

Efecto de la hipotermia combinada con magnesio y tirilazad en un modelo experimental de isquemia cerebral difusa*

M. SÁNCHEZ-CASADO^a, M.J. SÁNCHEZ-LEDESMA^b, J.M. GONÇALVES-ESTELLA^b,
M.M. ABAD-HERNÁNDEZ^c, G. GARCÍA-MARCH^d Y J. BROSÉTA-RODRIGO^b

^aUnidad de Cuidados Intensivos. Hospital Nuestra Señora del Prado. Talavera de la Reina. Toledo. España.

^bDepartamento de Cirugía. División Neurocirugía. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^cDepartamento de Biología Celular y Anatomía Patológica. Universidad de Salamanca. Salamanca. España.

^dDepartamento de Cirugía. División de Neurocirugía. Universidad de Valencia. Valencia. España.

Objetivo. Valorar el grado de neuroprotección combinando hipotermia con magnesio y tirilazad en la isquemia cerebral global. La isquemia cerebral es uno de los problemas de mayor interés en la actualidad con unas medidas terapéuticas limitadas. La utilización de la hipotermia, una de las más eficaces, junto con los fármacos neuroprotectores puede ser una alternativa válida.

Diseño. Estudio experimental con grupo control y dos niveles de aplicación de medidas terapéuticas.

Ámbito. Laboratorio experimental de la Facultad de Medicina.

Participantes y método. Veintiocho ratas Wistar sufrieron isquemia cerebral global de 10 minutos de duración mediante la combinación del clampaje carotídeo bilateral y la hipotensión controlada (presión arterial media: 45 mmHg). Se utilizaron tres grupos: grupo I, mantenimiento de normotermia; grupo II, hipotermia moderada (32-33 °C) durante dos horas; grupo III, hipotermia y administración de mesilato de tirilazad y sulfato de magnesio durante la reperfusión y a las dos horas de realizada la isquemia. A los 7 días se

sacrificaban los animales y tras el procesamiento del tejido se cuantificaban las neuronas preservadas en la capa CA1 del hipocampo.

Resultados. Existe mayor preservación neuronal de forma significativa en el grupo III con respecto al grupo I ($55,4 \pm 5,1$ frente a $38,7 \pm 8,8$, $p < 0,0001$). Si comparamos los grupos II y III, sólo se obtienen diferencias significativas en el lado derecho y en el hipocampo considerado globalmente, a favor del grupo de hipotermia más fármacos. Comparados los grupos I y II no existen diferencias significativas.

Conclusiones. La asociación de hipotermia moderada, sulfato de magnesio y mesilato de tirilazad en el modelo experimental utilizado de isquemia global transitoria se confirma como una medida neuroprotectora eficaz, superando el grado de preservación neuronal de la hipotermia aislada.

PALABRAS CLAVE: hipotermia, isquemia cerebral, magnesio, neuroprotección, neuroprotectores, tirilazad.

EFFECT OF COMBINATION THERAPY WITH HYPOTHERMIA, MAGNESIUM AND TIRILAZAD IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF DIFFUSE CEREBRAL ISCHEMIA

Objective. To determine the grade of neuroprotection of combined treatment with moderate hypothermia, tirilazad and magnesium sulfate. Cerebral ischemia is one of the problems of great interest at present, with limited therapeutic measures. Hypothermia, one of the more efficient measures, together with neuroprotector pharmaceuticals, could be a valid alternative.

*Este artículo es un resumen de la tesis doctoral presentada en julio del año 2004 en la Universidad de Salamanca, con la calificación de Sobresaliente *Cum Laude*. No ha sido financiado por ningún laboratorio ni ninguna otra empresa privada.

Correspondencia: Dr. M. Sánchez-Casado.
C/ Puerto de la Cruz, 2, 2.º B.
45600 Talavera de la Reina. Toledo. España.
Correo electrónico: marcel55@terra.es

Manuscrito aceptado el 14-IX-2006.

Design. Experimental study with a control group and two levels of application of therapeutic measures.

Context. Experimental laboratory of the Medicine Faculty.

Participants and method. Twenty-eight Wistar rats underwent global cerebral ischemia of 10 minutes duration by the combination of bilateral carotid clamping and controlled hypotension (mean arterial pressure: 45 mmHg). Three groups were used: group I, normothermia maintenance; group II, moderate hypothermia (32-33 °C) for 2 hours; group III, hypothermia and administration of tirilazad mesylate and magnesium sulfate during the reperfusion and two hours after ischemia. The animals were sacrificed at 7 days and, after processing the tissue, the neurons preserved in layer CA1 of the hippocampus were counted.

