En su extremo inferior la ME se ahúsa hacia el cono medular, desde cuyo vértice desciende una prolongación de la piamadre, el *filum terminale*, que se inserta en la parte posterior del cóccix.

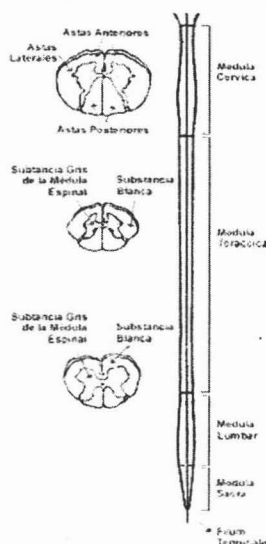


Fig. 5 Fisonomía de la Médula Espinal

¹⁷ Ibidem.

En la línea media anterior, la médula presenta una profunda hendidura longitudinal, la cisura media anterior y, sobre la superficie posterior, un surco poco profundo, el surco mediano posterior.

A lo largo de toda la ME hay 31 pares de nervios espinales unidos por las raíces anteriores o motora+s y las raíces posteriores o sensitivas. Cada raíz está unida a la medula mediante una serie de raicillas que se extienden en toda la longitud del segmento correspondiente de la médula. Cada raíz nerviosa posterior posee un ganglio de la raíz posterior, cuyas células dan origen a fibras nerviosas centrales y periféricas.¹⁸

Cubriendo todas las superficies del cerebro y la ME existe un delgado espacio lleno de líquido de varios milímetros de espesor denominado *espacio subaracnoideo*. Este espacio está limitado por las tres cubiertas del cerebro y médula, denominadas **meninges** la duramadre, la aracnoides y la piamadre.

La **duramadre** que es una fuerte capa fibrosa que rodea la totalidad del SNC; está estrechamente ligada a la superficie interna del cráneo, pero sólo laxamente al conducto vertebral, donde existe un espacio con tejido conectivo laxo denominado *epidural*.¹⁹

La **aracnoides** es una estructura delicada unida débilmente a la superficie interna de la duramadre. Y debajo de la aracnoides se encuentra un espacio con líquido que rodea el cerebro y la médula, el *espacio subaracnoideo*. Este espacio es penetrado por un gran número de pequeñas trabéculas aracnoideas que son parte del aracnoides.²⁰

La **piamadre** es una capa delgada de carácter vascular que se adosa íntimamente a la ME. Por las caras laterales de la médula, a igual distancia entre las raíces dorsales y vertebrales de los nervios espinales, unas 22 extensiones membranosas puntiformes de la piamadre van a insertarse

¹⁸ *Ibidem*.

¹⁹ Guyton, Arthur. *Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso*. p. 51 y 52

²⁰ *Ibidem*.

firmente a la cara interna de la duramadre y de la aracnoides: son los ligamentos dentados, ellos facilitan la suspensión de la ME justo en medio del saco dural.²¹

La ME está compuesta por un centro de sustancia gris rodeado por una cobertura de sustancia blanca. En un corte transversal, la sustancia gris se observa como un pilar con forma de H con cordones anteriores y posteriores o astas, unidas por una delgada comisura gris que contiene el pequeño conducto central. La sustancia blanca puede dividirse en cordones anteriores, laterales y posteriores. El cordón anterior de cada lado se ubica entre la línea media y el punto de salida de las raíces nerviosas anteriores; el cordón lateral se ubica entre la salida de las raíces anteriores y la entrada de las raíces nerviosas posteriores, y el cordón posterior se ubica entre la entrada de las raíces nerviosas posteriores y la línea media (Fig.6).

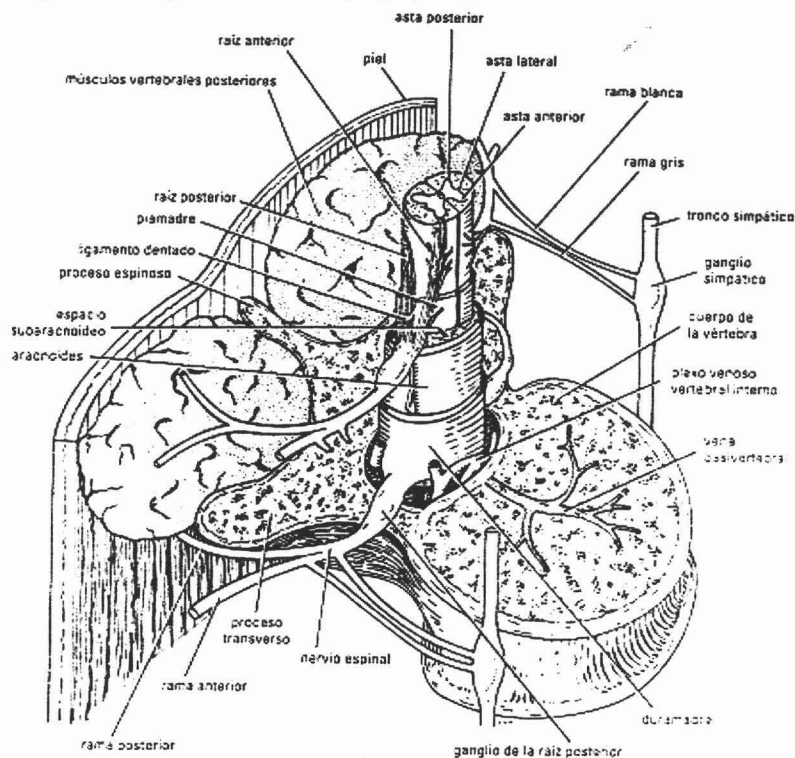


Fig. 6 Composición de la Médula Espinal

²¹ López, A. *op cit.* / Tortora, Gerard., Anagnostakos Nicolas P. *Principios de anatomía y fisiología.*

1. 6 Estructura interna de la Médula Espinal

La ME está compuesta por un centro de sustancia gris compuesta por agrupaciones de cuerpos celulares y sus prolongaciones, rodeado por una cobertura externa de sustancia blanca compuesta por haces de fibras mielinizadas que asciende o descienden en los tres pares de cordones.

En un corte transversal la sustancia gris se observa como un pilar con forma de H o “mariposa” con cordones anteriores y posteriores o astas, unidas por una delgada comisura gris que contiene el pequeño conducto central (Fig.7).²²

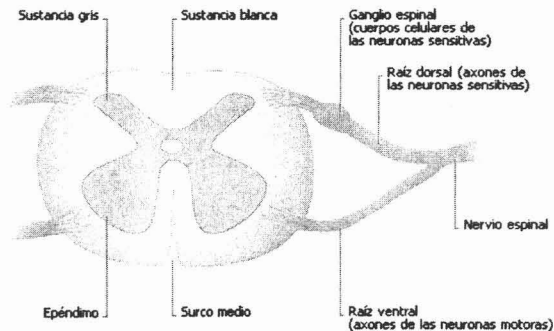


Fig. 7 Sustancia gris de la Médula Espinal

Las astas **posteriores**, funcionalmente somatosensitivas, están formadas por neuronas sensitivas que reciben los impulsos que llegan por las raíces posteriores. Las astas **anteriores**, funcionalmente somatomotoras, están constituidas por neuronas motoras cuyos axones salen por las raíces anteriores (Fig.8).²³

²² Snell. op.cit. p.8. / Carpenter, op. cit. p.71

²³ Walter, Stephen. Anatomía del sistema nervioso.

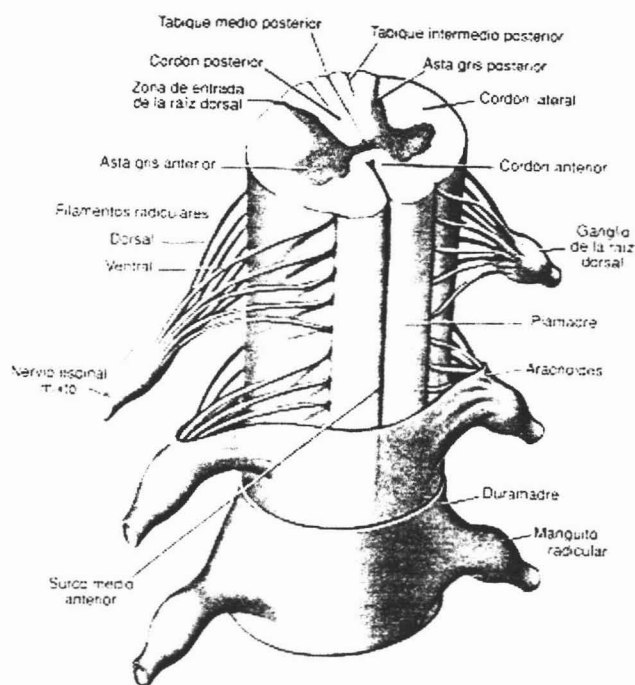


Fig. 8 Astas de la Médula Espinal

Las columnas grises anterior y posterior de cada lado se encuentran unidas por una banda transversal de sustancia gris, justo en medio de la comisura gris se encuentra un pequeño conducto lleno de LCR que recorre completamente a la médula espinal: el canal central (también llamado canal del epéndimo). Superiormente, se continúa con el canal central de la mitad caudal del bulbo raquídeo para luego abrirse paso a la cavidad del IV ventrículo. El canal central sirve como referencia para dividir la comisura gris en dos mitades en sentido anteroposterior: la comisura gris anterior y la comisura gris posterior. Entre la comisura gris anterior y la fisura mediana anterior existe una banda transversal de sustancia blanca que comunica ambos cordones anteriores, la comisura blanca anterior. Los cordones posteriores están totalmente separados por el tabique mediano posterior que va desde el surco mediano posterior hasta la comisura gris posterior

lumbosacro de la médula, que inervan los músculos de las extremidades superiores e inferiores respectivamente.²⁴

La **sustancia gris** consiste en una mezcla de células nerviosas y sus prolongaciones, neuroglia y vasos sanguíneos. Las células nerviosas son multipolares y la neuroglia forma una intrincada red alrededor de los cuerpos neurales y sus neuritas.

En las **astas grises anteriores**, la mayoría de las células nerviosas son grandes y multipolares, y sus axones pasan hacia las raíces anteriores de los nervios espinales como *eferentes alfa*, que inervan los músculos esqueléticos. Las células nerviosas más pequeñas también son multipolares y los axones de muchas de éstas pasan hacia las raíces anteriores de los nervios espinales como los *eferentes gama* que inervan las fibras musculares intrafusales de los huesos neuromusculares.

Existen 4 grupos de células nerviosas del **asta gris posterior**, dos que se extienden en toda la longitud de la ME y dos que se restringen a los segmentos torácico y lumbar. El grupo de sustancia gelatinosa se sitúa en el ápice del asta gris posterior a lo largo de toda la ME.²⁵

La sustancia gris de la ME está al servicio de dos funciones. Primero, sus sinapsis retransmiten señales entre la periferia y el cerebro en ambas direcciones. Es principalmente en las astas dorsales donde las señales sensitivas son retransmitidas desde las raíces sensitivas de los nervios espinales pasando luego hacia arriba en la sustancia blanca de la médula hacia las diversas áreas sensitivas del cerebro. Es fundamentalmente en las astas ventral y lateral que las señales motoras son retransmitidas desde los tractos nerviosos descendentes procedentes del cerebro hacia las raíces motoras de los nervios espinales. Segundo, la sustancia gris de la médula funciona como integradora de algunas actividades motoras; por ejemplo, cuando la mano es sometida a un estímulo doloroso, las señales sensitivas que llegan a la médula provocan una reacción inmediata en la sustancia gris de la región

²⁴ Walter, S. op cit. / Alvares, J. Anatomía comparada Básica.

²⁵ Snell.op.cit.171

correspondiente a la mano. Esto produce, en el término de una fracción de segundo, señales motoras que causan la retirada de la mano del estímulo doloroso. Esto se denomina *reflejo de retirada* (reflejo flexor o reflejo doloroso).²⁶

La **sustancia blanca** se divide en tres *cordones* (funiculi) pares: posterior, lateral y anterior. El *cordón posterior* se encuentra entre el asta posterior y el tabique medio posterior. En las regiones torácicas superior y cervical, un *tabique intermedio posterior*, más pequeño y menos definido, divide cada cordón posterior en dos columnas blancas. El *cordón lateral* se haya entre la zona de ingreso de la raíz dorsal y el punto en que emergen las raíces ventrales de la ME.²⁷

La sustancia blanca de la ME consiste en una mezcla de fibras nerviosas, neuroglia y vasos sanguíneos, rodea a la sustancia gris y es de color blanco debido a la alta proporción de fibras nerviosas mielínicas. Estas fibras se encargan de unir funcionalmente los segmentos medulares entre sí y la ME con el encéfalo.

La disposición de los tractos de las fibras nerviosas en la ME se ha deducido como resultado de experimentos en animales y del estudio de la ME humana en caso de fibras nerviosas degenerativas como causa de lesión o enfermedad. Aunque algunos tractos nerviosos se encuentran concentrados en algunas áreas de la sustancia blanca, ahora en general se acepta que existe una considerable superposición.

²⁶ Guyton op.cit. p. 46

²⁷ Carpenter, Malcolm. Neuroanatomía Fundamentos. p. 70

A continuación se enumeran los diferentes tractos de la sustancia blanca y algunas de sus funciones:

Tractos ascendentes, tractos del cordón blanco posterior.- estos tractos transmiten información de sensibilidad propioceptiva, sentido de vibración y discriminación táctil.

Tractos del cordón blanco lateral, espinocerebeloso posterior.- Transmite información propioceptiva y contribuciones adicionales de los receptores del tacto y presión; esto permite al cerebelo participar en el control del movimiento voluntario.

Tracto espinotalámico lateral.- Transmite información relacionada con la sensibilidad termoalgésica.

Tracto espinotectal.- Proporciona una vía ascendente para reflejos espinovisuales.

Tracto posterolateral (Lissauer).- Está ubicado entre la punta del asta gris anterior y la superficie de la médula espinal próxima a las raíces posteriores; se relaciona con las sensaciones de calor, frío, dolor y forma gruesa de sensación táctil.

Tracto espinoolivario.- Transmite información desde los órganos cutáneos y propioceptivos.

Tractos del cordón blanco anterior, tracto espinotalámico anterior.- Se le relaciona con la transmisión de sensibilidades táctiles y de presión.

Tractos del cordón blanco lateral, tracto corticoespinal lateral.- es una importante vía motora relacionada con el movimiento voluntario.

Tracto rubroespinal.- Forma una pequeña banda ubicada por delante del tracto corticoespinal lateral. Transmite impulsos relacionados con la actividad muscular. Existen otros tractos como el reticuloespinal lateral y el olivoespinal que también están relacionados con movimiento muscular.

Sus fibras se originan en el núcleo rojo del mesencéfalo y transmiten impulsos que provienen del mismo núcleo rojo e indirectamente del cerebelo y del cuerpo estriado. Las fibras continúan por el tronco encefálico hasta el cordón lateral de la médula espinal, anterior al tracto piramidal cruzado, para finalmente hacer sinapsis con las interneuronas de las astas anteriores.

Para abordar directamente el tema del núcleo rojo, que es uno de los objetos de estudio, es necesario abundar en la descripción de algunos componentes del encéfalo.

1.7 Componentes del encéfalo

El **encéfalo** o cerebro se localiza en la cavidad craneal. Es la principal área integradora del sistema nervioso, el lugar donde son almacenados los recuerdos, son concebidas las ideas, se generan las emociones y se realizan otras funciones relacionadas con nuestra psique y el complejo control del organismo.

