

# Tratamiento farmacológico de la lesión medular en ratas

Damián Carrillo-Ruiz, Alejandra Galván-Padilla, Ana Paola León-Suárez, Maricarmen Urbán-Ruiz Víquez.

## Resumen

**Introducción.** El primer problema que nos planteamos ante una lesión medular, es procurar que la lesión mejore en lo posible o al menos que no se agrave. En el presente artículo, se expondrán los resultados realizados a partir de la hipótesis formulada, la cual indica que la Metilprednisolona y el Estradiol mejorarán la función locomotora de las ratas parapléjicas mediante escalas convencionales. **Método.** Se utilizaron 3 ratas en el estudio de sexo masculino, que tenían un peso entre 420-430 gm. Las cuales fueron expuestas a una lesión medular dejando caer un dispositivo impactador de 2.5 milímetros, el cual tenía una fuerza de 5.6 dinas, con el propósito de producir una paraplejia. Respecto al análisis conductual se utilizaron la escala de Tarlov, la escala CBS y la escala BBB, semanalmente para comparar los resultados con las evaluaciones prequirúrgicas y obtener un resultado objetivo sobre la recuperación motriz de cada rata. **Resultados.** Después de ser expuestas a la lesión medular se pudo notar en las pruebas conductuales que tras la cirugía las ratas presentaron un deterioro importante de la actividad motora y sensitiva. En las semanas subsiguientes se notó un progreso, a pesar de que no les fue aplicado ningún tipo de esteroide. **Conclusión.** En el presente artículo es importante mencionar la importancia de las implicaciones del cuidado diario y consistente de la higiene y los espacios adecuados para la rehabilitación de la rata, ya que fueron las principales limitantes para la realización de este estudio. Sin embargo, se pudo comprobar que las ratas presentaron una reducción de los efectos secundarios de la lesión, referente a su función locomotora.

**Palabras clave.** lesión medular, paraplejia en ratas, escalas locomotoras para ratas

## Introducción.

La Lesión medular (LM) puede definirse como todo proceso patológico (conmoción, contusión, laceración, comprensión o sección), de cualquier etiología (traumática y no traumática), que afecta la médula espinal y puede originar alteraciones de la función neurológica por debajo de la lesión: motoras, sensitivas y autonómicas (Victor y Ropper, 1999).

Las variables más importantes en la mecánica de las lesiones de la médula espinal son la naturaleza de los huesos a nivel del sitio traumatizado y la intensidad, la dirección y el punto de impacto de la fuerza aplicada, y la afectación de sustancia blanca o gris.

Según Victor y Ropper (1999), la investigación de la fisiopatología de las lesiones agudas de la médula espinal data de los estudios experimentales de Allen, efectuados a principios de este siglo. Su método consistía en dejar caer pesos determinados sobre la médula espinal. Esta técnica se refinó al grado de volver posibles las mediciones precisas de la velocidad, la fuerza y la dirección del impulso de los objetos pesados que se dejaban caer.

Este tipo de impacto es de gravedad suficiente para volver al animal inmediatamente parapléjico y abolir las reacciones sensitivas evocadas, lo que indica que no se pueden conducir los potenciales de acción a través del segmento lesionado de la médula.

Actualmente no existe una cura para las lesiones de la médula espinal. Se está realizando investigación en muchas áreas de tratamiento y adaptación, incluyendo temas tales como medicamentos, cirugía, trasplante de células nerviosas y casi todos los aspectos de la salud y de las lesiones de la médula espinal.

Se ha invocado también en la lesión de la médula espinal ciertos mecanismos que consideran operativos en la muerte de las neuronas cerebrales. Entre ellos están la descarga de glutamato y exposición de las neuronas al calcio y a otros agentes que descargan radicales libres. Este último mecanismo puede explicar el efecto saludable de las grandes dosis de cortico esteroides (Victor y Ropper , 1999).

Se ha comprobado que la intervención farmacológica incluye una gran gama de fármacos entre los cuales resalta la Metilprednisona, es un esteroide sintético. Es de acción inmediata Su mecanismo de acción se ha explicado en base a sus propiedades, el fármaco se absorbe aproximadamente una semana. Cuando se aplica por vía intramuscular su absorción es más lenta. En el plasma, se transporta ligada a proteínas como las globulinas y la albúmina. Su vida media es ligeramente mayor a la de la prednisona. Se metaboliza en el riñón e hígado y se excreta por la orina (Mycek, et al.2004).

## **Escalas de evaluación de daño**

Los daños resultantes de la lesión medular experimental son medidos mediante diferentes escalas, entre las que se encuentran:

### **1. Escala Locomotora Basso-Beattie-Bresnahan**

Sus rangos van del 0 al 21, en el cual 0 refleja la función no locomotora y 21 refleja funciones normales. La escala será utilizada para evaluar el efecto de

los estrógenos exógenos en una recuperación funcional después de una lesión medular (Yune, et al., 2004).