Results. There is a significantly greater neuronal preservation in group III with regard to group I (55.4 ± 5.1 versus 38.7 ± 8.8 , $p < 0.0001$). If we compare groups II and III, significant differences are only obtained on the right side and in the hippocampus considered globally, favoring the group with hypothermia and drugs. When groups I and II are compared there are no significant differences.

Conclusions. Association of moderate hypothermia, magnesium sulfate and tirilazad mesylate in the experimental model of transitory global ischemia used is confirmed as an effective neuroprotector measure, surpassing the degree of neuronal preservation of hypothermia alone.

KEY WORDS: hypothermia, cerebral ischemia, magnesium, neuroprotection, neuroprotectors, tirilazad.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la isquemia cerebral es uno de los retos más importantes para la investigación básica y aplicada. Aunque han sido muchos los avances producidos en el terreno fisiopatológico, pocas medidas terapéuticas han cristalizado en el campo clínico¹. Los mecanismos moleculares involucrados en la isquemia cerebral presentan continuas vías lesivas de potenciación e inhibición que convergen en un fenómeno final común, la lisis celular. Esto conforma un escenario cada día más complejo e interrelacionado. La hipotermia es la medida terapéutica neuroprotectora más eficaz en la actualidad². Se trabaja con muchas sustancias que pueden bloquear una o varias de estas rutas metabólicas³. Parece que la aplicación de una sola medida difícilmente podría contrarrestar una cascada con tal variedad de componentes, por lo que se buscan combinaciones de fármacos con la hipotermia que logren una mayor preservación neuronal⁴.

A la vista de los excelentes resultados mostrados en los trabajos en modelos de isquemia focal, en los que se ha empleado mesilato de tirilazad, magnesio

e hipotermia moderada (32-33 °C), utilizaremos esta combinación por primera vez en un modelo de isquemia cerebral global y aplicando las medidas terapéuticas tras desencadenarse el daño isquémico⁵⁻⁷. El objetivo primario se logrará si existiera una mayor preservación de las neuronas viables con el tratamiento neuroprotector. Aunque no se realizará una evaluación neurológica funcional de los animales, valoraremos la recuperación global del animal por la capacidad que tiene de recobrar peso comiendo de forma espontánea.

MÉTODO

Animal experimental

Se utilizaron 28 ratas adultas tipo Wistar, del sexo masculino y con un peso entre 300 y 450 g. En todo momento se han respetado las leyes de manejo y experimentación animal vigentes en nuestro país.

Preparación y controles de monitorización

Los animales eran trasladados al laboratorio de experimentación con varios días de antelación para su aclimatación. En la noche anterior al experimento se permitía el acceso al agua pero sin ingesta de alimento. Previo al inicio del experimento se pesaban las ratas. Para la inducción anestésica se utilizó una dosis intraperitoneal de 50 mg/kg de tiopental sódico, y una dosis de 0,5 mg/kg de atropina subcutánea. Se realizaba la intubación orotraqueal con un catéter de 16 G y se conectaba a un ventilador mecánico (Bomba Harvard®, modelo 683). Si era necesario, durante el procedimiento se utilizaban dosis adicionales de un tercio de la dosis inicial de tiopental en forma de bolo único. Una lámpara incandescente permitía mantener la normotermia. Se alojaba una sonda de temperatura esofágica. Se diseccionaba la vena femoral izquierda que se canalizaba con un catéter de polietileno P50 (Intramedic™), utilizado para infundir la dosis de medicación (magnesio, mesilato de tirilazad) o la infusión de suero salino al 0,9%. Se canalizaba la arteria de la cola con un catéter P50, a través del cual se administraban 100 UI de heparina sódica. Se utilizaba para la obtención de muestras sanguíneas la monitorización de la presión arterial y la provocación de la isquemia. Se obtuvieron muestras sanguíneas para la determinación de gases arteriales, glucosa, potasio y calcio antes de la inducción de la isquemia global y a las tres horas de la misma. Se utilizó un equipo computarizado Powerlab (Panlab S.L.) de 4 canales, con el software adecuado (Chart v4.0.4 y Scope v.3.6.6) para el registro, almacenamiento y análisis de los datos (frecuencia cardíaca, temperatura central y presión arterial sistémica).