El encéfalo esta dividido en 6 porciones o niveles funcionalmente diferenciables: los hemisferios cerebrales, el diencefalo, el mesencéfalo, el cerebelo, la protuberancia, el bulbo raquídeo.

El **diencefalo** es una estructura nodular distinguible del resto del cerebro, que conecta el telencefalo (cerebro) con el mesencéfalo (cerebro medio). El diencefalo se define como a aquellas estructuras que rodean el tercer ventrículo. Las estructuras principales del diencefalo son el tálamo y el hipotálamo; ambos están compuestos de múltiples núcleos que realizan diferentes funciones nerviosas importantes.²⁸

²⁸ Guyton. op.cit. p. 19

El **mesencéfalo** es la parte estrecha del encéfalo que conecta el procencéfalo con el romboencéfalo. La cavidad estrecha del mesencéfalo es el acueducto cerebral, que conecta el tercer y cuarto ventrículo. Se puede dividir en tres porciones 1.- el techo (tectum) o lámina cuadragésima, dorsal al acueducto cerebral; 2.- una parte central la calota (tegmentum), que representa la continuación rostral de la formación reticular protuberancial y 3.- una parte ventral, los pedúnculos cerebrales (crura cerebri), que contienen proyecciones corticales descendentes. La sustancia negra, un núcleo pigmentado separa la calota mesencefálica de los pedúnculos cerebrales. 2 núcleos de los nervios craneales, el patético y el motor ocular común (oculomotor), se encuentra en la línea media, ventrales con respecto a la sustancia gris pericueductal.²⁹

El **cerebelo** se ubica dentro de la fosa craneana posterior, por detrás de la protuberancia y el bulbo raquídeo. Consiste en dos hemisferios conectados por una porción mediana, el vermis. El cerebelo está conectado al mesencéfalo por los pedúnculos cerebelosos superiores, a la protuberancia por los pedúnculos cerebelosos medios y al bulbo raquídeo por los pedúnculos cerebelosos inferiores.³⁰

El cerebelo contiene 3 núcleos profundos: el fastigial, el interpósito y el dentado. Las fibras aferentes del cerebelo proceden de receptores sensoriales periféricos, del tronco encefálico y de la corteza cerebral, estructuras que envían sus axones tanto a los núcleos profundos como a la corteza cerebelosa. Ésta proyecta a los núcleos profundos y a los núcleos vestibulares del tronco encefálico, los cuales a su vez conectan con los núcleos motores del tronco y la corteza cerebral. Estas proyecciones se dirigen sino a todas, a la mayor parte de las zonas de control del SNC.

En general, la función del cerebelo, es comparar señales motoras descendentes con las señales sensoriales de retroalimentación que resultan de la contracción de los músculos y que informan al sistema nervioso de la correcta ejecución de un movimiento. El cerebelo realiza estas funciones gracias a que recibe información sensorial de cada músculo al que conecta de

²⁹ Carpenter, op.cit.

³⁰ Snell.op.cit. p. 12

forma directa con los sistemas del control motor de la corteza y el tronco cerebral.³¹

Los cerebelosos superiores son dos cordones aplanados de delante hacia atrás, constituidos por fibras que de los núcleos del cerebelo se dirigen al núcleo rojo y al tálamo del lado opuesto. Nacen sus fibras en los núcleos dentado y emboliforme del cerebelo.³²

1.8 Núcleo Rojo

Los **núcleos cerebelosos** profundos localizados en la masa cerebelosa son cuatro: el dentado, el globuloso, el emboliforme y el fastigial. Los núcleos vestibulares en el bulbo también funcionan en algunos aspectos como si fueran núcleos cerebelosos profundos debido a sus conexiones directas con la corteza del lóbulo floculonodular.

Estos núcleos reciben señales de dos fuentes diferentes: 1) la corteza cerebelosa, y 2) todas las vías sensoriales aferentes para el cerebelo. Así pues, todas las señales que entran en el cerebro acaban terminando en los núcleos profundos.

Las alteraciones de los movimientos en los humanos son provocados por lesiones o algunas enfermedades las cuales dañan a los controles motores, uno de estos sistemas moduladores son los ganglios basales y el cerebelo. Dentro de los ganglios basales podemos encontrar un grupo de núcleos del encéfalo anterior (caudado, putamen y globo pálido) y algunas estructuras principales dentro del tronco del encéfalo como son: la sustancia negra y el núcleo rojo.³³

El **núcleo rojo** es un componente importante del tegmento. El núcleo tiene una forma ovoide (es redondo al corte transversal), extendiéndose desde el límite caudal del folículo superior a la región subtalámica del diencefalo. El núcleo tiene una coloración rosácea a su vascularización del tejido que lo

³¹ Rodney A. R. et al. *Fisiología Médica*.

³² Pedúnculos/Cerebelosos. *Diccionario Medicobiológico University*. p. 791

³³ Rosen G. M. et al. *Free radical and phagocytic cells*.

rodea. Tiene una apariencia punteada en los cortes teñidos por el método de WEIGERT esto se debe a las fibras mielinizadas que penetran al núcleo y salen del mismo. El núcleo rojo se divide en dos regiones que difieren en su citoarquitectura y conexiones. La región caudal es filogenéticamente la parte más antigua, la cual está formada por células grandes en medio de neuronas pequeñas y se conoce como porción magnocelular. La porción superior es más reciente desde el punto de vista filogenético y está especialmente desarrollada en el humano; está formada de pequeñas células por lo que se denomina porción parvicelular.³⁴

Algunas conexiones que pasan por el núcleo rojo son las aferentes del cerebelo y de la corteza cerebral. Las fibras que se originan en los núcleos cerebelosos forman el brazo conjuntival y entran al mesencefalo. Algunas de esas fibras terminan en el núcleo rojo, especialmente en la porción magnocelular. La mayoría de las fibras del brazo pasan por el núcleo rojo y lo rodean en su camino hacia el núcleo talámico (el núcleo lateral ventral) que a su vez, se proyecta hacia las áreas motoras del lóbulo frontal.

De las conexiones eferentes, el núcleo rojo es una de las fibras del tracto rubroespinal, se originan en la porción magnocelular y cruzan la línea media a nivel de núcleo en la decusación tegmental ventral. Los impulsos motores importantes de diversos orígenes se dirigen al núcleo rojo, donde hacen relevo en su camino hacia las neuronas motoras bajas promedio de conexiones rubrorreticulares y rubroespinales. Numerosas fibras rubro-olivares salen de la porción parvicelular y se dirigen al complejo olivar de la medula oblongada por el tracto tegmental central. El núcleo rojo manda unas cuantas fibras a los núcleos cerebelosos por el pedúnculo cerebeloso superior y existió evidencia de conexiones recíprocas entre el núcleo rojo y la sustancia gris.³⁵

³⁴ Stephen, Ranson. Anatomía del sistema nervioso.

³⁵ Murria, Barr. *El sistema nervioso humano*.

1.9 Neurona

Neurona es el nombre dado a la célula nerviosa y todas sus prolongaciones. Las largas prolongaciones de una célula nerviosa se denominan axones o fibras nerviosas.

Las neuronas son células excitables especializadas para recepción de estímulos y la conducción del impulso nervioso. Su tamaño y forma varía considerablemente, pero cada una posee un cuerpo celular desde cuya superficie se proyecta una o más prolongaciones denominadas neuritas. Las neuritas responsables de recibir información y conducirla hacia el cuerpo celular se denominan dendritas. Las neuronas se hallan en el encéfalo, ME y ganglios. Al contrario de las otras células del organismo, las neuronas normales en el individuo maduro no se dividen ni se reproducen.

El cuerpo de la neurona consiste en una masa de citoplasma en la que está incluido el núcleo; está limitado por su lado externo por una membrana plasmática.³⁶

El citoplasma que rodea al núcleo se denomina pericarion; el citoplasma es rico en retículo endoplasmático granular y agranular y contiene los siguientes organelos e inclusiones: sustancia de Nissl; aparato de Golgi; mitocondrias; microfilamentos; microtúbulos; lisosomas; centriolos; lipofuscina; melanina; glucógeno y lípidos (Fig.9).

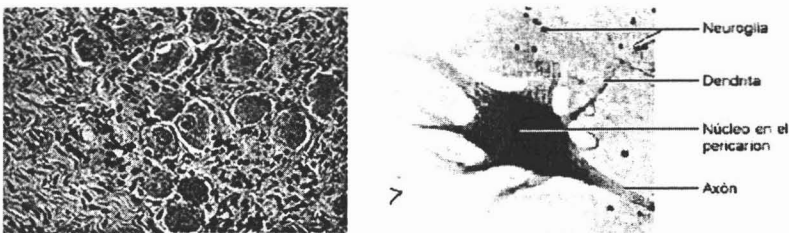


Fig. 9 Citoplasma (izquierda) y Pericarion (derecha)

³⁶ Snell, op. cit. p. 54

Existen tres tipos de neuronas de acuerdo a su función que intervienen en la formación de las vías nerviosas: neuronas **sensitivas** o aferentes.- son las que conducen impulsos desde la piel u otro órgano sensitivo hacia la ME y al cerebro; neuronas **motoras** o eferentes.- transportan impulsos que salen del cerebro y ME hacia ciertas estructuras donde tiene lugar la respuesta, como en el músculo estriado, músculo liso, músculo cardíaco o glándulas; **interneuronas** o neuronas centrales.- son las forman una red intercomunicante e integradora entre neuronas sensitivas y motoras.

Desde el punto de vista estructural las neuronas se pueden clasificar en: neuronas **multipolares** que son las que tienen un axón y dos o más dendritas; las neuronas **bipolares** tienen un axón y una dendrita, se localizan en la retina, en el ganglio espial de la cóclea y en el ganglio vestibular; la neuronas unipolares o **monopolares** tienen una prolongación, el axón que se divide cerca del soma celular en dos prolongaciones largas.

1.10 Neuroglia

El tipo celular más abundante en el SNC está constituido por células de la glia. Estas células no generan activamente señales eléctricas. Las células de la glia ejercen funciones de soporte; remoción de productos de desecho de metabolismo neuronal, o de restos celulares; proveen vaina de mielina; función de buffer espacial de potasio y de captación de neurotransmisores; una función de guía para la migración neuronal durante el desarrollo y una función de nutrición neuronal.

Las células gliales se dividen en dos grupos: **macroglia**.- que comprende a los astrositos, oligodendrocitos (del griego: *oligos*, pocos) (que poseen menos prolongaciones ramificadas que los astrocitos, ayudan a mantener unidas las fibras nerviosas y producen mielina que envuelven las fibras nerviosas localizadas en el SNC), células de Schwann (que poseen un núcleo alargado y aplanado, en el plasmalema se forma una invaginación; las células de Schwann forma una vaina completa alrededor de los axones de mielina en el SNP a excepción de las terminales) y ependimocitos y es de

origen mesodérmico; **microglia**.- de origen ectodérmico, comprende fagocitos que son parte del sistema inmune.³⁷

En caso de daño al tejido nervioso, las células residentes de la microglia se pueden transformar en microglia activa, con actividad fagocítica que actúan como células presentadoras de antígenos profesionales. La microglia 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 oligodendroglia, quizás inducidas por la sustancial señal de la microglia.³⁸

1.11 Mielina

La vaina de mielina es densa y gruesa formada en algunos casos por hasta 100 capas concéntricas de membrana plasmática que impide casi completamente el escape de corriente a través de la porción de la membrana del axón cubierta. Entre un segmento de vaina y el siguiente, quedan desnudas pequeñas regiones de la membrana del axón. Estas regiones denominadas Nódulos de Ranvier, tiene unos 0.5 μm de largo y son focos de activación eléctrica prácticamente todos los canales de Na^+ del axón están concentrados en los nódulos con una densidad en ellos de varios miles de canales por μm^2 , mientras que las regiones de la membrana axónica cubiertas por la vaina de mielina carecen casi por completo de estos canales. En una fibra el impulso salta de un nodo a otro, este proceso es llamado conducción saltatoria, ésta 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.³⁹

La mielina está compuesta de lípidos y proteínas cuya interacción y asociación con el citoesqueleto determina la estructura microscópica de la membrana. Los principales lípidos encontrados son: colesterol, fosfolípidos, galactolípidos y piasmalógenos. La cubierta de mielina actúa como un aislador,

³⁷ Cardinali, Daniel. *Manual de Neurofisiología*. p. 3 y 4

³⁸ Geneser, F. *Histología*.

³⁹ Sherwood, L. *Human Physiology*.

que previene que la corriente escape de la porción mielinizada de la membrana.⁴⁰

1.14 Sinapsis

El SN consiste en un gran número de neuronas vinculadas entre si para formar vías de conducción funcionales. Donde dos neuronas entran en estrecha proximidad y ocurre una comunicación interneuronal funcional, el sitio de ésta comunicación se denomina sinapsis.

Esta comunicación puede efectuarse a dos niveles, uno de ellos puede ser en la membrana o en el interior de la célula. En el caso de la célula que envía la señal, ocurre en la terminación presináptica axonal, por lo tanto la que recibe esa información es la parte post-sináptica dentrítica. En la parte dorsal del axón se muestra un engrosamiento en forma de botón, en el interior de éste se encuentran las mitocondrias y pequeñas vesículas las cuales contienen moléculas de neurotransmisor. Al otro lado hay dendritas con forma de espina, a las que la terminación axónica puede asociarse, ya sea en su parte terminal (cabeza) o en la unión con la dendrita principal (cuello). En muchos casos podemos identificar esta porción post - sináptica por la presencia de una capa más densa localizada justo al lado opuesto de la presinapsis, como veremos más adelante. Este espesamiento o densidad post - sináptica puede contener las sustancias receptoras que interactúan con los neurotransmisores liberados desde la presinapsis.

⁴⁰ Russell, Materson. *Myelin: Biology and Chemistry*.

Capítulo 2. Lesión Traumática de la Médula Espinal

2.1 Características de la LTME

Como se mencionó anteriormente, la Lesión Traumática de la Médula Espinal (LTME), se considera un grave problema de salud pública ya que son afectadas alrededor de 20 personas de cada millón al año.

