

BIOPOLÍMEROS Y REHABILITACIÓN, ESTRATEGIAS TERAPEÚTICAS EN LESIONES TRAUMÁTICAS DE LA MÉDULA ESPINAL

LAURA ALVAREZ-MEJIA¹, HERMELINDA SALGADO-CEBALLOS^{2,3}, GUILLERMO JESUS CRUZ⁴, MARISELA MENDEZ-ARMENTA⁶, RODRIGO MONDRAGÓN-LOZANO^{3,5}, STEPHANIE SÁNCHEZ-TORRES^{2,3}, CRISTIAN GONZÁLEZ-RUIZ^{2,3}, ARACELI DIAZ-RUIZ⁶, CAMILO RÍOS⁶, JUAN MORALES¹, ROBERTO OLAYO¹, AXAYACATL MORALES-GUADARRAMA⁸, AND MARÍA GUADALUPE OLAYO⁴.

1. DEPARTAMENTO DE FÍSICA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA, 2. INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, 3. CENTRO DE INVESTIGACIÓN DEL PROYECTO CAMINA A.C., 4. DEPARTAMENTO DE FÍSICA, INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES, 5. CONACYT-INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, 6. DEPARTAMENTO DE NEUROQUÍMICA, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y 7. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN IMAGENOLÓGIA E INSTRUMENTACIÓN MÉDICA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA.

1 INTRODUCCIÓN

Las lesiones traumáticas de médula espinal (LTME) suceden principalmente por accidentes automovilísticos, eventos violentos, caídas y accidentes deportivos. Dependiendo de su magnitud, pueden producir parálisis, insensibilidad y disfuncionalidad permanente desde el sitio de lesión hacia la parte inferior del cuerpo, y mientras más tiempo pase, disminuye la posibilidad de recuperación. Las estrategias terapéuticas que se han aplicado hasta hoy para preservar la función neurológica y restablecerla, no han tenido resultados exitosos; por lo que es posible que se deban integrar estrategias terapéuticas multidisciplinaria que permitan el desarrollo de tratamientos funcionales. Dentro de las estrategias experimentales para restablecer la función neurológica después de una LTME incluye el uso de biopolímeros para promover la plasticidad, el recrecimiento axonal y la conectividad neuronal y de terapias de rehabilitación física que favorecen la plasticidad y disminuyen la atrofia muscular. Se sabe que los materiales poliméricos ricos en aminos mejoran la biocompatibilidad de superficies y tiene una favorable relación con el tejido del sistema nervioso central. En este trabajo se estudio el efecto de polialilamina-iodo (PAI/I) en combinación con rehabilitación física en LTME por contusión moderada en etapa subaguda y crónica en ratas. Se demostró que el tratamiento tiene un efecto favorable sobre la recuperación funcional, no obstante es importante combinarlo con otras estrategias terapéuticas para implementar un tratamiento eficaz en este tipo de padecimientos.

2 MATERIAL Y MÉTODOS

SINTESIS: Se sintetizaron por el método de polimerización por plasma películas delgadas PAI/I en un reactor tubular de vidrio con los siguientes parámetros de reacción: radiofrecuencia de 13.5MHz, presión de 4X10⁻¹ mbar, tiempo de síntesis de 240 min y potencia de 80W (Figura 1-A y B).

CHARACTERIZACIÓN: A la PAI/I se le realizó microscopía electrónica de barrido con análisis elemental (Figura 1-C) y espectroscopía infrarrojo (IR) muestreando directamente sobre el polvo de cada uno de los materiales, usando 32 escaneos con un intervalo de longitud de onda de 400-4000 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹ (Figura 1-D).