## **2. Combined Behavioral Score**

Demuestra las modificaciones conductuales que sufren las ratas tras la lesión medular. Con puntuaciones asignadas en la tabla de Tarlov. (Gale K., Kerasidis H. & Wrathall J.R., 1984)

## **3. Escala de Tarlov**

Sus rangos van del

0 al 100, en el cual 0 refleja al animal con funciones normales, mientras que 100 muestra respuestas anormales en las pruebas (Kwame, Brown, Barry y Jean, 2005).

## **Método.**

### **Material.**

#### **SUJETOS**

Se utilizarán 25 ratas de sexo masculino de la raza Sprague-Dawley, de un peso de 400 y 450 gramos; las cuales serán divididas en cinco grupos para su evaluación y análisis.

#### **ESCALAS**

Se utilizarán tres tipos de escalas diferentes de medición validas:

- BBB Escala Basso Beattie Brensnehan
- CBS Escala Locomotor Rating Sácale
- Prueba de Tarlov

#### **SUSTANCIAS**

- cefazolina
- pentobarbital
- iodine (espuma)
- solución compuesta por polividona alcoholizada
- paracetamol
- pomada antibiótica
- metilprednisolona
- estradiol
- solución salina
- sustancia paraformaldehído

## **INSTRUMENTOS**

- jeringa
- charolas
- pinzas
- bisturí
- rasuradora eléctrica
- mesa quirúrgica
- aparato tipo Allen
- dispositivo impactador de 2.5 mm
- aguja e hilo de suturación

## **METODOLOGÍA**

### **CIRUGÍA**

Antes de que las ratas sean anestesiadas se les inyectara un antibiótico llamado Cefazolina por vía subcutánea, a una dosis de 50 Mg/kg con fin profiláctico. Siguiendo con el procedimiento se anestesiara a la rata con Pentobarbital intraperitoneal a una dosis de 50Mg/kg. Se hará un procedimiento de aseo mecánico y antisepsia de la zona donde se realizara la incisión quirúrgica que comprende dorso lumbar de la columna vertebral, con isodine espuma y solución compuesta por polividona alcoholizada. Se rasurará la zona donde se hará la incisión con una rasuradora eléctrica colocara la rata en una mesa quirúrgica que se encontrara a una temperatura de 37° C durante el procedimiento. Se procederá hacer una incisión de 2.5 milímetros, sobre la línea media de la columna vertebral a la altura de donde se hará la lesión, se disecarán los músculos para vertebrales a nivel de T8 y se identificaran las vertebra supra e infraadyacentes. Se realizará la laminectomía bilateral hasta exponer la duramadre; para terminar se abrirá longitudinalmente con un micro bisturí y se observara la integridad de las leptomeninges y de las arterias vertebrales.

### **LESIÓN MEDULAR**

Por medio de cirugía se llegará a la médula espinal de la rata, donde se colocará un aparato tipo Allen, el cual se adaptará perfectamente al esterotático del animal, donde se ubicará de manera directa un dispositivo impactador de 2.5 milímetros, el cual tiene una fuerza de 5.6 dinas, el cual está indicado para producir paraplejia en los animales que son el objeto de la investigación. El resultado será la lesión de cordones posteriores, laterales y anteriores; Para finalizar con el procedimiento de lesión se hará una hemostasia y se cerrara la duramadre, como los pliegues musculares y epidérmicos correspondientes a la lesión.

### **CUIDADOS POST-OPERATORIOS**

Después de cerrar los pliegues que corresponden a la incisión quirúrgica, se le colocará a la rata en una caja especial con una temperatura adecuada para su recuperación, después de que despierte se le administrará un analgésico (Paracetamol) vía oral, de 5 a 7 gotas diarias dependiendo del tamaño de la rata, así

como posterior a la cirugía se le administrará un antibiótico para evitar cualquier tipo de infección. Así mismo se le colocará sobre la herida una pomada antibiótica y se procederá a vaciar la vejiga dos veces al día y el recto una vez al día, así como se le alimentará y se le dará agua.

Se les aplicará las escalas CBS y BBB así como la prueba Tarlov.

#### **APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO**

Habrán cinco grupos de cinco ratas cada uno para su estudio, a cada grupo se le evaluará de manera distinta:

##### **GRUPO A**

Se les aplicará un placebo de 1 ml de 0.9% de solución salina.

##### **GRUPO B**

Se les aplicará una dosis de 30 mg/kg de Metilprednisolona de manera intravenosa, observando si su recuperación se ve afectada por este agente.