Modelo experimental de isquemia cerebral global

Se utilizaba un modelo de oclusión de dos vasos con hipotensión arterial sistémica para provocar la isquemia cerebral global. Tras monitorizar la rata se

disecan ambas arterias carótidas primitivas. Previo a la inducción isquémica se mantenía un período de estabilidad de 15 minutos, y tras extraer una muestra sanguínea se inducía la isquemia mediante el clampaje carotídeo bilateral mediante clips vasculares y la reducción simultánea de la presión arterial media a 45 mmHg mediante exanguinación (colección sanguínea en una jeringuilla heparinizada a través del catéter de la cola). Tras 10 minutos de isquemia se liberaban los clampajes carotídeos y se reinfundía la sangre (en dos períodos, uno rápido hasta alcanzar cifras tensionales normales, reinyectando el resto más lentamente).

Grupos de tratamiento

Iniciada la reperfusión, se realizaba la asignación aleatoria de las ratas a cada uno de los tres grupos siguientes de tratamiento:

- Grupo I: vehículo más normotermia (n = 10).
- Grupo II: vehículo más hipotermia (n = 10).
- Grupo III: mesilato de tirilazad más sulfato de magnesio con hipotermia (n = 8).

La hipotermia (temperatura central: 32-33 °C) se aplicaba durante dos horas y se conseguía mediante la retirada de la lámpara incandescente y la aplicación cutánea en cabeza y tórax de paquetes de hielo. Durante el enfriamiento-recalentamiento se administraba bromuro de pancuronio (0,3 mg/kg intravenoso) para evitar la tiritona. El sulfato de magnesio y el mesilato de tirilazad (Pharmacia & Upjohn Company, Michigan, USA) se administraban por vía intravenosa durante 15 minutos, con una dosis cuando se iniciaba la reperfusión y una segunda dosis a las 2 horas de la inducción de la isquemia. Las dosis de sulfato de magnesio eran de 1 mmol/kg y las de mesilato de tirilazad de 3 mg/kg.

Período de recuperación

Tras dos horas de hipotermia se procedía a la recuperación de la normotermia (retirada de los paquetes de hielo y aplicación de una fuente exógena de calor) si se había producido. Alcanzada la temperatura central de 35 °C retirábamos los catéteres y se dejaba a la rata despertar. Cuando recuperaba la ventilación espontánea se suspendía la ventilación mecánica y se retiraba el catéter endotraqueal y simultáneamente la sonda esofágica. Posteriormente se pesaba la rata, para tener un peso basal a partir del cual valorar las modificaciones del peso al séptimo día postisquémico. Para los cuidados postoperatorios se colocaban las ratas en receptáculos con lámpara de calor y se permitía acceso libre al agua y alimentos. Cuando la movilización era plena se retiraba la fuente de calor.

Sacrificio y necropsia

En el séptimo día de evolución se sacrificaban los animales. Tras administrar 100 mg/kg de tiopental sódico intraperitonealmente se pesaba la rata y se

conectaba al ventilador mecánico. Se abría la cavidad torácica, se introducía un catéter intravenoso en el ventrículo izquierdo y se realizaba una sección en vena cava inferior para producir un circuito abierto. A través del catéter intraventricular se infundían 200 ml de suero salino heparinizado, y luego una perfusión de 100 ml de formaldehído al 4% (pH 6,9) (Merck®). Mediante una craniectomía amplia se extraía el cerebro en bloque y se sumergía durante 24 horas en formaldehído al 4%.

Método histopatológico

Tras este período se realizaban cortes transversales de 2 mm de grosor, desde el polo frontal al occipital, embebiéndolos en parafina, y mediante un microtomo de precisión se realizaban cortes de 8 µm, que se teñían con la técnica de hematoxilina y eosina. Se localizaban los cortes que contenían los hipocampos derecho e izquierdo, y se realizaban proyecciones en un monitor de 21 pulgadas mediante la fotografía digital de imágenes de 400 aumentos en el área CA1 del hipocampo (Cámara Leica DC100; Leica Microsystems®) utilizando el software correspondiente (software Leica IM50 versión 1.2; Leica Microsystems®). Se cuantificaban las neuronas íntegras, sin alteraciones morfológicas, que se visualizaban, realizando un mínimo de dos conteos en diferentes zonas del área CA1 del hipocampo del mismo corte, y hallando la media. La cuantificación de las neuronas preservadas fue realizada por un único observador que desconocía el grupo al que pertenecían las muestras.