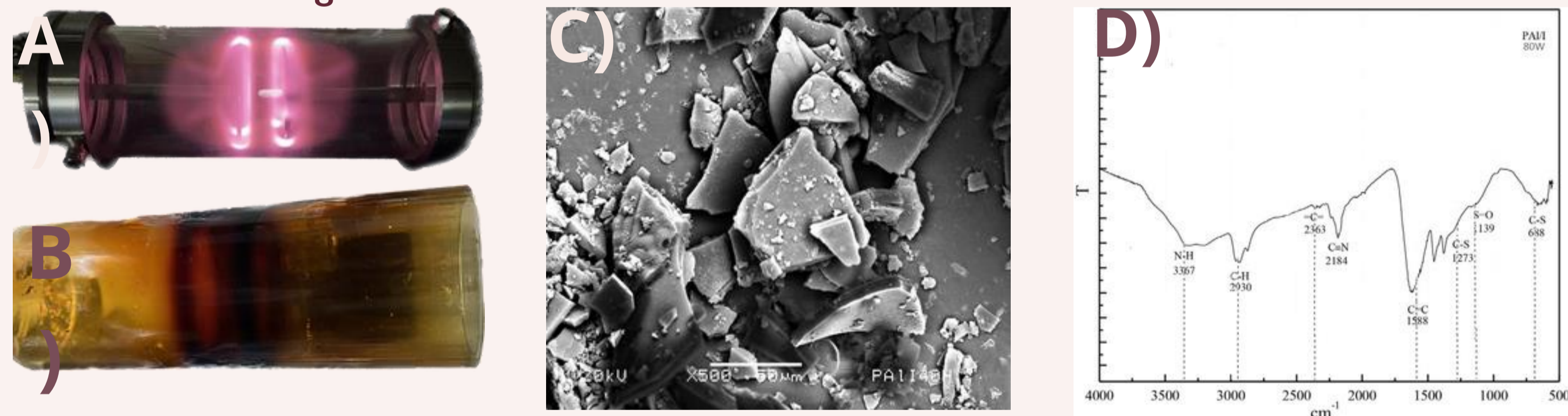


FIGURA 1. A) REACTOR DE PLASMA DE RADIOFRECUENCIA, B) TUBO RECUBIERTO DE PAI/I, C) ESPECTROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE LA PAI/I Y D) ESPECTROSCOPÍA DE IR

PREPARACIÓN DEL IMPLANTE: Las películas se despegaron del sustrato y se molieron en un mortero de ágata durante 20 min obteniéndose partículas de diferente geometría y tamaño (Figura 2-A). Posteriormente se pesaron 5 mg de PAI/I y se les adicionó 1 ml de solución salina (SS: solución fisiológica, 0.9 % cloruro de sodio) en viales de 5 ml, los cuales, se colocaron en un agitador ultrasónico durante 30 min para disgregar los aglomerados (Figura 2-B).