##### **GRUPO C**

Se les aplicará una dosis pequeña de (0.3 µg/kg) Estradiol de manera intravenosa.

##### **GRUPO D**

Se les aplicará una dosis mayor que al grupo C de (100 µg/kg) Estradiol de manera intravenosa.

##### **GRUPO E**

Se les aplicará 300 µg/kg de Estradiol de manera intravenosa.

Una vez finalizado con los diferentes procedimientos, se aplicará nuevamente la escala BBB a si como se registrarán los resultados de la siguiente manera.

#### **PRUEBA FINAL**

Finalizada la evaluación de los animales, se les perfundirá por medio de una inyección intracardiaca cargada con la sustancia paraformaldehído y se les extirpará la medula espinal con una gubia, quitando los cuerpos vertebrales.

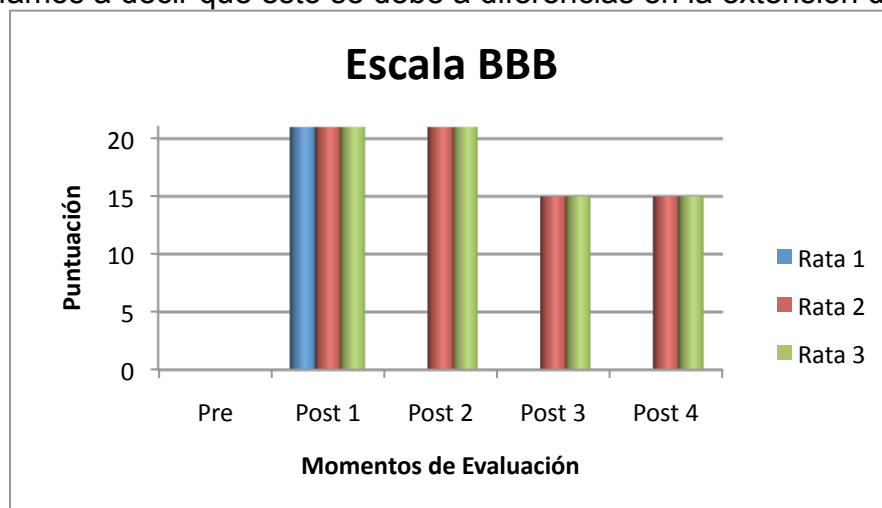
#### **RESULTADOS**

Se utilizaron 3 ratas en el estudio de sexo masculino, que tenían un peso entre 420-430 gm. Las cuales fueron expuestas a una lesión medular dejando caer un dispositivo impactador de 2.5 milímetros, el cual tenía una fuerza de 5.6 dinas, con el propósito de producir una paraplejia. La siguiente fotografía muestra una rata siendo lesionada durante la cirugía.

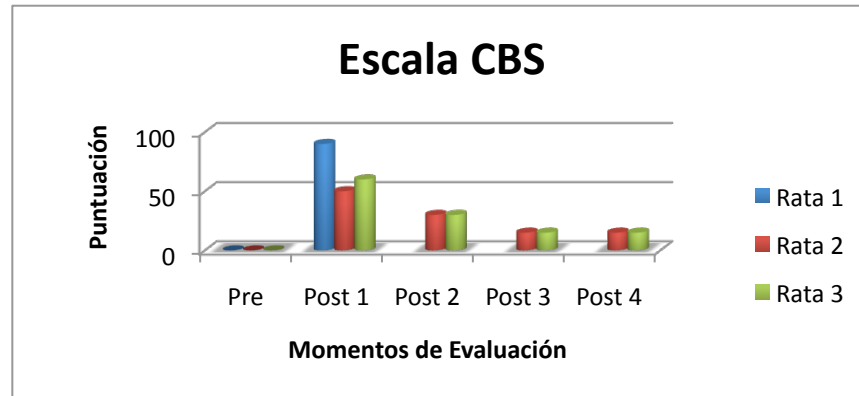


RATA 2													
Pre-op	5	5	2	2	2	2	2	2	2	2	75°	0	21
								2	2				
								2	2				
1día	4	1	2	0	2	1	2	1	2	70°	50	13	
								2	1				
								2	1				
1sem	4	4	1	2	0	0	1	2	2	70°	30	16	
								2	2				
								2	2				
2sem	4	5	1	2	0	1	1	2	2	70°	15	16	
								2	2				
								2	2				
3sem	5	5	1	2	0	1	2	2	2	70°	15	16	
								2	2				
								2	2				
RATA 3													
Pre-op	5	5	2	2	2	2	2	2	2	80°	0	21	
								2	2				
								2	2				
1día	1	1	0	0	0	0	0	0	0	30°		14	
								0	0				
								0	0				
1sem	4	5	2	2	0	0	2	1	2	75°		14	
								2	1				
								2	2				
2sem	4	5	2	2	0	0	2	1	2	75°		16	
								2	2				
								2	2				
3sem	4	5	2	2	0	0	2	1	2	75°		19	
								2	2				
								2	2				

La siguiente gráfica muestra las puntuaciones de la Escala BBB (máx=21, min=0) de cada una de las ratas en los 5 momentos de evaluación. Se puede observar cómo hubo un deterioro inicial claro y hubo una progresiva recuperación en diferentes ritmos. Nos atreveríamos a decir que esto se debe a diferencias en la extensión de la lesión.