La médula espinal está diseñada como eje transmisor, regulador y modulador de múltiples funciones neurológicas. A pesar de su compleja fisiología, el tejido medular carece de capacidad intrínseca de regeneración, de tal forma que su lesión puede ser pequeña pero con gran repercusión neurológica, en función de la actividad del área dañada y el nivel anatómico involucrado.⁴¹

La LTME que puede ser por **contusión** o **compresión** ocasiona alteraciones estructurales y funcionales que van desde el bloqueo transitorio de la conducción eléctrica, hasta la falta total de la misma, dependiendo del grado de lesión.⁴²

El compromiso de las células motoras del asta gris anterior a nivel de la lesión produce una parálisis parcial o completa de los músculos, con pérdida de tono y atrofia muscular. La afectación temprana de los tractos corticoespinales y otros tractos descendentes producen debilidad muscular, aumento del tono muscular (espasticidad), aumento de los reflejos tendinosos por debajo del nivel de la lesión y una respuesta plantar extensora. El grado de pérdida sensitiva depende de los tractos nerviosos afectados. Una lesión de cordones blancos posteriores de la ME produce pérdida del sentido articular (propiosección), del sentido de vibración y de la discriminación táctil por debajo del nivel de la lesión del mismo lado. El compromiso de los tractos

⁴¹ Referencia Internet. <http://www.uninet.edu/tratado/c110605.html>

⁴² Goodkin, R. Cambell, JB. *Sequential pathologic changes in spinal cord injury.*/ Balentine J. D. *Calcium toxicity as a factor in spinal cord injury.*

espinotalámicos laterales produce pérdida de las sensaciones de dolor, calor y frío del lado opuesto del cuerpo por debajo del nivel de la lesión.⁴³

Ésta puede dividirse principalmente en dos: lesión primaria y secundaria. La **primaria** es el resultado directo del trauma inicial y varía de acuerdo con la intensidad del mismo: puede producirse desde una ligera alteración intersticial de las membranas celulares y de la conducción axonal, hasta la ruptura de una proporción variable de axones y vasos sanguíneos con grave repercusión funcional. Se inician una serie de cambios inflamatorios, vasculares y neuroquímicos que involucran principal e inicialmente a la sustancia gris central, avanzando en sentido dorsal y caudal, afectando también la sustancia blanca, pudiendo causar lesión medular completa sin transección anatómica. La **secundaria** es la secuencia de eventos autodestructivos que siguen al trauma como son: la desregularización iónica, peroxidación de lípidos, isquemia, liberación de neurotransmisores y otros que en conjunto terminan con la necrosis máxima del tejido dañado. Causa fenómenos inflamatorios con liberación de mediadores y enzimas lisosomales, alteraciones del endotelio vascular con microtrombos y microhemorragias, y desequilibrios neuroquímicos, como aumento de las concentraciones intramedulares de noradrenalina y endorfinas.⁴⁴

2.2 Daños irreversibles de la ME

Después de producirse una LTME existe baja capacidad de regeneración espontánea de las fibras nerviosas, debido principalmente a la presencia de diversos factores inhibitorios de la regeneración que son sintetizados después del trauma, así como al inadecuado balance en la producción de diversos factores tróficos y al desarrollo de complejos eventos neuroquímicos autodestructivos que provocan daño irreversible del tejido nervioso, como:

⁴³ Snell, *op.cit.* p.180

⁴⁴ Anderson, K. *Chemical and cellular mediator in spinal cord injury*/ Benseel, C. *Management of acute spinal cord injury in*/ Belentine, D. and Paris D. *Pathology of experimental spinal cord trauma*/ Das, D. *Perspectives in anatomy and pathology of paraplegia in experimental animals*.

a) **Pérdida de la regulación iónica.**- que lleva a la suspensión del impulso nervioso y a la formación de edema; consiste en un intenso movimiento iónico que obedece a sus gradientes electroquímicos, incrementándose el Na^+ y Ca^{++} y disminuyendo el K^+ y el Mg^{++} a nivel intracelular. Al verse alterado el gradiente, cesa de inmediato la conducción eléctrica y se favorece la formación de edema. ⁴⁵

b) **Incremento del calcio libre intracelular.**- el cual activa diversas proteasas y fosfolipasas con el siguiente catabolismo de proteínas y lípidos estructurales e inhibición del transporte axoplásmico, debido a que al aumentar el calcio en el axoplasma, se dispara la acción de las proteasas neutras activadas por calcio y se produce una proteólisis masiva de los neurofilamentos, la cual nos puede llevar al colapso progresivo o a la fragmentación del axón, para finalmente necrosar los tejidos ⁴⁶Al activarse las proteasas y fosfolipasas destruyen los componentes celulares, entre ellos la mielina, con lo cual se favorece el proceso desmielinizante. La elevación intracelular descontrolada desencadena mecanismos de lesión que nos pueden llevar a la muerte celular por inhibición de la función mitocondrial, disminuyendo la presencia de ATP por activación de ATPasa.

c) **Liberación de grandes cantidades de glutamato y aspartato.**- originando una intensa sobreexcitación de las neuronas viables, fenómeno conocido como excitotoxicidad. En condiciones normales el glutamato y el aspartato, funcionan como neurotransmisores, pero después de la lesión se liberan en gran cantidad al espacio extracelular como resultado del daño mecánico ⁴⁷.

d) Finalmente, **el estrés oxidativo.**- estado donde se pierde el balance entre la generación de radicales libres y la capacidad de las defensas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, etcétera) para contrarrestarlos. ⁴⁸

⁴⁵ Hogan, L. Hsu, C. *Caciumactivated mediators of secondary injury in the spinal cord.*

⁴⁶ Boucher, A; Phelps, J. *Acute management of the head injury patient* In: Fiskum, G. *Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death.*

⁴⁷ Art. Panter S S, et al. *Alteración in extracellular amino acids alter traumatic spinal cord injury.*

⁴⁸ Art. Díaz, Araceli; et al. op.cit. p 438.

Otro evento importante desencadenado después de la LTME, es el **proceso isquémico** en el cuál se presentan dos niveles de daño: uno es inmediato y otro tardío. El inmediato es irreversible, ocurre en el área que circula al vaso ocluido, donde el flujo sanguíneo es igual a cero y se denomina núcleo. Rodeando al núcleo hay un área llamada zona de penumbra, cuyo flujo sanguíneo ha disminuído notablemente, aunque sin llegar a desaparecer. Aquí se producen cambios de tipo funcional. Si en esta zona de penumbra no se restituye el flujo sanguíneo, el daño celular se vuelve permanente.⁴⁹ Este suceso se inicia con la reducción del flujo sanguíneo, las reservas energéticas de la célula se terminan, por lo tanto ya no es posible mantener el potencial de reposo de la membrana plasmática, se produce una depolarización por los mecanismo de falla de la ATPasa Na+K.

En algún momento este proceso pasa del citoplasma al núcleo, y comienza la expresión genética de las citoquinas: por factor de necrosis tumoral, Interleukina-1 moléculas de adhesión intercelular, que inician el proceso inflamatorio, aumentando la permeabilidad y migración de las células inflamatorias. Dentro de las células que llegan al área en cuestión, juegan un rol muy importante los leucocitos que se adhieren a la microvasculatura, son activados allí y contribuyen al daño del tejido.⁵⁰ Por otro lado el ácido láctico formado depende de la cantidad de depósitos tisulares de glucosa y glucógeno en el momento de instaurarse la isquemia. La presencia de hiperglucemia, después del desarrollo del fallo bioenergético, origina una excesiva acidosis. A partir de aquí, los procesos bioquímicos conducentes a la destrucción del parénquima neural serán diferentes a nivel de las neuronas, de la glia o del componente vascular⁵¹

Después de la LTME y como consecuencia de la acción de diferentes fenómenos, como la respuesta inflamatoria y el mismo proceso de isquemia, se origina la formación de radicales libres, mismos que al ser producidos en exceso (estrés oxidativo) pueden exceder la capacidad antioxidante de las

⁴⁹ Astrup, J. Siesjo, K. Symon, L. *Thresholds in cerebral ischemic penumbra.*/ Castillo, J. *Bioquímica de la isquemia cerebral.*/Baron, C. *Mapping the ischemic penumbra...*/ Heiss, D. Kracht, W. et al. *Penumbral probability threshold of cortical flumazenil...*

⁵⁰ Navarro, T y Henriquez, D. Aspectos fisiopatológicos de la neuroprotección.

⁵¹ Heiss, D. Graf, R. *The ischemic penumbra Curr.*/ Castillo, J. *Fisiopatología de la isquemia cerebral...*

neuronas, ocasionando alteraciones de algunos constituyentes celulares, como: proteínas, ácidos nucleicos y lípidos principalmente. Un **radical libre** (RL) se considera a cualquier molécula que contenga uno o más electrones desapareados, ya sea por pérdida o por ganancia de ellos.⁵² Los RL que son responsables del estrés oxidativo, en las neuronas son: el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el peroxinitrito ($ONOO^-$),⁵³

El **óxido nítrico** (ON) es un gas inorgánico, permeable, difusible, con gran capacidad reactiva y constituye el primero de una nueva clase de sustancias moduladoras. El ON es sintetizado a partir del aminoácido L-arginina por medio de la acción de la enzima sintasa del óxido nítrico (NOS, del inglés nitric oxide synthase).⁵⁴ En la actualidad se conocen tres isoformas de la NOS: la neuronal (nNOS), la endotelial (eNOS) y una forma inducida (iNOS). El aumento de la producción de ON es mediado por la acción de la nNOS la cual origina una lesión neuronal inmediata y la NOS contribuye al daño neuronal retardado; sin embargo, la producción de ON mediada por la eNOS actúa como neuroprotector, induciendo la relajación de la fibra muscular lisa y el mantenimiento del flujo sanguíneo de la región.⁵⁵ La formación del ON en combinación con el O_2^- origina $ONOO^-$, el cual es responsable directo de la lisis neuronal al reaccionar con radicales sulfidrilos, grupos tiolíticos, proteínas, lípidos y con los ácidos nucleicos. Efectuándose así un fenómeno denominado lipoperoxidación (LP).⁵⁶

La **respuesta inflamatoria** participa en la generación de RL; casi inmediatamente después del traumatismo ocurre una reacción inflamatoria que involucra la acción de mediadores químicos, la bradicina y sus precursores.⁵⁷ Las citocinas IL-2, y IL-6, factor de necrosis tumoral alfa y la participación de las células inflamatorias, originan la activación de las células inmunológicas

⁵² Zentella, M. Saldaña, Y. *Papel fisiológico de los radicales libres.*

⁵³ Dawson, L. Dawson, M. *Free radicals and neuronal cell Death and differentiation.* J. Cadet, L. *Free radical mechanisms in the central nervous system.*

⁵⁴ Moncada, S; Higgs, A. *The L-arginine-nitric oxide pathway.*

⁵⁵ Bredt, H. Hwang, M. Zinder, H. *Localitation of oxide.*

⁵⁶ Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.*

⁵⁷ Francel P. C. *Bradkinin and neural injury.*

residentes (astrocitos y microglia), además de las células reclutadas desde la periferia como: macrófagos, linfocitos, etc.⁵⁸

Los **ácidos grasos polinsaturados** (PUFA por sus siglas en inglés), poseen tres o más uniones de carbono con doble ligadura, que les confiere una zona de enlace labil que permite que una molécula activa como el OH les sustraiga un átomo de H.⁵⁹

El proceso de oxidación de los ácidos grasos se denomina en la LP, en el cual se produce una reacción en cadena, es decir, una vez comenzada continúa desarrollándose por si misma. En la actualidad este proceso se divide en tres etapas: iniciación, propagación y terminación.

La etapa de iniciación se produce cuando la unión C-H de los PUFA sufre la abstracción del hidrógeno de la doble ligadura (hidrógeno alílico) susceptible de ser abstraído por los RL, fundamentalmente el OH-, lo que genera un radical lipídico. Teniendo el átomo de H un solo electrón, la sustracción del grupo H del grupo metileno produce el carbono.⁶⁰ El inicio de este proceso se muestra en la siguiente reacción:



Donde RH = PUFA y R = radical del ácido graso.

La fase siguiente es la de propagación, comprende una etapa en la que el R se combina con el oxígeno formando un lipoperóxido (ROO) mostrándose a continuación:



La **lipoperoxidación** sigue propagándose de esta manera, llega a su término cuando dos ROOH reaccionan entre sí dando un tetróxido. Los tetróxidos son muy inestables, al romperse generan aldehídos de pequeño

⁵⁸ Popovich, P.G., Wei, P.; Stokes B. T. *Celular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague Dawley and Lewis rats.*

⁵⁹ Halliwell, B. *op.cit.*

⁶⁰ White, C. Krause, S. et al. *Postshemic tissue injury by iron mediated free radical lipidperoxidation and Emergency.*

tamaño en fragmentos de bajo peso molecular como lo son: el manolaldehído, etano, pentano, por mencionar algunos; hay otros que son sumamente importantes como los peróxidos, los cuales son relativamente estables en condiciones fisiológicas normales, pero ante la presencia de sales de cobre o de hierro su descomposición se acelera en forma dramática en alcoxi o peroxiradicales⁶¹ provocando así un estrés oxidativo.

Los RL dañan a la ME debido a que los lípidos de membrana son ricos en colesterol u ácido graso polisaturados, además que presenta gran cantidad de hierro y ácido ascórbico (los cuales catalizan la producción de RL) y cuenta con pocas defensas antioxidantes,⁶² por lo tanto las lesiones en la ME promueven un ambiente favorable para la producción de RL y reacciones de Lipoperoxidación (LP).⁶³ Así en los primeros 15 minutos de una LTME se incrementa significativamente los productos de LP (malodialdehído, MDA); gradualmente los productos de la LP aumentan durante las primeras 2 horas alcanzando su pico máximo a las 5 horas, y posteriormente descienden los niveles en la ME de ratas contusionadas. Es importante considerar que la LP varía dependiendo del tipo y severidad de la lesión.

Entonces, la oxidación de RL en PUFA en sistemas biológicos es conocida como Lipoperoxidación. La LP es uno de los más importantes factores que se producen en el tejido durante una LTME, no sólo debido a los efectos citotóxicos de los RL, sino también al importante papel de éstas 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.

⁶¹ Bebedetti, A. Comporti, M. et al. Identification of 4-Hidroxynoneal...

⁶² Ikeda, Y., Long, M. *The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen ...*

⁶³ Hall, E. D. *Free radical central nervous system injury.*

Capítulo 3. Neuroprotección de la Médula Espinal

3.1 Antecedentes

Neuroprotección de la Médula Espinal

Uno de los trastornos devastadores para la vida de un individuo, es la pérdida irreversible de la función neurológica luego de una lesión sobre la médula espinal. Encontrar la manera de recuperar tales deficiencias ha sido un sueño de clínicos y neurobiólogos durante años, pero la investigación al respecto había mostrado resultados desalentadores.

No obstante, trabajos experimentales previos han permitido avanzar en el conocimiento de los mecanismos de daño y reparación del sistema nervioso central. Desde la década pasada, se demostró que los axones no pueden regenerarse dentro de la médula, a pesar que son capaces de crecer por largos trayectos a través de nervios periféricos. Estudios posteriores revelaron que la causa de este curioso comportamiento se debía a la existencia de ciertas proteínas asociadas a la mielina que inhiben el crecimiento axonal, y que el bloqueo de tales péptidos revierte el fenómeno. También se encontró que compuestos como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF del inglés Fibroblast Growth Factor) son capaces de estimular la proliferación y crecimiento neuronal.⁶⁴

La neuroprotección es la estrategia que busca prevenir y disminuir la degeneración del tejido neural provocada por una lesión en el Sistema Nervioso Central. Esta estrategia busca reducir el medio ambiente nocivo, tanto por la neutralización de mediadores tóxicos o por el incremento en la resistencia del tejido a la toxicidad.

⁶⁴ Art. Experimentos en animales demuestran procesos regenerativos después de trauma raquímedular.
<http://www.iladiba.com.co/revista/1996/09/avneuro.asp>

En los últimos años se ha venido realizando investigación sobre el efecto neuroprotector de numerosas sustancias o fármacos después de LTME. Sin embargo no existen resultados 100 por ciento favorables; a excepción de algunos fármacos parcialmente eficaces. Es necesario continuar una exhaustiva investigación en neuroprotección que proporcione un acercamiento real para resolver el problema.