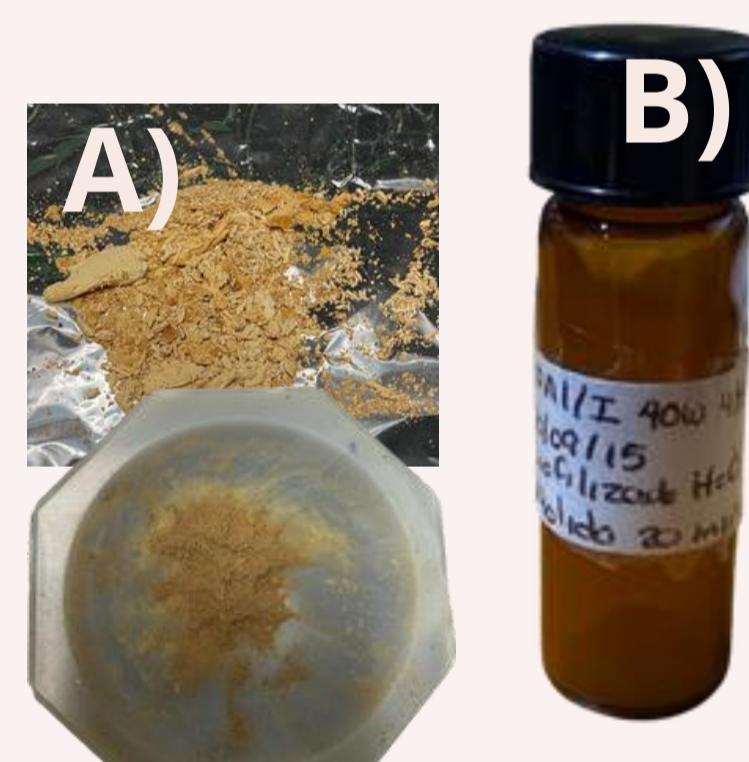


FIGURA 2. A) POLVO DE PAI/I, B) SUSPENSIÓN

DISEÑO EXPERIMENTAL Y COLOCACIÓN DEL IMPLANTE: Se utilizaron 48 ratas hembras de la sepa Long Evans y se sometieron a una LTME por contusión moderada a nivel torácico nueve, usando el estereotáxico NYU impactor (Figura 3-B). Transcurridos 2 ó 15 días después de la lesión, se les administró aleatoriamente 30µl de solución salina ó PAI/I en el epicentro de la lesión (Figura 2-D) y se distribuyeron en 8 grupos experimentales n=6.

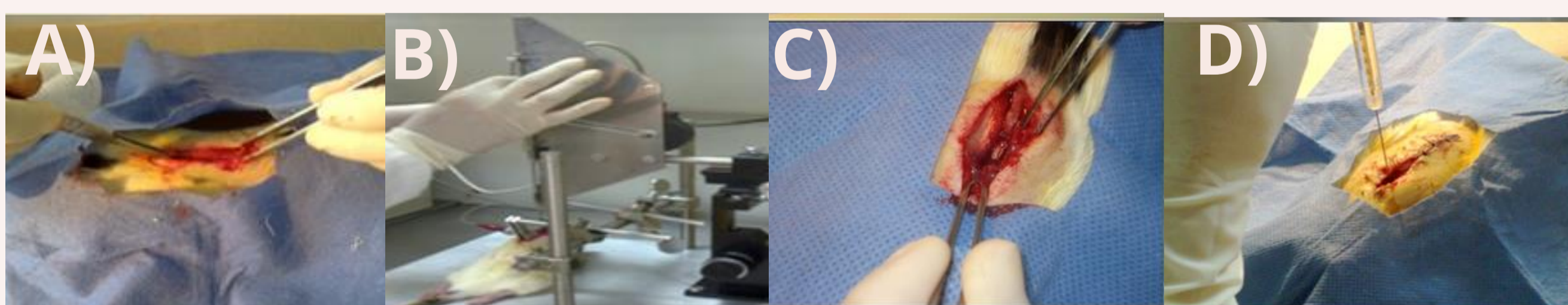


FIGURA 3. A) CIRUGÍA POR LAMINECTOMÍA DE LA MÉDULA ESPINAL A NIVEL TORÁCICO T9, B) CONTUSIÓN MODERADA DE LA MÉDULA ESPINAL A NIVEL TORÁCICO T9 CON EL EQUIPO NYU IMPACTOR, C) Y D) PREPARACIÓN Y COLOCACIÓN DEL IMPLANTE EN EL SITIO DE LESIÓN.

REHABILITACIÓN FÍSICA (RF): La RF se llevó a cabo en una caminadora comercial en posición cuadrúpeda (Figura 4-A). La terapia se inició a partir del 6to día después de la LTME, 20 min diarios, 5 días a la semana por un periodo de ocho semanas. La velocidad de la caminadora se mantuvo en un rango entre 13.9 a 16.7 cm/s (Figura 4-B).