La siguiente gráfica muestra las puntuaciones obtenidas por las tres ratas en la escala CBS (máx=90 [daño completo], mín=0) en los diferentes momentos de evaluación. A través de esta escala es muy interesante observar claramente el nivel de lesión tan diferente producido en cada rata. En la uno, la lesión fue casi total, mientras que en la segunda y tercera fue menor, siendo el mínimo en la segunda. La recuperación fue casi pareja en ambas ratas, pero la evaluación postquirúrgica al día de la operación fue clave para notar éste cambio. En la sección de conclusiones se ahondará sobre este fenómeno de la falta de estandarización de la lesión como un factor determinante para la comprobación de las hipótesis.



Las tres ratas de las que se presentan resultados pertenecían al grupo farmacológico control por lo cual no se le aplicaron medicamentos. Por motivos de tiempo y complicaciones metodológicas el diseño se detuvo en esta fase. En la siguiente sección se exponen las causas.

## CONCLUSIONES

En primer lugar se concluye que la hipótesis realizada no pudo ser comprobada ni rechazada por las siguientes razones:

1. No se contó con el material adecuado ya que se extravió, provocando que se reagendaran las cirugías atrasando el proyecto de investigación hasta que se obtuviera de nuevo el material completo y esterilizado.
2. Al ser el lesionador uno de los elementos extraviados, se tuvo que diseñar de nuevo, por lo tanto, un aspecto importante a considerar es la falta de estandarización del nuevo lesionador. Al ser un aparato creado con poco tiempo no se pudo probar correctamente, por lo que cada rata al ser lesionada sufrió distintos tipos de fractura medular, síntomas y consecuencias.
3. Una determinante más que influyó en el proceso de realización del proyecto de investigación fue la falta de higiene dentro del laboratorio. Se puede afirmar que aún cuando diariamente se les dio los cuidados correspondientes a las ratas en etapa pre y postquirúrgica, las condiciones en las que se encontraban no eran las óptimas para llevar a cabo éste proyecto de investigación en específico, ya que éste tipo de cirugía



se presta para iniciar focos de infección importantes, que incluso produjo la muerte de una de las ratas de la investigación. Este motivo llegó a plantearse como un dilema ético importante ya que el riesgo de infección que conlleva la cirugía es elevado pero se incrementa de forma importante con esta situación.

Por otro lado, se puede concluir que aún cuando no se llevó a cabo del todo el proyecto de investigación, se obtuvo un aprendizaje significativo del mismo. Se aprendió sobre el manejo de animales de laboratorio, la higiene que requiere el cuidado, la dedicación diaria y constante para que los animales se mantengan con vida, entre otras cosas. Al igual, se puede decir que hubo una sensibilización sobre el trabajo con animales, se buscó en todo momento respetar la integridad del animal y que, en lo que corresponde a nuestro cuidado, las condiciones y el manejo fuera el adecuado.

También se aprendió ampliamente sobre el trabajo quirúrgico en animales, desde una experiencia tal como inyectar hasta lesionar posteriormente hasta procedimientos más específicos durante la cirugía. En cada momento hubo asesoría y acompañamiento por parte del Doctor José Damián Carrillo Ruiz.

## REFERENCIAS

Gale K., Kerasidis H. & Wrathall J.R. (1984). Spinal Cord Contusion in Rat: Behavioral Analysis of Functional Neurologic Impairment; 123-133

Kwaume M. Brown, Barry B. Wolfe and Jean R. Wrathall. (2005). Rapid Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Young Rats. *Journal of Neurotrauma*, 22 (5).

Mycek, M., Harvey, R., & Champe, P. (2004). *Farmacología* (Segunda edición ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.

Victor, M. y Ropper, A. (1999). Principios de neurología. México: McGraw-Hill. Séptima Edición

Yune, T., Kim, S., Lee, S., Lee, Y., Oh, Y., Kim, Y., y otros. (2004). Systemic Administration of 17 $\beta$ -Estradiol Reduces Apoptotic Cell Death and Improves Functional Recovery following Traumatic Spinal Cord Injury in Rats. *Journal of Neurotrauma* , 21 (3)