En la actualidad se propuso el uso de diversos fármacos neuroprotectores como la metilprednisolona. Así mismo existen estudios en animales donde la estrategia es el uso de antagonistas de los receptores n-metil-D- aspartato para contrarrestar el efecto excitotóxico que favorece la muerte celular; de fármacos secuestradores de Radicales Libres para modular el estrés oxidante (el mexilatin y el OPC-14 117), y de inmunodepresores (ciclosporina -A y el tacrolimus) entre otros. Por otra parte los trasplantes de células indiferenciadas y de células gliales en el sitio de la lesión parecen ser otra buena alternativa para favorecer los procesos de regeneración axonal. Se ha propuesto que el incremento en la síntesis y en la secreción de diversos factores tróficos es importante para una recuperación funcional.⁶⁵

Otra estrategia de neuroprotección para tratar la LTME son los **Inhibidores de la liberación del glutamato** que es el principal neurotransmisor excitatorio del cerebro; sin embargo en altas concentraciones llega a ser citotóxico. Estudios recientes demuestran que el glutamato provoca mecanismos protectores mediados por las células T. La naturaleza de algunos receptores del glutamato señalan el camino que participa en la protección inmune de la toxicidad del glutamato.

Durante la isquemia aumenta su liberación desde el espacio presináptico, lo que lleva a la pérdida de la homeostasis iónica y energética en la célula. Se ha intentado actuar a dos niveles: disminuir su liberación presináptica o bloquear su acción en los receptores post-sinápticos, estos son algunos nombres de los compuestos utilizados: Fenitoina, fosfenitoina y derivados de lamotrigina, los cuales actúan bloqueando los canales de Na⁺,

⁶⁵ Díaz, Araceli. *op.cit.*

voltaje dependientes presinápticos, evitando 'la despolarización de la membrana y la liberación del glutamato.

Los **transplantes** en el SNC son otra estrategia que busca acabar con la parálisis. Estos han demostrado tener un efecto neuroprotector después de una LTME al disminuir el grado de destrucción de la zona lesionada, al aumentar la sobre vida de los animales y disminuir la incidencia de complicaciones de los mismos, debido a que el tejido trasplantado es capaz de amortiguar, neutralizar y/o captar algunas sustancias neurotóxicas liberadas en el área de lesión ⁶⁶

La **metilprednisolona (MP)** es un corticoesteroide que se utiliza como agente neuroprotector en la LTME.⁶⁷ Es importante que la MP debe ser utilizada en las primeras 8 horas después de la LTME y administrada en dosis altas durante las 24 horas siguientes, para mejorar la recuperación motora del individuo.⁶⁸ La MP de acuerdo a su mecanismo de acción inhibe la dilatación capilar, la función de las células inflamatorias (incluyendo la quimiotaxis, la fagocitosis y la fosfolipasa A2), el edema, la migración de leucocitos, antagoniza la estamina y suprime a la respuesta inmunitaria al producir linfopenia, disminución de inmunoglobulinas, complemento y volumen del sistema linfático. También funciona como captador de R L.

Es necesario mencionar que la MP también tiene efectos negativos como: hemorragias intestinales cuando se aplica en grandes cantidades,⁶⁹ necrosis neuronal post-isquémica y limita el crecimiento axonal.⁷⁰

El **N-metil-D-n-metil-D-aspartato** y el **dextrometorfan** son **antagonistas** de los **receptores NMDA**. Los inhibidores de los receptores de glutamato, especialmente los que bloquean los receptores MNDA reducen el

⁶⁶ Guizar, Gabriel; *et al.* *Neuroprotection of completely lacerated spinal cord of adult rats by homotopic and heterotopic transplantation.*

⁶⁷ Hall, E. D. *op. cit.*

⁶⁸ Bracken M. B. *et al.* *A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury.*

⁶⁹ Levy, L. Gams, W. *et al.* *Use of methylprednisolone...*

⁷⁰ Bracken M. B, Holford T.R. *Effect of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NACIS 2 J.*

tamaño del infarto y el déficit neurológico en los modelos de isquemia, pero su utilización clínica presenta efectos adversos.⁷¹

Otra estrategia se basa en la utilización de **donadores de óxido nítrico** de los que destaca el isosorbide y L-arginina; ésta última es una enzima que al ser catalizada en L-citrulina libera ON, se conoce como óxido nítrico sintasa.⁷²

La **citicolina** es un compuesto que estimula la síntesis de fosfatidilcolina, un fosfolípido esencial para el mantenimiento de las **membranas celulares**; es decir que funciona como **restaurador**. La citicolina reduce el volumen del infarto en modelos experimentales.⁷³

Estudios recientes demuestran que algunos **antioxidantes** pueden prevenir la muerte neuronal en células animales en cultivos. Existen 3 clases principales de antioxidantes; los primarios previenen la formación de nuevos RL, convirtiéndolos en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de RL a partir de otras moléculas. Los secundarios capturan los RL, evitando la reacción en cadena, (ejem. vitamina E o alfa-tocoferol, vitamina C o ácido ascórbico, betacaroteno, ácido úrico, bilirrubina, albúmina, ubiquinol-10). Los terciarios, reparan las biomoléculas dañadas por los RL (ejem. enzimas reparadoras de ADN y metionina sulfóxido reductasa)⁷⁴

La vitamina E, 21 aminoesteroides y estrógenos son algunos ejemplos de antioxidantes neuroprotectores. En el grupo de los primarios resalta el glutatión que es el antioxidante que se utilizó en el presente estudio.

⁷¹ Davis, S. et al. *Termination of acute stroke...*

⁷² Bravo, A. Araujo, A. et al. *Toxicidad y efecto hipotensor de ...*

⁷³ Clark, M. et al. *For the Citocoline store study group.*

⁷⁴ Bonorden, R. Pariza, W. *Antioxidant nutrients and protection from radicals in...*

3.2 Sistema Inmune

Los seres humanos defienden constantemente su integridad biológica frente a agresiones, procedentes del exterior así como del propio organismo. De no ser así, morirían como consecuencia de tumores e infecciones de bacterias, virus, hongos, etc. Para que estos fenómenos de defensa se lleven a cabo, los organismos disponen de un conjunto de elementos especiales, conocido como *sistema inmune*. La capacidad de defensa se adquiere antes de nacer y se madura y consolida en los primeros años de la vida fuera del seno materno.⁷⁵

Las células y moléculas que forman el sistema inmune se organizan a su vez en tejidos y órganos, estructuras que reciben el nombre genérico de sistema linfóide. Los tejidos y órganos linfoides se pueden dividir en primarios o centrales y en secundarios o periféricos. Los órganos primarios son los lugares de la linfopoyesis, mientras que los periféricos son los lugares de interacción entre las distintas células y tienen como misión proveer un ambiente favorable para que se desencadenen las respuestas inmunológicas.⁷⁶

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 SI 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 invasoras. 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.⁷⁷

⁷⁵ Referencia Internet. Art. *Tratado de Inmunología*. <http://www.uninet.edu/tratado/c080101.html>

⁷⁶ Referencia Internet. <http://www.med.uva.es/~pingo/Inmunologia/Apuntes/tema2.html>

⁷⁷ Goldsby, Richard. *Kuby Immunology*.

Los mecanismos de protección se dividen en dos tipos de respuesta: **inmunidad innata** o inespecífica e **inmunidad adaptativa** o específica. Cualquier respuesta inmunitaria implica, en primer lugar el reconocimiento de agente patógeno o de otros materiales extraños y, en segundo lugar, la elaboración de una reacción contra dicho agente, a fin de eliminarlo. Además, esta respuesta mejora con los sucesivos contactos con el mismo agente: en efecto, el sistema inmunitario adaptativo recuerda el agente infeccioso y puede impedir que más tarde produzca enfermedad. Después de la infección, por consiguiente las dos características clave de éste tipo de respuesta son la especificidad y la memoria.⁷⁸

La **respuesta inmune inespecífica** es la primera barrera defensiva del organismo y no requiere sensibilización previa. Este tipo de respuesta es mediada por células con capacidad fagocítica y células asesinas naturales. Las células que median esta respuesta, son los polimorfonucleares (PMN) neutrófilos y macrófagos, células que se caracterizan por activarse de forma inmediata siempre que cualquier sustancia extraña penetra en el organismo.

La **respuesta específica o adquirida** se desarrolla solo frente a la sustancia que indujo su iniciación y en ella participan prioritariamente los linfocitos y los elementos solubles liberadas por los mismos, anticuerpos y linfocinas. Todas las sustancias que se comportan como extrañas a un organismo frente a las cuales éste desarrolla una respuesta inmune específica, se conocen como antígenos. Los linfocitos son de dos tipos: *linfocitos B* y *linfocitos T*. Los linfocitos T, a su vez, pueden ser *linfocitos T colaboradores* (*Th* o *helpers*), *linfocitos T citotóxicos* (*Tc*) y por algunos autores también proponen los *linfocitos T supresores/reguladores* (*Ts*).⁷⁹

La respuesta inmune específica, se considera que puede ser de dos tipos: *humoral* y *celular*, en general, se considera que cuando el elemento efector final son las inmunoglobulinas formadas por los linfocitos B se trata de una *respuesta tipo humoral*, mientras que cuando participan los linfocitos T tanto colaboradores (*Th*) como citotóxicos (*Tc*), se trata de una *respuesta tipo celular*. Las respuestas con anticuerpos humorales implican la producción de

⁷⁸ Stites, Daniel. *Inmunología Básica y Clínica*. p. Cap.1, 1.2

⁷⁹ Referencia Internet. Inmunidad: Inmunodeficiencias. <http://www.uninet.edu/tratado/c080101.html>

anticuerpos que circulan por la sangre y que se unen específicamente al antígeno extraño que los ha inducido. La unión del anticuerpo al antígeno facilita a las células fagocíticas la ingestión del antígeno, y a menudo activa un sistema de proteínas sanguíneas, denominadas colectivamente *complemento*, que ayuda a destruir el antígeno. Las respuestas inmunitarias mediadas por células implican la formación de células especializadas que reaccionan principalmente con los antígenos extraños situados sobre la superficie de la célula del huésped, ya sea matando la célula huésped si el antígeno es un virus infeccioso, o induciendo a otras células del huésped, como por ejemplo a los macrófagos a destruir el antígeno.

3.3 Órganos del Sistema Inmune

Los órganos linfoides se pueden clasificar en: *órganos linfoides primarios o centrales y secundarios o periféricos*. En los órganos linfoides **primarios** es donde se produce la diferenciación de linfocitos (linfopoyesis) T y B. La de linfocitos B ocurre en hígado fetal y médula ósea. La de linfocitos T sucede en el timo.

En los órganos linfoides **secundarios** se presentan los antígenos y se monta la respuesta inmune específica (ganglios linfáticos, bazo, MALT (tejido linfoide asociado a mucosas)).⁸⁰

Las células responsables de la inmunidad, son los glóbulos blancos conocidos como **linfocitos**. Se encuentran en grandes cantidades en la sangre y en la linfa (líquido incoloro de los vasos linfáticos que conectan a los nódulos linfáticos del cuerpo), y en tejidos linfoides especializados, como el timo, los nódulos linfáticos, el bazo, y el apéndice (Fig.10). Los linfocitos se desarrollan a partir de las células **madres hematopoyéticas pluripotenciales**, que dan lugar a todas las células sanguíneas, incluidos los eritrocitos, los leucocitos, y las plaquetas.

⁸⁰ Referencia Internet. <http://www.med.uva.es/~pingo/Inmunologia/Apuntes/tema2.htm>

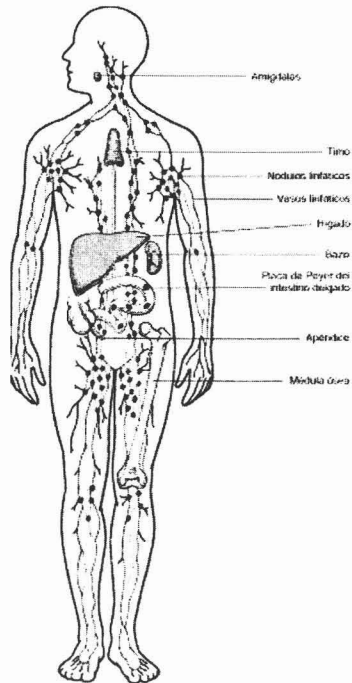


Fig. 10 Órganos del Sistema Inmune

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 éste órgano están presentes precursores de células sanguíneas rojas (eritrocitoblastos), macrófagos (monoblastos), plaquetas (megacariocitos), polimorfonuclear leucocitos (mioblastos) y linfocitos (linfoblastos).⁸¹

El **timo** es un órgano plano y blando situado en la cavidad torácica, por encima del corazón. Consta de dos lóbulos, una corteza externa y una médula interna. La corteza contiene una colección densa de linfocitos T inmaduros, la médula, de una tinción más suave, está poblada por linfocitos maduros

⁸¹ Sell Stewart. *Immunology, Immunopatology, and Immunity*.

dispuestos de forma más dispersa. El timo tiene un rico aporte vascular y vasos linfáticos eferentes que drenan a los ganglios linfáticos mediastínicos.⁸²

El **bazo** está situado por debajo del diafragma, en el cuadrante superior del abdomen; está recubierto por una cápsula delgada y un tanto frágil del tejido conectivo. La sangre penetra a través de la arteria esplénica en el hilio, y pasa a una red de ramificación de arteriolas progresivamente menores que irradian a través de todo el órgano. Cada arteriola está envuelta por un manguito cilíndrico de tejido linfático constituido principalmente por células T maduras, el cual se llama periarteriolar.⁸³

La función del bazo y su respuesta frente a los antígenos es muy similar a la de los ganglios linfáticos, siendo la diferencia esencial que en el bazo es el principal lugar de las respuestas inmunitarias frente a antígenos vehiculados por la sangre, mientras que los ganglios linfáticos están implicados en las respuestas frente a los antígenos vehiculados por la linfa. El bazo es también un filtro importante de la sangre; sus macrófagos de la pulpa roja son responsables del aclaramiento de la sangre de sustancias extrañas y de eritrocitos viejos incluso en la ausencia de inmunidad específica.⁸⁴

La linfa fluye a través de una serie de órganos en forma de ovoide llamados **ganglios linfáticos**; éstos están distribuidos a lo largo de la totalidad de la vasculatura linfática, tienden a aumentar de tamaño hacia el extremo venoso del sistema y a menudo forman cadenas o agrupamientos que reciben de manera exclusiva el flujo de un órgano o región particular del cuerpo. Pueden encontrarse grupos de ganglios linfáticos especialmente prominentes en cuello y axilas (que drenan la cabeza y las extremidades superiores), en las regiones inguinal y paravertebral (que drenan las extremidades inferiores y la pelvis) y en la raíz del mesenterio (que drenan al intestino).⁸⁵ Los antígenos que penetran a través de cualquiera de esas puertas acaban en los vasos linfáticos y son transportados a los ganglios linfáticos. De éste modo, el sistema linfático constituye un mecanismo de recogida de antígenos, y las células de

⁸² Abbas, Abul. et.al. Inmunología Celular y Molecular. p. 28

⁸³ Stites, Daniel. op. cit. p. 45

⁸⁴ Abbas. op.cit. p. 31

⁸⁵ Stites, Daniel. op. cit p. 41

los ganglios linfáticos muestran la linfa en busca de material antigénico extraño.⁸⁶

La corteza del ganglio linfático suele contener varios agregados celulares separados que se denominan folículos linfoides. Estos folículos están constituidos principalmente por linfocitos B de memoria, un número menor de células T (de las cuales casi todas son células cooperadoras) y un tipo especializado de célula de soporte llamado célula dendrítica folicular. Éstas últimas se denominan así debido a que sólo se encuentran en folículos linfoides y presentan múltiples prolongaciones citoplasmáticas delicadas y largas que irradian hacia el exterior, como tentáculos, para circunscribir cada linfocito folicular.⁸⁷

3.4 Células del Sistema Inmune

Todas las células originadas en el sistema hematopoyético por medio de las células madre (*Stem Cell*) intervienen, en mayor o menor medida, en la inmunidad. De ésta manera las células T y B, junto con las células asesinas (*Natural Killer*) y los macrófagos (que constituyen la base de la inmunidad natural); los macrófagos/monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos/mastocitos contribuyen a la respuesta inmune. Estas células siguen dos líneas fundamentales de diferenciación: **linaje mieloide** y **linaje linfoide**.