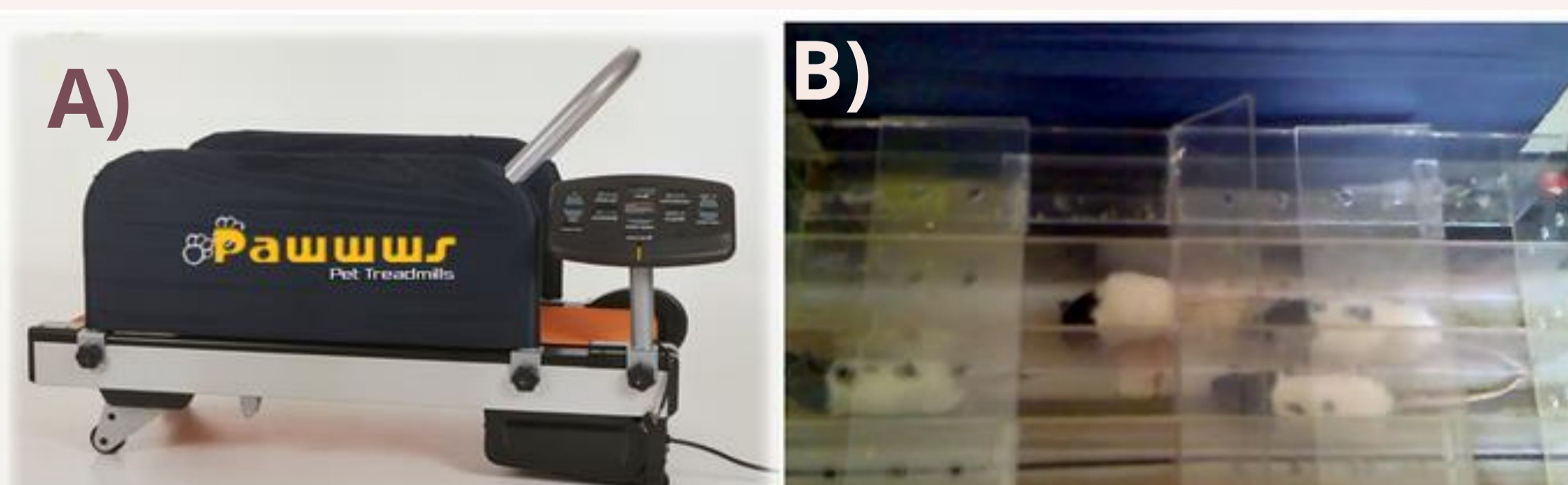