Método estadístico

Los datos cuantitativos se expresan como media \pm desviación estándar. Los datos son comparados mediante el análisis de la varianza de una vía. Posteriormente se realizan análisis *post hoc*, como la prueba de Dunnett y la de Bonferroni. Si las condiciones de aplicación de la varianza no se cumplen se utiliza la prueba de Kruskal-Wallis. En todos los casos se utiliza un nivel $p < 0,05$ para que una determinada diferencia sea considerada significativa. Para el análisis se utilizó el programa estadístico SPSS versión 11.5 (SPSS Inc®).

RESULTADOS

Se realizó una asignación aleatoria, con 10 ratas válidas en el grupo I (normotermia), 10 ratas en el grupo II (hipotermia) y 8 ratas en el III (hipotermia más fármacos). El peso de las ratas era de $397,7 \pm 35,5$ g para el grupo I, $379,0 \pm 45,9$ g para el grupo II y $421,3 \pm 19,5$ g para el grupo III, sin encontrarse diferencias significativas. El tiempo de ventilación mecánica oscilaba entre 3,0 y 6,3 horas, con unos valores de $4,58 \pm 1,28$ horas para el grupo I, $5,05 \pm 0,45$ horas en el grupo II y $4,48 \pm 0,37$ horas en el grupo III, sin diferencias significativas. Mientras

TABLA 1. Variables fisiológicas en los tres grupos de ratas estudiadas antes y después de la isquemia cerebral

	Preisquémicos			A las 3 horas de la isquemia		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo I	Grupo II	Grupo III
PAM (mmHg)	110 ± 4	112 ± 16	112 ± 12	117 ± 10	121 ± 13	109 ± 16
Glucosa (mg/dl)	153 ± 100	88 ± 29	92 ± 19	137 ± 73	93 ± 68	323 ± 159 ^{a,b}
Na ⁺ (mEq/l)	140 ± 2	146 ± 4 ^a	147 ± 3 ^a	147 ± 14	147 ± 5	146 ± 1
K ⁺ (mEq/l)	4,3 ± 0,6	3,4 ± 0,6 ^a	2,8 ± 0,1 ^a	3,5 ± 0,9	3,5 ± 0,7	3,4 ± 0,4
Ca ⁺⁺ (mg/dl)	4,52 ± 0,22	3,76 ± 0,28 ^a	4,23 ± 0,68	3,52 ± 1,47	3,85 ± 0,78	4,23 ± 0,10
pHa	7,30 ± 0,11	7,34 ± 0,94	7,45 ± 0,26	7,40 ± 0,54	7,34 ± 0,76	7,40 ± 0,83
PaO ₂ (mmHg)	95 ± 21	99 ± 18	91 ± 18	99 ± 17	100 ± 17	92 ± 1
PaCO ₂ (mmHg)	46,1 ± 12,5	41,0 ± 13,6	33,0 ± 1,5	30,1 ± 7,5	37,4 ± 12,8	35,4 ± 10,3
Bicarbonato (mEq/l)	22,2 ± 3,4	21,6 ± 2,6	23,0 ± 1,6	18,4 ± 4,4	19,7 ± 4,6	21,8 ± 2,3
SatO ₂ (%)	94,0 ± 8,1	96,6 ± 2,2	97,1 ± 1,7	97,4 ± 1,3	96,5 ± 2,5	97,1 ± 0,8

Todos los valores son media ± desviación estándar.

^ap < 0,05 cuando se compara con el grupo normotérmico.

^bp < 0,05 cuando se compara con el grupo hipotérmico.

PAM: presión arterial media; PaCO₂: presión parcial de dióxido de carbono arterial; PaO₂: presión parcial de oxígeno arterial; SatO₂: saturación arterial de oxígeno; pHa: pH arterial.

que los tiempos de isquemia y de hipotermia eran fijos en el experimento, la variabilidad en el despertar presentó diferencias particulares, con independencia o no de la aplicación de hipotermia. Sólo se administró dosis extra de tiopental en el 50% de las ratas del grupo I. La cantidad de sangre extraída para lograr una presión arterial media de 45 mmHg tenía una media para los tres grupos de 3,84 ± 1,11 ml, sin diferencias significativas entre ellos (3,73 ± 0,98 ml en el grupo I, 4,08 ± 1,11 ml en el grupo II y 3,57 ± 1,79 ml en el grupo III).