Del progenitor **mieloide** o **promielocito** derivan los eritrocitos e inflamocitos este último grupo se subdivide en: Megacariocitos: que van a originar las plaquetas, Mastocitos, Granulocitos (Eosinófilos , Basófilos y Neutrófilos) Fagocitos (Eosinófilos , Neutrófilos , Macrófagos y Monocitos). Del progenitor **linfoide** derivan: algunas células dendríticas, Linfocitos B, Linfocitos T (tanto cooperadores Th, como citotóxicos Tc) Linfocitos NK.⁸⁸

⁸⁶ Abbas, *op. cit.* p. 28

⁸⁷ Stites, Daniel. *op. cit.* p. 42

⁸⁸ Referencia Internet. Universidad de Valladolid
www.med.uva.es/~pingo/Inmunologia/Apuntes/tema2.htm

Células T

Los linfocitos T no expresan inmunoglobulinas pero, en vez de esto, detectan la presencia de sustancias extrañas por medio de proteínas de superficie llamadas receptores de la célula T. Estos receptores forman un tipo heterogéneo de proteínas de membrana que, en la mayoría de las células T están constituida por un par de polipéptidos transmembrana conocidos como cadenas alfa y beta. En particular, los linfocitos T reconocerán una proteína extraña sólo si ésta primero se divide en péptidos pequeños, que luego se muestran sobre la superficie de una segunda célula huésped, llamada célula de presentación de antígeno.⁸⁹

La función principal de los linfocitos T es inducir una reacción inmune específica a un antígeno dado, después del reconocimiento de un péptido antigénico fijado por moléculas pertenecientes al CMH (Complejo Mayor de Histocompatibilidad). El reconocimiento del péptido se efectúa por intermedio del TcR (Receptor de Reconocimiento a Antígenos), el cual está asociado con un complejo molecular traductor llamado CD3 que se localiza en la membrana plasmática. Existen 2 tipos de TcR conocidos como TcR $\alpha\beta$ y TcR $\gamma\delta$ que difieren entre ellos por las características de las cadenas polipeptídicas constituyentes.⁹⁰

Los linfocitos T se subdividen además en poblaciones funcionalmente distintas, siendo las mejor definidas las células T cooperadoras y las células T citolíticas (citotóxicas). En respuesta a la estimulación antigénica, las células T cooperadoras secretan hormonas proteicas llamadas **citocinas** cuya función es promover la proliferación y diferenciación de las células T así como de otras células, incluidas las células B y los macrófagos. Las citocinas también atraen y activan a los leucocitos inflamatorios incluidos macrófagos y granulocitos, proporcionando importantes conexiones entre la inmunidad específica de las células T y la inmunidad natural. Los linfocitos T citolíticos (LTC) lisan a las células que producen antígenos extraños, como las células infectadas por virus y otros mecanismos intracelulares.

⁸⁹ Stites, Daniel. op. cit p. 35

⁹⁰ Nemirovsky, Mario; Homberg, Jean Claude. Fundamentos de inmunología bases estructurales.

Para identificar a los subgrupos de células T se pueden diferenciar por medio de proteínas que sirven como marcadores fenotípicos (proteínas de superficie) de las diferentes poblaciones linfocitarias. Por ejemplo, la mayor parte de las células T cooperadoras expresan una proteína de superficie llamada CD4 y la mayor parte de los LTC expresan un marcador diferente llamado CD8. Para nombrar a los marcadores linfocitarios se utilizan las siglas CD (*Cluster of Differentiation*) en español grupos de diferenciación y se refiere a los grupos de anticuerpos monoclonales que pueden utilizarse para identificar la estirpe o estadio de diferenciación de los linfocitos.

La expresión CD4 y CD8 son esenciales para subsecuentes eventos de selección. La expresión de los genes TcR α ocurre en el estado doble positivo (DP) y éste 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 los antígenos y son sujetos a una selección positiva y negativa. En la selección positiva los timocitos cuyo TcRs unen con baja afinidad al complejo MHC- propio $\leftrightarrow$ péptido-propio son estimulados para sobrevivir; así, los timocitos cuyo receptor no reconoce al MHC propio mueren. Durante la selección negativa los timocitos cuyo TcR unen con alta afinidad a antígenos propios en asociación con moléculas del MHC propias son muertos o eliminados. Células que exitosamente pasan por estos procesos de selección maduran en células T CD4⁺ y CD8⁺ que son conocidos como linfocitos simples (SP). La maduración fenotípica es acompañada por maduración funcional. Células T CD4⁺ adquieren la capacidad para producir citocinas en respuesta a una subsecuente estimulación por antígenos y a la expresión de otras moléculas (tales como ligando CD40) que ayudan a reconocer al linfocitos B y macrófagos (células presentadoras de antígenos), donde las células CD8⁺ son capaces de producir moléculas que lisan a otras células.⁹¹

Células B

La característica celular definitoria de la línea de células B es su capacidad para sintetizar proteínas o anticuerpos llamadas inmunoglobulinas. Ninguna otra célula expresa estas proteínas. Las inmunoglobulinas son una

⁹¹ Abbas, Abul. *Cellular and Molecular Immunology*.

familia de proteínas diferentes, cada inmunoglobulina está constituida por dos tipos relacionados de polipéptidos llamados cadenas pesadas y cadenas ligeras.⁹²

Los linfocitos B constituyen sólo de 5 a 15 por ciento de los linfocitos de la sangre circulante (300 a 800/mm³). Son ampliamente mayoritarios en los folículos linfáticos de los ganglios y del Bazo. Estos linfocitos poseen en la membrana plasmática inmunoglobulinasa de membrana. Las mismas poseen un sitio de reconocimiento antigénico que será idéntico al de la inmunoglobulina secretada al final del proceso de inmunidad humoral específica. Ese reconocimiento será transducido al interior de la célula después de su asociación del determinante antigénico con las cadenas peptídicas Igα e Igβ. Estas cadenas de transducción cumplen un papel semejante al del CD3 respecto del TcR.⁹³

Fagocitos

El macrófago puede tener forma y función diferentes según el tejido en el que se encuentren, además de recibir distintos nombres: **monocito** al macrófago en sangre, **histiocito** al macrófago en los tejidos, **osteoclasto** al macrófago en los huesos, **microglía** a los macrófagos del cerebro y del tejido nervioso, célula de **Kupffer**, macrófagos del hígado y **mesengial** a los del riñón. Todos ellos hacen dos cosas: 1) fagocitan y digieren patógenos y 2) avisan (presentan) mediante factores solubles a otras células para que colaboren contra la infección y para reparar el posible daño que haya hecho el patógeno.

La actividad de macrófagos puede ser incrementada tanto por células Th mediadores de la respuesta inflamatoria, o por componentes de la pared bacterial. Uno de los más potentes activadores de macrófagos es el interferón gamma (INF-γ), secretados por las células Th activadas.

⁹² Stites, Daniel. op. cit p. 32

⁹³ Nemirovsky, Mario. op.cit. p.47

La fagocitosis es un proceso dependiente del citoesqueleto que puede atrapar grandes partículas ($>0.5\mu\text{m}$ 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 a dentro de la célula. Una vez que el agente extraño es introducido al fagocito hay una unión de lisosoma con una estructura denominada fagosoma donde están almacenadas enzimas proteolíticas que al contacto con el microbio lo destruye. Un segundo mecanismo antimicrobica utilizado por macrófagos (además de neutrófilos), es la conversión catalítica de oxígeno molecular a radicales libres oxihalidos. Agentes que destruyen al microbio (y a otras células). El oxido nítrico liberado de macrófagos puede combinarse con el peróxido de hidrógeno o con el anión superóxido para generar peroxinitrito reactivo que puede matar a las bacterias, sin embargo puede dañar la membrana de las células.⁹⁴

3.5 Complejo Principal de Histocompatibilidad

La respuesta a la mayoría de los inmunógenos proteínicos puede empezar sólo después de que el inmunógeno ha sido capturado, procesado y presentado por una Célula Presentadora de antígeno (CPA). La presentación depende en parte, de proteínas específicas llamadas proteínas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC; del inglés Major Histocompatibility Complex) en la superficie de las células de presentación. Los péptidos extraños se fijan de manera no covalente a las proteínas del MHC para mostrarse, y ésta combinación del péptido y proteína del MHC es lo que permite que el receptor de la célula T pueda reconocer al péptido extraño. Así, los linfocitos T deben tocar directamente la superficie de otra célula para detectar antígenos, así como para originar la mayoría de sus efectos inmunitarios. La función que desempeñan las CPA consiste en ofrecer péptidos antigénicos en forma de complejos con moléculas de MHC al repertorio disponible de células. Las moléculas de MHC son componentes obligatorios del complejo de antígeno reconocido por las células T.

⁹⁴ Abbas, op.cit. *Cellular and...*

Las moléculas del MHC se codifican en el brazo corto del cromosoma 6 en el locus denominado MHC, que es un grupo de genes que se dividen en tres clase I, clase II y clase III. Los genes de las regiones clases I y II codifican para glucoproteínas de superficie celular estructuralmente similares, que participan en la presentación del antígeno a las células T. La clase III constituye un grupo variado de proteínas incluyendo varios componentes del sistema de complemento y moléculas envueltas en la inflamación.⁹⁵

3.6 Autoinmunidad

Una de las propiedades cardinales del SI es la capacidad de discriminar entre los antígenos propios y extraños. De este modo los linfocitos maduros competentes son capaces de reconocer y responder a los antígenos extraños pero no a los antígenos propios. Esta propiedad destacable es única del sistema inmune específico, como todas las otras células y moléculas implicadas en la homeostasis, la defensa del huésped y la inflamación no distinguen entre lo propio y lo extraño.

La falta de respuesta del SI a la estimulación antigénica se llama se llama **tolerancia inmunitaria** entendiendo por esta más específicamente como el resultado de la interacción de los antígenos con los receptores antigénicos de los linfocitos bajo condiciones en las que éstos no se activan sino que mueren o pierden la capacidad de respuesta. Los antígenos que inducen tolerancia se llaman tolerógenos, para distinguirlos de los inmunógenos, que generan respuestas inmunitarias. La tolerancia frente a los antígenos propios (autotolerancia) es una propiedad fundamental del SI y su pérdida produce enfermedades autoinmunitarias.

Los **mecanismos** responsables de la inducción y mantenimiento de la **tolerancia** linfocitaria son importantes por las siguientes razones: 1.- la tolerancia frente a antígenos propios protege al individuo de reacciones autoinmunitarias peligrosas. 2.- la exposición de un individuo a antígenos extraños de una forma particular, puede conducir a la tolerancia, y a la pérdida

⁹⁵ Stites. op. cit. pags. 35, 75, 76, y 77

posterior de la capacidad de responder frente a los mismos. 3.- un equilibrio entre la activación y la tolerancia linfocitaria pueden influir en la magnitud de las respuestas inmunitarias específicas. 4.- en el momento actual se están probando métodos de inducción selectiva de tolerancia frente a antígenos definidos, para el tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias y alérgicas, y para evitar el rechazo de órganos transplantados.⁹⁶

La necesidad de mantener la tolerancia frente a los antígenos propios se denomina autotolerancia. 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 antígenos propios.

Existen varios factores que pueden desencadenar enfermedades autoinmunes; como 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 el 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 la primera es que las células T CD4⁺ cooperadoras son reguladoras importantes de todas las respuestas inmunitarias frente a antígenos, y segunda, varias enfermedades autoinmunes están ligadas al nivel genético con el MHC. También la producción excesiva o desequilibrada de citocinas pueden 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.⁹⁷

⁹⁶ Abbas. *op.cit.* pags. 234 y 424

⁹⁷ Paul, Wiññiam. *Fundamental Immunology*.

Existen diversas enfermedades consideradas como autoinmunes o al menos con un componente de tipo autoinmune, tal es el caso del lupus eritematoso sistémico (LES), la enfermedad de Graves, la miastenia gravis o la esclerosis múltiple entre otras. La esclerosis múltiple es una afección inflamatoria desmielinizante del SNC en la que se ha reportado la existencia de una respuesta autoinmune contra el principal constituyente de la mielina, la MBP. La encéfalomielitis autoinmune experimental (EAE, del inglés experimental autoimmune encephalomyelitis) es uno de los modelos experimentales de la esclerosis múltiple en ratas y ratones. Esta enfermedad neuro-inflamatoria puede ser inducida en estos animales, sensibilizando al SI con tejido o proteínas del SNC capaces de inducir dicha enfermedad (proteínas encefalitogénicas) como la MBP, en adyuvante completo de Freund.⁹⁸

3.7 Autoinmunidad Protectora

El objetivo es lograr la estimulación de una respuesta autoinmune para lograr así, la autoinmunidad protectora por medio de diversas estrategias. Algunos estudios han demostrado que la transferencia pasiva de células T específicas para el auto-antígeno Proteína Básica de la Mielina (MBP del inglés Myelin Basic Protein) reduce el daño neuronal después de una LTME en roedores, más aún se ha sugerido que en el proceso de protección participan importantemente linfocitos T de la estirpe reguladora CD4⁺ CD25⁺. Estas investigaciones demuestran que es posible 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 pueden 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.⁹⁹

⁹⁸ Revesz, T. *A comparison of the pathology of primary and secondary progressive multiple sclerosis.* / Wood, P. L. *Neuroimmune mechanisms in the treatment of multiple sclerosis. Neuroinflammation.*

⁹⁹ Hauben, E. et al. *Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion.* / Yoles, E. et al. *Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma.*

La autoinmunidad protectora induce al cambio de fenotipo (patrón de citocinas de Th1 a Th2); a la estimulación de las células de la microglía sobre la expresión de moléculas del MHC clase II, activación de linfocitos T; secreción de Interferon γ .

3.8 A-91

La inmunización activa con derivados no encefalitogénicos de péptidos asociados a la mielina como el péptido alterado denominado "A91" [derivado de la MBP (aminoácidos 87-99) pero con un reemplazo en la posición 91 de una lisina por una alanina] puede similarmente reducir la degeneración secundaria de neuronas y promover una mejor recuperación motora en animales con LTME.¹⁰⁰

Los linfocitos T responden exclusivamente a antígenos protéicos. A diferencia de las inmunoglobulinas, el TcR no reconoce antígenos sino la combinación de un péptido con una molécula propia del MHC en la superficie de una CPA. El TcR reconoce simultáneamente el péptido inmunogénico y la molécula del MHC. Las moléculas clase I presentan primordialmente péptidos derivados de proteínas sintetizadas por la propia célula (endógenas), como virales tumorales o propios, así, los linfocitos TCD4⁺ reconocen péptidos asociados a moléculas clase II, mientras que los linfocitos TCD8⁺ responden a péptidos unidos a moléculas de clase I del MHC. Buscar repetición inmediata

La presencia de aminoácidos diferentes en la región reconocida por el TcR, sin que modifiquen su capacidad de unión al MHC, puede resultar en un cambio en el patrón de citocinas, en anergia, o en ausencia de reconocimiento. En los dos primeros casos se consideran como agonistas parciales, mientras que el último es un antagonista.¹⁰¹ Por lo tanto, el A-91 actúa a éste nivel como agonista parcial porque cambia el patrón de citocinas de Th1 a Th2.