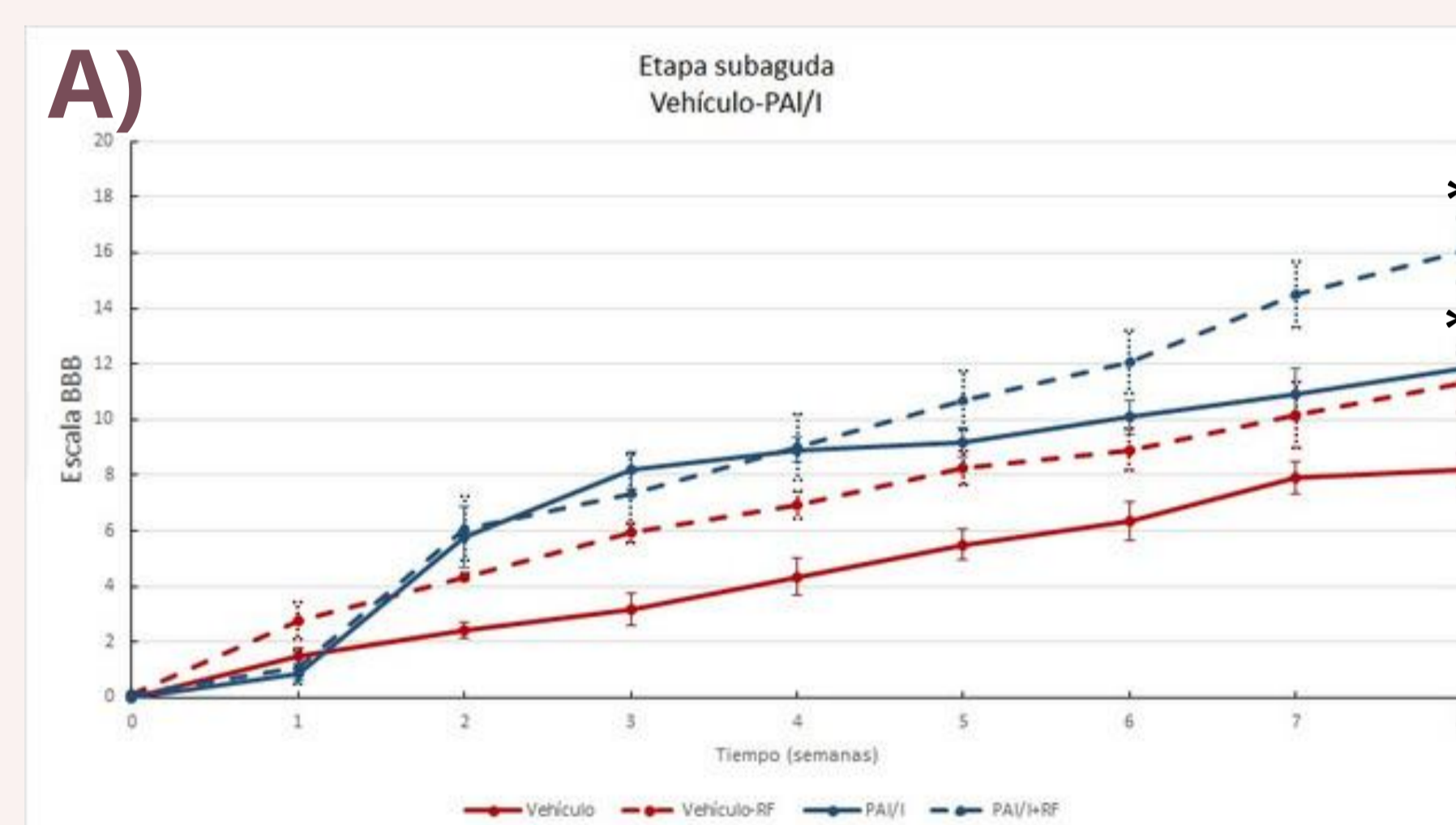