¹⁰⁰ Moalem, G. et. al. *Autoimmune T cells Protect neurons from secondary....*/ Hauben. op. cit. / Kipnis, J. et al. *Neuronal survival after CNS insult is...* Yoles, E. *Protective autoimmunity is...*

¹⁰¹ Moreno, José. Respuesta inmune y mecanismos de autoinmunidad. p. 28-49

La inmunización activa con péptidos no-encefalitogénicos ha originado resultados muy alentadores en ratas con LTME,¹⁰² sin embargo aunque rápida, la respuesta inducida por esta inmunización se desarrolla aproximadamente en un término de 4 a 5 días lo cual significa que la autoinmunidad protectora está actuando sobre mecanismos que toman parte después de la etapa aguda de la lesión, por tanto algunos mecanismos que destruyen el tejido neural (i.e. lipoperoxidación) no están siendo inhibidos desde el inicio de la cascada. Por tal razón consideramos que la recuperación neurológica podría mejorarse si se combina la inmunización activa con un tratamiento que proteja el tejido neural inmediatamente después de la lesión.¹⁰³

3.9 Glutathione

Después de una LTME se incrementa la producción de radicales libres originando estrés oxidante. Bajo estas condiciones se desencadena el fenómeno de lipoperoxidación que daña las membranas celulares, lo cual se ha sugerido que puede llevar a la degeneración celular postraumática. Así, numerosos estudios han evaluado el uso de diversos agentes farmacológicos para inhibir el estrés oxidante.

El glutatión (GSH), el mayor tiol no proteínico de las células de los mamíferos, está implicado en muchas funciones celulares. Este tripéptido (g-glutamyl-L-cisteinyl-glicina) juega un papel central en la protección de las células frente a los radicales libres, frente a intermediarios reactivos del oxígeno y frente a electrófilos, y por tanto también en la determinación de la sensibilidad de las células a la radiación y a la citotoxicidad inducida por drogas. El glutatión existe en dos formas, reducido (GSH) y oxidado (GSSG), en equilibrio. Como el GSH es fácilmente oxidado, la acetilación del grupo tiol estabiliza la molécula aumentando su biodisponibilidad *in vivo*. En lo que respecta al sistema inmune, algunas funciones de las células T pueden ser potenciadas *in vivo* mediante la administración de GSH.¹⁰⁴

¹⁰² Hauben, E. *Postramatic therapeutic Vaccination with modified myelin self-antigen prevents...*

¹⁰³ Ibarra, Antonio. *Adverse effects of methylprednisolone on protective vaccination after spinal cord injury: a call for reassessment of therapy.*

¹⁰⁴ Meister, A. *Metabolism and function of glutathione.*

Varios mecanismos pueden estar implicados en lo que respecta a los sistemas de transporte de la membrana para el GSH. El glutatión es liberado por el hígado al plasma sanguíneo y a la bilis. El glutatión plasmático es usado por muchos tejidos (riñón, pulmón, cerebro) sin embargo, el glutatión en sí mismo no es significativamente transportado a la mayoría de las células de estos tejidos, sino que es descompuesto por las g-glutamyl transpeptidasa y dipeptidasa insertas en la membrana, los productos de la descomposición son transportados y utilizados para la síntesis de glutatión. Los niveles de glutatión intracelular pueden ser aumentados mediante la administración de ésteres de glutatión, los cuales (en contraste con el glutatión) son bien transportados al interior de muchos tipos de células y divididos para formar glutatión.¹⁰⁵

El glutatión como antioxidante a partir de su grupo sulfidril dona electrones para estabilizar las moléculas de las membranas cuando son atacadas por el ión hidroxilo y óxido nítrico. En la fosforilación oxidativa, el paso de electrones ocasiona la formación de radicales libres, favorece la mitosis debido a que no permite el daño oxidativo de la célula. En lo que respecta al sistema inmune el glutatión contribuye a la diferenciación de las células T y B, CD4, respuesta proliferativa de células T por estimulación mitogénica, activación de CD8, síntesis de DNA y metabolismo de interleucina 2.

Los ésteres son sales orgánicas de los ácidos carboxílicos como el etanoato de etilo. Según estudios recientes, sugieren que los ésteres de glutatión pueden funcionar como potenciales transportadores de la entrega de GSH. Los ésteres parecen ser vehículos efectivos de entrega de GSH; sin embargo, existe la desventaja de que todos alcoholes de rendimiento *en vivo*, cuando sus bonos de éster se rompen, no se garantiza su rendimiento en el largo plazo.¹⁰⁶

Los mono-ésteres de glutatión del grupo de carboxilos de glicina son agentes transportadores de glutatión celulares, porque mediante ellos son transportados rápidamente dentro de las células. En contraste, el glutatión por sí sólo no se transporta eficazmente a las células. Los procedimientos para la

¹⁰⁵ Barbara, Donnerstag. *op.cit.* p. 5

¹⁰⁶ Parris, Kidd. *Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage.* p. 171

preparación de los esteres del glutatión y el alcohol correspondientes se usa cloruro de hidrógeno o el ácido sulfúrico como catalizadores.¹⁰⁷ El glutatión monoetil ester se transporta eficazmente en el fluido cerebroespinal.¹⁰⁸

Por lo tanto, este estudio fue diseñado para trabajar con glutatión monoetil ester (GSH-MEE). Otros estudios demuestran que este compuesto al ser administrado en ratas y con el objetivo de medir su disposición en el hígado, se observó que el GSH no se transporta eficientemente al hígado, pero es hidrolizado por el ester en el plasma y así gradualmente se libera el GSH-MEE en el espacio del extracelular.¹⁰⁹

En otro estudio se analizaron tejido y muestras del plasma para conocer la concentración de GSH a las 2 y 4 horas después de la administración de la droga. El hígado, riñón, y mucosa del ileal de glutatión incrementó significativamente en las ratas tratadas con GSH-monoetil ester comparadas con los animales tratados con dextrosa. Además, GSH plasmático aumentó dramáticamente después de la inyección del monoester. Los esteres del monoetil de glutatión pueden ser usados en vivo para reforzar al tejido y la concentración de plasma de GSH. La provisión de monoester de GSH puede prestar apoyo adicional a órganos que están en riesgo de lesión por radicales libres de oxígenos durante los estados catabólicos.¹¹⁰

¹⁰⁷ Anderson, ME; Meister, A. *Glutathione monoesters*

¹⁰⁸ Anderson, ME; Underwood, M; Bridges, RJ; Meister, A. *Glutathione metabolism at the blood-cerebrospinal fluid barrier.*

¹⁰⁹ Grattagliano, I. et al. *Disposition of glutathione monoethyl ester in the rat: glutathione ester is a slow release form of extracellular glutathione.*

¹¹⁰ Robinson, MK. et al. *Parenteral glutathione monoester enhances tissue antioxidant stores.*

Capítulo 4. Objetivos, Metodología y Diseño Experimental

4.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto neuroprotector ofrecido por A-91 en combinación con glutatión monoetil ester, contra el ofrecido por A-91 y glutatión monoetil ester administrados de manera independiente.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto sobre la recuperación motora y el número de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo de ratas tratadas con glutatión monoetil ester.
- Evaluar el efecto sobre la recuperación motora y el número de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo de ratas tratadas con un péptido neural modificado (A-91).
- Evaluar el efecto sobre la recuperación motora y el número de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo de ratas tratadas con estrategia de combinación de glutatión monoetil ester más A-91.

4.3 HIPOTESIS

Los animales con lesión traumática de la médula espinal, tratados con la estrategia de combinación (glutatión monoetil ester GSH-MEE más A-91) tendrán mejor recuperación motora y mayor número de neuronas sobrevivientes en el núcleo rojo, que los animales tratados con A-91 o glutatión por separado.

4.4 MATERIAL Y METODOS

Población objetivo

Se utilizaron 40 ratas Sprague Dawley (su autoinmunidad protectora se desarrolla de manera más eficiente) divididas en 4 grupos de 10 sujetos; hembras de 12 a 15 semanas de edad y con un peso entre 220 - 280 g.

Tamaño de la muestra.- se utilizaron 10 ratas por cada grupo, el tamaño de la muestra se calculó mediante el método de Tang segunda variante

4.5 Diseño Experimental

Grupo 1: Ratas con LTME + Vehículo

Grupo 2: Ratas con LTME + inmunización activa (A-91)

Grupo 3: Ratas con LTME + administración de GSH-MEE

Grupo 4: Ratas con LTME + inmunización activa + administración de GSH-MEE.

Las lesiones se llevaron a cabo mediante el Impactador de la Universidad de Nueva York (NYU), previa laminectomía, obteniéndose así un modelo por contusión con intensidad moderada.

Veinte minutos después de realizar la LTME a los 4 grupos de ratas; se aplicó una dosis del inmunógeno, el antioxidante y su combinación a cada grupo; para posteriormente evaluar el efecto de la terapia que podrían originar diferentes condiciones propias de la respuesta al trauma. La aplicación de inmunógeno se llevó a cabo por vía intradérmica en la base de la cola a una dosis de 100 µg totales. El GSH- MEE se aplicó vía intraperitoneal, un total de 2.5 mg. por individuo divididos de la siguiente manera:

20 minutos	4 horas	10 horas	20 horas
1mg	0.5mg.	0.5 mg	0.5mg

A los animales del grupo testigo se les aplicó un emulsificado de CFA (adyuvante completo de Freud) + PBS (Solución Amortiguadora de Fosfatos) vía intradérmica y solución salina fisiológica vía intraperitoneal siguiendo el esquema de aplicación del glutatión.

En todos los casos los animales se estudiaron por un periodo de 90 días, tiempo suficiente para conocer el efecto del tratamiento a nivel clínico y morfológico.¹¹¹

4.6 Técnicas

Lesión incompleta de la médula espinal.

Las ratas se anestesiaron mediante la inyección intramuscular de una mezcla de clorhidrato de xilazina (10mg/kg) y ketamina (50 mg/kg). Diez minutos después de dicha inyección y previa asepsia de la región toracolumbar, se realizó un corte longitudinal y una laminectomía a nivel de la **novena** vértebra torácica hasta exponer la médula espinal. Posteriormente pasados 30 minutos se llevó a cabo la LTME mediante una contusión; se dejó caer un cilindro de 10g de una altura de 25 mm (lesión moderada) en 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.¹¹² El daño origina inflamación y destrucción del tejido de la médula espinal, así como pérdida parcial de la actividad motora en las extremidades posteriores del 100% de los animales.

Inmunización activa

Las ratas fueron inmunizadas mediante una inyección intradérmica, en la base de la cola, con A91 el cuál se preparó de la siguiente manera 150 ug de A-91 (polvo) diluidos en 150 ul de PBS (Vehículo) emulsificados en 150 ul de adyuvante de Froid, conteniendo 1mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis*

¹¹¹ Hauben. *Passive or active immunization...*

¹¹² Young, W. *Spinal cord regeneration.*

Preparación del antioxidante

Se diluyeron 2.5 mg de glutatión en 0.8 mL de solución fisiológica, de la cual se aplicaron por vía intraperitoneal 0.2 mL a los 20 minutos y a las 4, 10 y 20 hrs. después de la lesión.

Cuidados postoperatorios

Después de aplicarse el inmunógeno, el antioxidante y su combinación; los animales fueron colocados por grupos en cajas de poliestireno asépticas con una cama de viruta de madera estéril. Cada caja contenía un par de ratas. Las cajas fueron resguardadas en un cuarto aséptico a una temperatura de 25°C. Durante los primeros 30 días los animales recibieron asistencia manual para lograr evacuar el intestino y la vejiga neurogénicos, dos veces por día; más adelante se les asistió las veces necesarias mientras recuperaban su automatismo. Algunas ratas se rehidrataban con una solución salina a 6 ml., en algunos casos los animales no mostraban recuperación y se les proporcionaba 1 ml de glucosa. Hasta el momento en que los animales podían beber y comer por sí mismos, se les suministró diariamente 200 ml. de agua purificada y 200 mg. de alimento especial para roedores. Mezclada en el agua purificada se administraron 0.5 ml de enroflaxicina por 1 ml de paracetamol, a modo de antibiótico y anti-inflamatorio y analgésico respectivamente. En el área de lesión se le aplicó Isodine como antiséptico. La mayoría de las ratas presentaron abscesos a nivel cutáneo superficial en la zona de la herida; en algunos casos estos abscesos se infectaron por lo que se les trató mediante la limpieza de la zona con fomentos de agua purificada tibia y pomada Argentafile.

Marcaje retrogrado de las neuronas del núcleo rojo

Tres meses después de la lesión, 4 animales de cada grupo (seleccionados al azar) fueron re-anestesiados, se realizó una sección completa de la médula espinal a nivel de T12 y se aplicó en ese sitio el marcador Dextran-rodamina. Después de 5 días, las ratas fueron nuevamente anestesiadas y decapitadas; el cerebro se procesó para realizar cortes por

congelación de 25 micras a nivel del núcleo rojo. Los cortes fueron analizados para cuantificar el número total de neuronas de la región magnocelular (neuronas de mayor tamaño en el núcleo rojo). El promedio de ambos núcleos rojos en cada animal es el que se consideró para realizar las comparaciones entre los diferentes grupos.

4.7 Métodos de evaluación

Evaluación clínica

Se realizó cada 7 días desde el inicio hasta el final del estudio, mediante la utilización de la escala de habilidad locomotora a campo abierto BBB donde la recuperación se califica en una escala de 0 (parálisis completa) a 21 (movilidad completa).¹¹³

ESCALA BBB

- 0.- No se observan movimientos en patas traseras (PT)
- 1.- Movimiento limitado (arco < 50 %) de una o dos articulaciones, usualmente cadera y/o rodilla.
- 2.- Movimiento amplio (arco > 50 %) de una articulación con o sin movimiento limitado de la otra.
- 3.- Movimiento amplio de dos articulaciones.
- 4.- Movimiento limitado de las tres articulaciones de PT (cadera, rodilla y tobillo).
- 5.- Movimiento limitado de dos articulaciones y amplio de la tercera.
- 6.- Movimiento amplio de dos articulaciones y limitado de la tercera.
- 7.- Movimiento amplio de las tres articulaciones de PT (cadera, rodilla y tobillo).
- 8.- Movimientos rítmicos (coordinados) de ambas PT sin soporte de peso o colocación de la planta pero sin soportar peso.
- 9.- Colocación plantar con soporte de peso cuando no esta caminando o pasos ocasionales (< o = al 50 %), frecuentes (51 % a 94 %), o constantes (95 % a 100 %) con soporte de peso dorsal, sin apoyo plantar.
- 10.- Pasos ocasionales con soporte de peso plantar, sin coordinación entre patas delanteras (PD) y PT.
- 11.- Pasos frecuentes o constantes con soporte de peso plantar, sin coordinación entre PD y PT.
- 12.- Pasos frecuentes o constantes con soporte de peso plantar y coordinación ocasional entre PD y PT.
- 13.- Pasos frecuentes o constantes con soporte de peso plantar y coordinación frecuente entre PD y PT.
- 14.- Constantemente da pasos con soporte de peso plantar, coordinación constante entre PD y PT, y hay rotación interna o externa de la pata, principalmente al hacer contacto con el piso o al despegar. También pasos plantares frecuentes, coordinación constante entre PD y PT y pasos dorsales ocasionales.
- 15.- Pasos plantares y coordinación entre PD y PT constantes. No separa los dedos o solo ocasionalmente cuando avanza la pata hacia delante. Al hacer contacto con el piso predomina la alineación paralela de la pata al cuerpo.
- 16.- Pasos plantares y coordinación entre PD y PT constantes durante la marcha. La separación de los dedos ocurre frecuentemente cuando avanza la pata hacia delante. Al hacer contacto con el piso predomina la alineación paralela de la pata al cuerpo, pero la rota al levantarla.
- 17.- Lo mismo pero al levantar la pata la mantiene alineada (sin rotar).
- 18.- La separación de los dedos es constante durante la marcha. Al hacer contacto con el piso predomina la alineación paralela de la pata al cuerpo, pero la rota al levantarla.
- 19.- Pasos plantares y coordinación entre PD y PT constantes durante la marcha. La separación de los dedos ocurre constantemente durante la marcha. Al hacer contacto con el piso y levantar, predomina la alineación paralela de la pata al cuerpo. Arrastra la cola parte o todo el tiempo.
- 20.- Pasos plantares, marcha coordinada y separación de dedos constantes. Al hacer contacto con el piso y levantar, predomina la alineación paralela de la pata al cuerpo, cola levantada constantemente e inestabilidad del tronco.
- 21.- Igual pero tronco constantemente estable.

¹¹³ Basso, D.M. et.al. *A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats.*

La **recuperación motora** es la capacidad que presente el animal para mover y apoyar sus extremidades posteriores. Se calificó con la escala BBB y se reportó en porcentaje de eficiencia para desarrollar la prueba tomando como 100% la calificación promedio obtenida por ratas sin lesión de la médula espinal.

Evaluación morfológica

Al final del estudio se marcaron en forma retrógrada las neuronas del núcleo rojo¹¹⁴ mediante la aplicación del neurotrazador dextran-rodamina por abajo del sitio de lesión (T12) y se comparó el número de células marcadas (vivas) entre los diferentes grupos. Se contaron las neuronas que sobrevivieron en cada núcleo rojo y se obtuvo el promedio por animal y por grupo.

Células neuronales sobrevivientes en el núcleo rojo

Se consideró como neurona sobreviviente después de la lesión, a aquella que se tiña con el neurotrazador dextrán rodamina, y que presente núcleo íntegro después de haber sido colocado el neurotrazador en una región de la médula espinal caudal al sitio de lesión (T12).

Método estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de todos los grupos y se verificó la distribución de los datos bajo la curva de normalidad. Se aplicó la prueba estadística paramétrica de análisis de varianza. La distribución fue normal por lo que se aplicó una ANOVA de medidas repetidas $p < 0.05$.

¹¹⁴ Hauben. *Passive or active immunization...*

Capítulo 5. Resultados, Discusión y Conclusión

5.1 Evaluación Clínica

Al llevar a cabo la evaluación de la locomoción mediante la escala propuesta por BBB se observó que las ratas tratadas con la combinación (A-91+ GSH-MEE.) presentaron una recuperación significativamente mejor a la de los demás grupos; desde las primeras semanas ($p < 0.05$ ANOVA de medidas repetidas) (Gráfico 1).

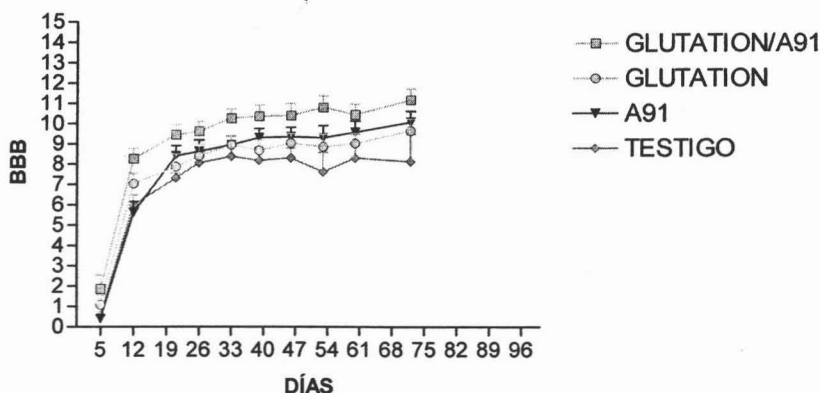


Gráfico 1. Evaluación motora en la escala BBB

AL final del estudio también se analizó en cada grupo el porcentaje de animales capaces de soportar el tren posterior (calificaciones 9 o más en la BBB), donde el 100 por ciento de los animales del grupo tratado con combinación y los del grupo con A-91 logró llevarlo a cabo, mientras que para los animales con Glutación fue un 70 por ciento y para los testigos sólo el 40 por ciento (Gráfico 2).

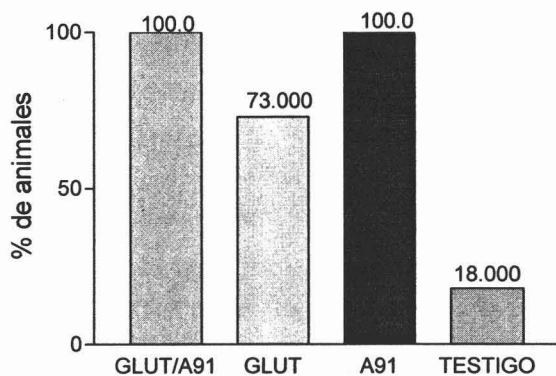


Figura 2. Capacidad de levantar el tren posterior

Se puede observar también que la capacidad de las ratas tratadas con la combinación fue mayor cuando se evaluó, además de sostener el tren posterior (calificación de 9 en la escala de BBB); la capacidad de dar pasos y caminar sin caer (calificaciones de 10-12 en la BBB). Los grupos con tratamiento simple también fueron capaces de levantarse y dar pasos, aunque con menor eficiencia que el grupo de combinación. Todos los grupos tratados fueron significativamente superiores al testigo ($p < 0.05$ ANOVA de medidas repetidas). (Gráfico 3)

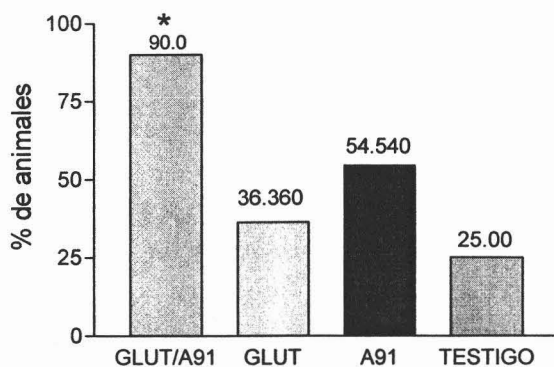


Gráfico 3. Porcentaje de animales capaces de dar pasos

5.2 Evaluación morfológica

En el conteo de las células sobrevivientes después de una lesión, se observó que los animales del grupo de combinación presentaron una sobrevida superior (192.3 ± 15.01 , $p < 0.05$ ANOVA) a los demás grupos, seguida por A-91 (131 ± 14.6) glutation (128 ± 32.1) y por último el testigo (62.4 ± 26.3) (Grafico 4). Lo anterior correlaciona ($r=0.87$) con las calificaciones obtenidas en la BBB. (Gráfico 5).

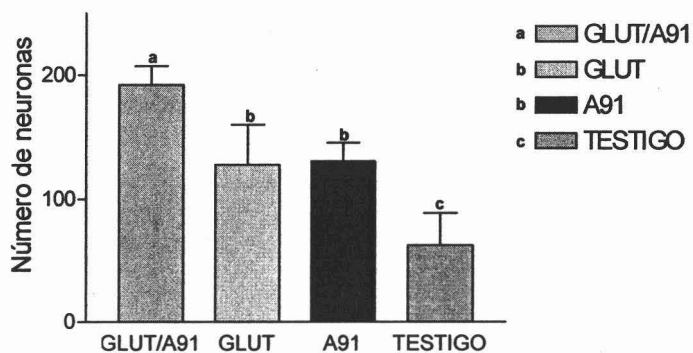


Gráfico 4. Sobrevida de neuronas en el núcleo rojo.

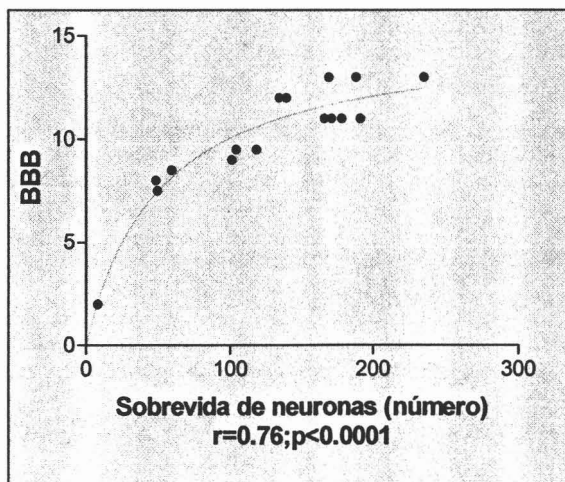


Gráfico 5. Correlación entre sobrevida de neuronas y evaluación motora (BBB).

5.3 Discusión

Una vez que se realizaron las observaciones y pruebas de locomoción posteriores a la lesión traumática y después de la cuantificación de sobrevida de neuronas en el núcleo de rojo; se pudo observar que los grupos de ratas tratadas con el inmunógeno y con el antioxidante por separado manifestaron mejoría, ya que fueron capaces de levantarse y dar algunos pasos en comparación con el grupo testigo que no recibió tratamiento. Sin embargo, el grupo que recibió la estrategia de combinación (A-91+GSH-MEE) presentó desde las primeras semanas, una recuperación significativa ya que fueron capaces de levantar el tren posterior y dar pasos con mayor eficacia.

Como se ha descrito, después de una LTME se incrementa la producción de radicales libres originando estrés oxidativo. Bajo estas condiciones se desencadena el fenómeno de lipoperoxidación que daña las membranas celulares, lo cual se ha sugerido que puede llevar a la degeneración celular postraumática.¹¹⁵

Con base en los resultados se puede observar que el uso de glutatión monoetil ester colabora eficientemente en la limitación de los daños causados en la zona de lesión medular. Esto probablemente debido a que el GSH-MEE tiene la facilidad y la capacidad de donar electrones, ligado al grupo sulfidrido. En su fase líquida es un importante antioxidante y cofactor esencial para las enzimas antioxidantes (glutatión reductasa, peroxidasa y transhidrogenasas); provee también protección para la mitocondria, ya que su agotamiento puede ser el último factor que determina la vulnerabilidad al ataque del oxidante y contra los radicales libres del oxígeno. Esta alta capacidad de donación de electrones y su alta concentración intracelular que provee con gran poder reductor, es usado para regular el sistema complejo de cambio del tiol. Esto funciona a cada nivel de la actividad de la célula.¹¹⁶

¹¹⁵ Art. Díaz Ruiz, Araceli. op cit. p. 445.

¹¹⁶ Parris, Kidd. *Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage*. p. 155, 165. Thorne Research, Inc.

En la mitocondria de células aeróbicas, es inevitable la generación de los procesos que utilizan oxígeno para hacer ATP. Este sistema complejo de las rutas de enzimas por la cual cada mitocondria usa oxígeno para romper los enlaces del carbono-carbono y produce ATP es llamado fosforilación oxidativa (OxPhos). Cuando los sustratos de OxPhos se procesan en la mitocondria, invariablemente escapan los electrones solos, fugándose del complejo de OxPhos para reaccionar con oxígeno de ambiente y generar radicales libres de oxígeno.¹¹⁷

El glutatión juega un papel central en la protección de las células frente a los radicales libres, frente a intermediarios reactivos del oxígeno y frente a electrófilos. Algunas funciones de las células T pueden ser potenciadas en vivo mediante la administración de GSH. Incluso reducciones parciales de GSH intracelular mostraron consecuencias dramáticas en la formación, proliferación y generación de células T citotóxicas.¹¹⁸

La proliferación, el crecimiento, y diferenciación de células inmunes son dependientes del GSH. Ambas células las T y los linfocitos B requieren los niveles adecuados de GSH intracelular para diferenciarse, y los humanos sanos con linfocitos relativamente bajos en GSH se encontraron que tenían conteos significativamente bajos de CD4. El GSH intracelular se requiere también para la respuesta proliferativa de células T para la estimulación mitogénica, para la activación de células citotóxicas T asesinas naturales y para muchas funciones de las células T específicas, inclusive la síntesis del ADN para la replicación celular, así como para el metabolismo de interleucina-2 el cual es importante para la respuesta mitogénica.¹¹⁹ De esta manera, el glutatión podría estar potenciando la actividad de la autoinmunidad protectora.

Los animales tratados con A-91 mostraron una recuperación estadísticamente similar a los animales sometidos al tratamiento con glutatión. Varios estudios han demostrado que la estimulación del SI mediante inmunización activa o pasiva con péptidos neurales derivados de la MBP,

¹¹⁷ Ibidem. p.160.

¹¹⁸ Art. Donnerstag, Barbara, et.al. *Glutatión reducido y s-acetil glutatión como agentes selectivos inductores de la apoptosis en la terapia del cáncer*. P. 2

¹¹⁹ Parris, Kidd. op. cit. p.165

reduce el daño neuronal después de una lesión incompleta de la médula espinal.¹²⁰ Algunas investigaciones muestran que las células T activadas contra la MBP confieren neuroprotección contra una degeneración secundaria en lesiones por contusión de la ME al estimular al astrocito en la captación de glutamato que es un aminoácido que normalmente funciona como neurotransmisor pero que en altas concentraciones se vuelve peligroso y puede causar desordenes crónicos degenerativos y hasta la muerte neuronal. La activación de las células T al ser estimuladas por su antígeno específico, incrementa la actividad de las células de la microglia mediante la liberación de INF γ , mismo que promueve la expresión de una gran cantidad de transportadores para glutamato no solo en dichas células sino también en la membrana astrocítica. Así, se facilita la remoción de glutamato y con ello la exitotoxicidad del tejido dañado.¹²¹ Bajo condiciones de alto estrés, la microglia puede migrar hacia el sitio dañado y actuar como CPA o como células potencialmente capaces de remover materiales perjudiciales pudiendo de esta forma interactuar.¹²²

Por otro lado, el INF γ también incrementa la expresión de las moléculas del MHC clase II en las células de la microglia, fenómeno que puede incrementar la interacción entre dichas células y los linfocitos Th1 que son los que de acuerdo a algunos reportes promueven la protección neuronal después de una LTME. El A-91 es un derivado de la MBP y por lo tanto sugerimos que activa como un péptido agonista parcial a los linfocitos anti-MBP, regulando de alguna forma la activación exagerada de los linfocitos anti-MBP. Algunos estudios indican que la inmunización con A-91 cambia el fenotipo de Th1 a Th2 (linfocitos reguladores), evento que de alguna forma regula la activación exagerada de los Th1 y de esta manera evita el efecto destructor de éstos últimos.¹²³

¹²⁰ Hauben. *Passive or active immunization...*

¹²¹ Schwartz, Michal. *Protective autoimmunity againsts the enemy within: fighting glutamate...* p. 300

¹²² *Ibidem*. P. 299

¹²³ Kipnis, Jonathan, et al. *Myelin specific Th1 cells are necessary but not sufficient for post-traumatic protective autoimmunity*. p.2

La estrategia de combinación promueve una mejor recuperación motora y de sobrevivencia de neuronas en comparación con la administración por separado del glutatión y el A-91. El presente trabajo valida la utilización de una terapia de combinación donde la activación de la respuesta autoinmune protectora más la administración de GSH-MEE promueven una mejor recuperación motora y sobrevivencia de neuronas. Ya que esta terapia podría ser de gran utilidad a nivel clínico, es importante la realización de más estudios que nos permitan conocer mejor los efectos de esta terapia.