FIGURA 4. A) CAMINADORA COMERCIAL, B) ENTRENAMIENTO DE LOS ANIMALES EN UNA CAMINADORA CON LA ADAPTACIÓN DE VARIOS CARRILES.

EVALUACIÓN FUNCIONAL y ANÁLISIS HISTOLÓGICO: La recuperación funcional del tren posterior se evaluó con la escala BBB a través de 22 puntos de recuperación motora, donde el 0 representa ausencia del movimiento y el 21 una marcha normal. Las evaluaciones se realizaron 24 horas después de la LTME y posteriormente una vez por semana durante 8 semanas. Los animales fueron sacrificados vía intracardíaca y se extrajo 1cm de médula espinal incluyendo el epicentro de la lesión. Posteriormente se realizaron cortes longitudinales y se tiñeron con la técnica de Klüver Barrera.

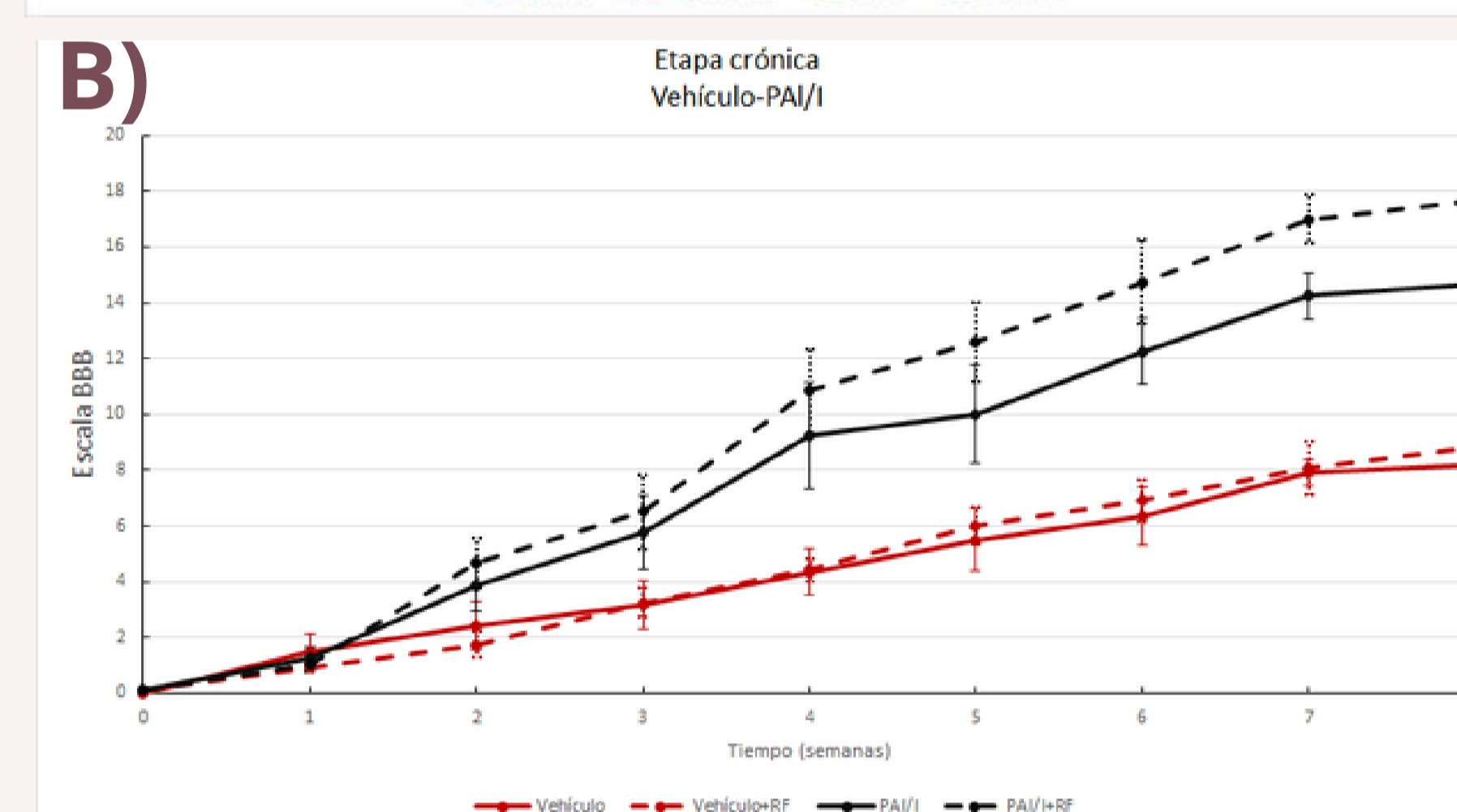
3 RESULTADOS

EVALUACIÓN FUNCIONAL



Vehículo: 8.75 (41.6%),
PAI/I: 11.33 (54%)

Rehabilitación física:
Vehículo-RF: 11.83 (56.3%),
PAI/I-RF: 16.8 (80%).



Vehículo: 8.6 (41%),
PAI/I: 11.7 (55.7)

Rehabilitación física:
Vehículo-RF: 9.1 (43%),
PAI/I-RF: 17.8 (84%).

FIGURA 5. RECUPERACIÓN MOTORA EN LA ESCALA BBB DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES A) SUBAGUDO, B) CRÓNICO. VEHÍCULO: SOLUCIÓN SALINA, VEHÍCULO-RF: SOLUCIÓN SALINA MÁS REHABILITACIÓN FÍSICA, PAI/I: POLIALILAMINA, PAI/I-RF: POLIALILAMINA MÁS REHABILITACIÓN FÍSICA. LOS RESULTADOS SON EXPRESADOS COMO LA MEDIA ± EE DE 6 ANIMALES POR GRUPO. ANOVA DE MEDIDAS REPETIDAS SEGUIDA DE LA PRUEBA DE DUNNETT. * DIFERENCIA SIGNIFICATIVA (P<0.05).