Consideraciones éticas

Para la realización del presente proyecto, se tomaron en cuenta los lineamientos establecidos por el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud (Título séptimo: De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación).¹²⁴

5.4 Conclusiones

1.- El uso del glutatión monoetil ester favorece la recuperación motora y sobrevivencia de neuronas en el núcleo rojo en ratas con lesión traumática de la médula espinal. Adicionalmente la estimulación de la autoinmunidad protectora por medio del péptido neural modificado A-91, favorece la recuperación motora y sobrevivencia de neuronas en el núcleo rojo en ratas con lesión traumática de la médula espinal.

2.- El uso de la combinación del glutatión monoetil ester con la estimulación de la autoinmunidad protectora fue la estrategia más efectiva sobre la recuperación motora y la sobrevivencia de neuronas en el núcleo rojo en ratas con lesión traumática de la médula espinal.

3.- Es necesario continuar con los estudios referentes a éste trabajo para su aplicación clínica.

¹²⁴ Ley General de Salud. Título Séptimo: *De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación*. p. 430-431.

BIBLIOGRAFIA

Libros.

Abbas, Abul. et al. *Cellular and Molecular Immunology*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA. 2000. 533 pp.

Abbas, Abul. et al. *Inmunología Celular y Molecular*. Interamericana McGraw- Hill. Madrid, España. 1995. 517 pp.

Alvares del Villar Jose. *Anatomía comparada Básica*. Edit. Trillas. 1988.

Barne, Robert. *Fisiología*. Times Mirror. España. 689 pp.

Cardinali, Daniel. *Manual de Neurofisiología*. Días de Santos, S.A. 1992

Carpenter, Malcolm. *Neuroanatomía Fundamentos*. Editorial Médica Panamericana. 1994. Buenos Aires, Argentina.

Diccionario *Medicobiológico University*. Editorial Interamericana S.A. 1966. D.F. México. 1501 pp.

Ganong, William. *Fisiología Médica*. Ed. Manual Moderno. 2002

Goldsby, Richard. *Kuby Immunology*. W. H. Freeman and Company. New York, USA. 2000. 670 pp.

Goodman, A y Gilman M.D. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 9ª Edición Mc Graw-Hill. Interamericana. 1996.

Guyton, Arthur. *Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso*. Editorial Médica Panamericana. 1989. Bs.As.

Lopez Antúnez, Luis. *Anatomía Funcional del Sistema Nervioso*. 1983. Limusa. 784 pp

Moreno, José. *Respuesta inmune y mecanismos de autoinmunidad*. 1ª edición, Noriega Editores. México D.F. 1996. 112 pp.

Murria, Barr. *El sistema nervioso humano: un punto de vista anatómico*. Edit. Harla. 1975.

Navarro, T., Henriquez, D. *Aspectos fisiopatológicos de la neuroprotección: en busca del tiempo perdido*. Cuadernos de neurología. Vol. XXIV -2000.

Nemirovsky, Mario; Homberg, Jean Claude. *Fundamentos de inmunología bases estructurales, fisiológicas y fisiopatológicas de la respuesta inmune*. 2003. Trillas S.A.

Page, Curtis. et al. *Farmacología Integrada*. Ed. Hargourt Blace. 1998.

Paul, Wiññiam. *Fundamental Immunology*. Lippincott – Raven New York, USA. 1999. 1589 pp.

- Purves, D. et. al. *Neuroscience*. Sinauer Associates, Inc. USA. 681 pp.
- Quiros, Fernando. *Anatomía humana*. Edit. Porrúa, 1975.
- Rodney A. R. y cols. *Fisiología Medica*. Masson-little, Brawn. Barcelona, España. 1997. 974 pp.
- Roitt, Ivan. *Inmunología Fundamentos*. Editorial Medica Panamericana. Madrid, España. 1998. 497 pp.
- Ronnan, Orahilly. M.D. *Anatomía*. Edit. Interamericana. 1986.
- Russell, Materson. *Myelin: Biology and Chemistry*. CCR-Press USA. 1992, 980 pp.
- Sell Stewart. *Immunology, Immunopatology, and Immunity*. ASM Press Washington DC, USA. 2001. 753 pp.
- Sherwood, L. Human Physiology. Wadsworth Publishing Company, USA. Belmont, 1997. 888 pp.
- Snell S. Richard. *Neuroanatomía Clínica*. Editorial Médica Panamericana. 1999. Bs.As. Argentina.
- Stephen Waltwer Ranson, *Anatomía del Sistema Nervioso*. Interamericana México. 1963.
- Stites, Daniel. *Inmunología Básica y Clínica*. El Manual Moderno. México, D.F. 1998. 1079 pp.
- Stryer, L. *Bioquímica*. Edit. Reverte, Barcelona, 1998.
- Tortora, Gerard., Anagnostakos Nicholas P. *Principios de Anatomía y Fisiología*. Edit. Harla. 1981.
- Walter Ranson Stephen. *Anatomía del sistema nervioso*. Edit. Interamericana. México, 1963.

Artículos

- Anderson, D. K. *Chemical and cellular mediator in spinal cord injury*. J. Neurotrauma. 1992; 9: 143-146.
- Anderson ME; Meister A. *Glutathione monoesters*. Anal Biochem 1989 Nov 15;183(1):16-20
- Anderson, ME; Underwood, M; Bridges, RJ; Meister, A. *Glutathione metabolism at the blood-cerebrospinal fluid barrier*. FASEB J 1989 Nov;3(13):2527-31
- Astrup, J., Siesjo, B.K., Symon, L. *Thresholds in cerebral ischemic penumbra*. 1981; 12: 723-725.

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

Balentine, J.D. *Spinal cord trauma: In search of the meaning of granular axoplasm and vesicular myelin*. J Neuropath exp Neurol. 1988, 47: 77-92.

Baron, J. C. *Mapping the ischemic penumbra with PET: a new approach*. Brain. 2001;124:2-4.

Basso, D.M. et.al. *A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats*. J. Neurotrauma 1995; 12:1-21

Bebedetti, A. Comporti, M., Ester baver, H., *Identification of 4- hidroxyynoneal asa cytotoxic product originating from the peroxidation of liver microsomal lipids*. Biochem Biophys Acta 1984; 742:172-181.

Belentine, J. D. and Paris, D. *Pathology of experimental spinal cord trauma. The lesion as a function of vascular injury*. Lab. Invest: 1978;39:236-253.

Bensel, E.C. *Management of acute spinal cord injury in:* R.H, Rengachary S.S, Eds: Neurosurgery Philadelphia: Williams y Wilkins: 1996; 2861-2866.

Bracken M. B. 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. N Engl. J Med. 1990;322: 1405-1411.

Bracken M. B, Holford T.R. *Effect of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological fuction in NACIS 2* J. Neorossourg. 1993; 79:500-507.

Bredt D.S., Hwang, P.M., Snyder, S. H. *Location of oxide*. Nature 1990; 347:768-770.

Bonorden W. R., Pariza, M. W. *Antioxidant nutrients and protection from radicals in:* Nutritional Toxicology.

Boucher, B. A. Phelps, S. J. *Acute management of the head injury patient In:* Dipiro J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C. Pharmacotherapy : a Pathophysiological Approach. Stamford: Appleton Lange. 1997: 1229-1242.

Bracken MB. et al. *Incididence traumatic hospitalizad spinal cord injury in the United States*. 1970-1977.AMJ Epidemiol. 1981; 113:615-622

Cadet, J. L. *Free radical mechanisms in the central nervous system: An over view int*, J. Neurose. 1988;40:13-18.

Castillo. J. *Bioquímica de la isquemia cerebral*. Neurología. 14, 1999c: (supl 4): 17-23.

Castillo, J. *Fisiología de la isquemia cerebral*. Rev. Neurol 2000; 30: 459-464.

Clark, W.M. Warack, S. J. Pettigrew, L. C. Gammans, R. E., Sabounjian, L. A. For the

Citocoline stroke study group. *A randomized dose response trial of citocoline in acute ischemic stroke patients*, Neurology, 1997; 49: 671-678.

Davis S., Albers G. W., Diener H. C., Lees, K. R., Norris, J. *Termination of acute stroke Studies involving selfotel treatment*: ASIST Steering Committee Lancet. 1997; 349:32.

Dawson, V. L., Dawson T. M. *Free radicals and neuronal cell Death and differentiation*. 1996; 3: 71-78

Díaz Ruiz, Araceli. et. al. *Neuroprotección después de una lesión médula*. Rev Med IMSS 2002; 40 (5). D.F. México.

Donnerstag, Barbara, et.al. *Glutathión reducido y s-acetil glutathión como agentes selectivos inductores de la apoptosis en la terapia del cáncer*. http://members.aol.com/dhelnut52/gluta_esp.html.

Fiskum, G. *Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death*. J. Neurotrauma. 2000; 17: 843-855.

Francel P. C. *Bradkinin and neural injury*. J. Neurotrauma 1992;9suppl. 1:S27-S45.
Popovich, P.G., Wei, P; Stokes B. T. *Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague Dawley and Lewis rats*. 1997; 377:443-464.

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

Grattagliano I, Wieland P, Schranz C, Lauterburg BH. *Disposition of glutathione monoethyl ester in the rat: glutathione ester is a slow release form of extracellular glutathione*. J Pharmacol Exp Ther 1995 Feb; 272(2):484-8.

Guizar, Gabriel. et al. *Neuroprotection of completely lacerated spinal cord of adult rats by homotopic and heterotopic transplantation*. Restor Neurol Neurosci 1994; 7: 61-70.

Hall, E. D. *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

Hauben, E. et al. *Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion*. J. Neurosci. 2000; 20: 6421-6430.

Hauben, E. *Postramatic therapeutic Vaccination with modified myelin self-antigen prevents complete paralysis while avoiding autoimmune disease*. J.Clin. Invest. 2001; 108:591-599.

Heiss, W.D., Graf, R. *The ischemic penumbra* Curr. Opin Neurol. 1994; 7:11-19

Heiss, W.D., Krachtn L.W., Thiel, A., Ground, M., Pawlik, G. *Penumbra probability threshold of cortical flumazenil binding and blood flow predicting tissue outcome in patients with cerebral ischemia*. Brain. 2001; 122: 20-29.

Ibarra, Antonio. *Adverse effects of methylprednisolone on protective vaccination after spinal cord injury: a call for reassessment of therapy*. Enviado a J. Neurotrauma; 2002.

Ikeda Y., Long M. *The molecular basis of brain injury and brain edema: the role of oxygen free radicals*: Neurosurgery. 1990; 8: 977-980.

Kipnis, Jonathan. *et al. Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response*. J. Neurosci. 2001; 21: 4564–4571.

Kipnis, Jonathan. *et al. Myelin specific Th1 cells are necessary but not sufficient for post-traumatic protective autoimmunity*. 2002; Journal of Neuroimmunology 4579. Rehovot, Israel.

Ley General de Salud. Título Séptimo: *De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación*. Editorial Porrúa, 6ª de México, D.F. 1990.

Meister, A. *Metabolism and function of glutathione*. In: Dolphin, D. Poulson, R., Avramovic, O. Glutathione: Chemical, biochemical and medical aspects. New York: John Wiley and sons Inc., 1989: 367-474.

Moalem, G. *et. al. Autoimmune T cells Protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy*. Nat. Med. 1999; 5: 49–55.

Mohr, J.P., Orgogozo, J.M. Hennerici, M. *Metaanálisis of oral nimodipine trials in acute ischemic stroke*. Cerebrovasc Dis. 1994; 4:197-203.

Moncada, S; Higgs, A. *The L-arginine-nitric oxide pathway*. N. Engl J. Med. 1993; 329:2002-2012.

Olsson T., *et al. Gama-interferon-like immunoreactivity in axotomized rat motor neurons*. J. Neurosci. 1989;9:3970-3875

Panter, SS; Yum, SW; Faden AL. *Alteration in extracellular amino acids after traumatic spinal cord injury*. Ann Neurol 1990;27:96-99 D

Parris, Kidd. *Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage*. p. 155, 165. Thorne Research, Inc. 1997. 2; 3:155

Revesz, T. *et al. A comparison of the pathology of primary and secondary progressive multiple sclerosis*. Brain 1994; 117: 759-765.

Robinson MK, Ahn MS, Rounds JD, Cook JA, Jacobs DO, Wilmore DW. *Parenteral glutathione monoester enhances tissue antioxidant stores*. JPEN J Parenter Enteral Nutr 1992 Sep-Oct; 16(5):413-8.

Rosen G. M. *et al. Free radical and phagocytic cells*. FASEB J. 1995; 9:200-209

Schwartz, M., *et al. Innate and adaptive immune responses can be beneficial for CNS repair*. Trends. Neurosci. 1999;22:295-299.

Schwartz, Michal. et al. *Protective autoimmunity againsts the enemy within: fighting glutamate toxicity*. Trends in Neurosciences. Elsevier. 2003; 26:6

Siesjo, B. K. *Calcium- mediated processes in neural degeneration*. Ann New York. Acad Sci. 1994; 747: 140-161.

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

Suwanwela, C., Alexander, E. Jr., Davis C. H., Jr. *Pronosis in spinal cord injyry with special reference to patients with motor paralysis and sensory preservation J. Neurosurg.* 1962; 19:220-227.

Wahlgren, N. G., Ranasinha, K.W., Rosolacci, T. For the (class). *Results of a randomized, controlled trial of clomethiazole versus placebo in 1360 acute stroke patients stroke*. 1999; 30:21-28.

White B.C., Krause G.S., Aust S. D., Eyster G.E., *Posteshemic tissue injury by iron mediated free radical lipidperoxidation ann Emegercy Med.* 1985; 14:804-809.
Wood, P. L.; Chochosky, S; *Inducible microglial nitric oxide synthase: a large membrane pool. Neuroreport.* 1994; 8:977-980.

Wood, P.L. *Neuroimmune mechanisms in the treatment of multiple esclerosis. Neuroinflammation*. 1a Edición, Ed. Humana Press Inc. New Jersey, USA. 1998.

Yoles, E. et al. *Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma*. J. Neurosci. 2001; 21: 3740-3748

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

Young, W. *Spinal cord regeneration*. Science 1996: 273:451

Zentella de Piña M y saldaña Balmori Y. *Papel fisiológico de los radicales libres*. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. 1996

Internet Sitios Oficiales

www.diariomedico.com

www.iladiba.com

www.imss.gob.mx

www.med.uva.es Inmunología

www.mmhs.com *Los Trastornos Neurológicos: Las Lesiones Agudas de la Médula Espinal.*

www.neurocirugiamexicana.org *Programa Mexicano de Prevención de Lesiones Craneomédulares.*

www.umm.edu University of Maryland Medicine

www.uninet.edu

**Solo queda hablar de los animales y su naturaleza.
Hasta lo que podamos, no excluirémos a ninguno
por insignificante que sea; pues aunque hay animales
Que no son atractivos para los sentidos, incluso
para los ojos de la ciencia, para el estudioso que es por naturaleza
de espíritu científico y que puede discernir las causas
de las cosas, la naturaleza que los ha forjado proporciona
Satisfacciones que no tienen precio.**

ARISTÓTELES (*aprox. 330 a C.*)