ANÁLISIS HISTOLÓGICO

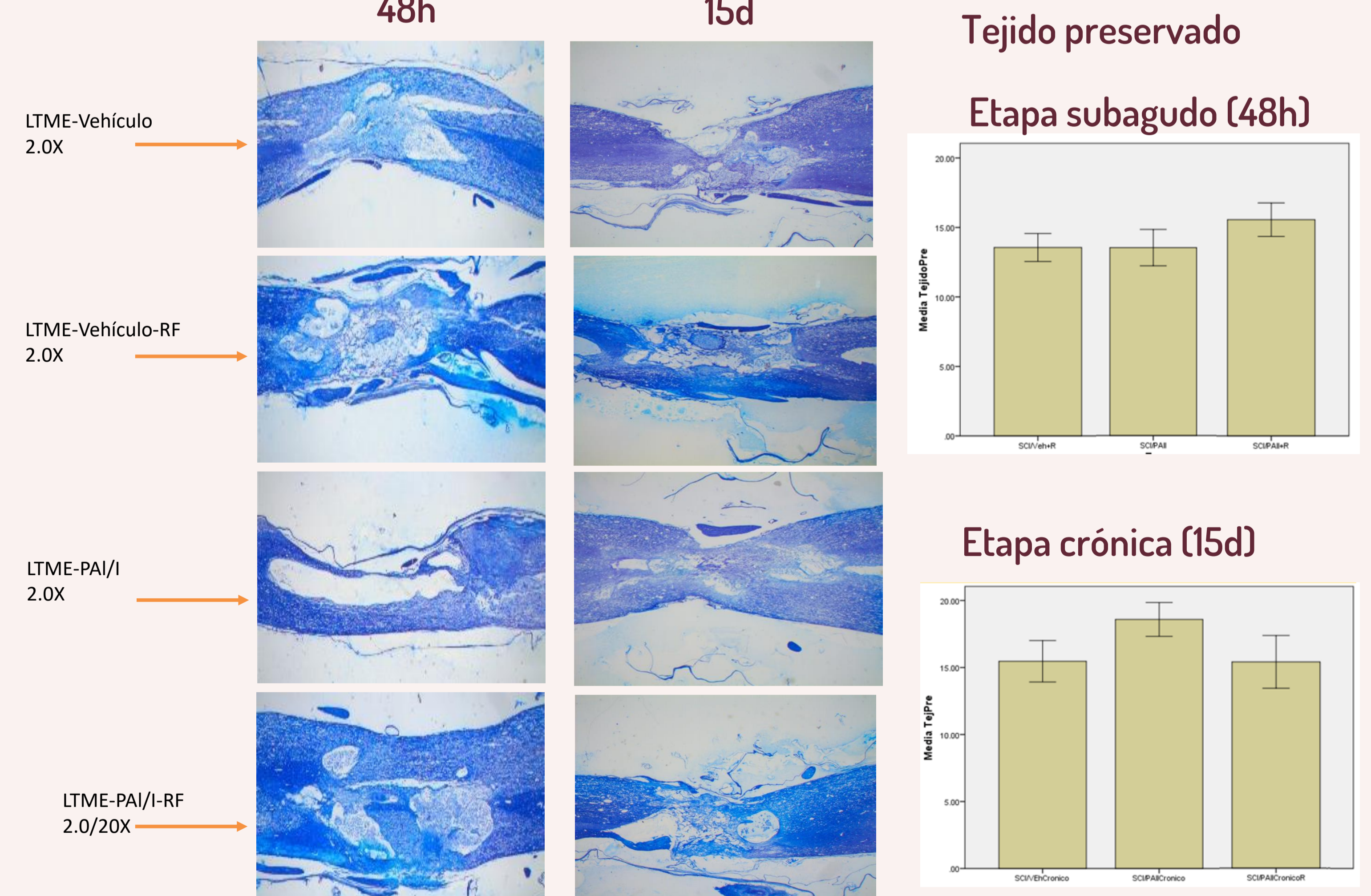


FIGURA 6. CORTES LONGITUDINALES DE LA MÉDULA ESPINAL EN EL EPICENTRO DE LA LESIÓN TEÑIDOS CON LA TÉCNICA KLÜVER BARRERA, DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES SUBAGUDO (48 HORAS) Y CRÓNICO (2 DÍAS). VEHÍCULO: SOLUCIÓN SALINA, VEHÍCULO-RF: SOLUCIÓN SALINA MÁS REHABILITACIÓN FÍSICA, PAI/I: POLIALILAMINA, PAI/I-RF: POLIALILAMINA MÁS REHABILITACIÓN FÍSICA Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DEL TEJIDO PRESERVADO DESPUÉS DE LA LTME. ANOVA DE UNA VÍA SEGUIDA DE LA PRUEBA DE DUNNETT.

4 CONCLUSIONES

Se observó una mejor recuperación funcional en los animales tratados con PAI/I en comparación con los animales que sólo recibieron el vehículo. Además, esta recuperación se vio incrementada al integrar una terapia de rehabilitación física en una caminadora.