En la tabla 1 se muestran los valores de las variables fisiológicas antes de la isquemia y a las 3 horas (todos los animales tenían una temperatura central ≥ 35 °C). No existieron diferencias significativas en los valores de glucemia previos a la isquemia, a pesar de un valor medio mayor en el grupo I. A las 3 horas el grupo III presentaba unos valores significativamente mayores con respecto a los otros dos grupos y con respecto a sus valores previos a la isquemia. Aunque existen diferencias significativas en la concentración preisquémica de sodio, con mayores diferencias de los grupos II y III respecto al I, se corrigen a las 3 horas de iniciada la isquemia.

Tomando el peso postextubación como referencia, comprobamos que existe una pérdida importante del peso a los 7 días (tabla 2). Así, se produce una media de descenso de 50 g para el grupo I, 47,8 g para el II y 49,2 g para el III. Si se transforman en porcentajes de pérdida con respecto al peso postex-

tubación, los valores medios son el 12,75%, el 12,4% y el 11,9%, respectivamente. No existen diferencias significativas entre estos valores.

Hemos realizado dos recuentos celulares neuronales en cada animal, uno en cada uno de los hipocampos, y luego hemos realizado la media de los anteriores para tener una estimación de lo que ocurre de forma global en el hipocampo (hipocampo global). En el grupo I existen 39,3 ± 10,0 neuronas viables en el hipocampo derecho, 38,0 ± 9,6 en el lado izquierdo y 38,7 ± 8,8 neuronas viables en el hipocampo global. En el grupo II existen 44,7 ± 10,4 neuronas viables en el hipocampo derecho, 44,1 ± 9,4 en el hipocampo izquierdo y 44,4 ± 8,3 cuando se considera el hipocampo de forma global. En el grupo III existen 57,7 ± 5,1 neuronas viables en el hipocampo derecho, 53,1 ± 9,5 en el izquierdo y 55,4 ± 5,1 neuronas viables cuando el hipocampo se considera de forma global. Existen diferencias significativas tanto en el lado derecho, izquierdo o globalmente (fig. 1). Si realizamos un análisis *post hoc*, existe un alto grado de significación estadística del grupo III respecto al I cuando se comparan el lado derecho, izquierdo o globalmente. Cuando se comparan los grupos II y III se obtienen significaciones estadísticas en el lado derecho y en el hipocampo globalmente, pero no en el lado izquierdo. Cuando se comparaban los grupos I y II no se encontraban diferencias significativas en ninguno de los lados ni globalmente (fig. 2).

TABLA 2. Cambios en el peso en los tres grupos de ratas estudiados

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Peso basal (g)	421,3 ± 19,5	379,0 ± 45,9	397,7 ± 35,5
Peso postextubación (g)	395,6 ± 35,4	377,8 ± 41,7	419,6 ± 19,2
Peso a los 7 días (g)	345,6 ± 44,4	330,0 ± 38,9	370,4 ± 39,1
Diferencias de peso (g) ^a	50,0 ± 26,7	47,8 ± 31,6	49,2 ± 23,9
Porcentaje de pérdida ^a	12,75 ± 7,20	12,40 ± 7,12	11,86 ± 6,21

^aEstas diferencias y porcentajes están realizados entre la diferencia de peso en el momento de la extubación y en el tiempo del sacrificio. No son diferencias significativas. Todos los valores son media ± desviación estándar.

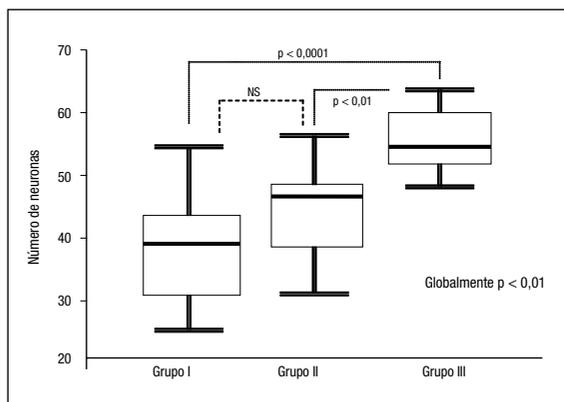


Figura 1. Número de neuronas viables considerando el hipocampo de una forma global (media de ambos lados). NS: no significativo.

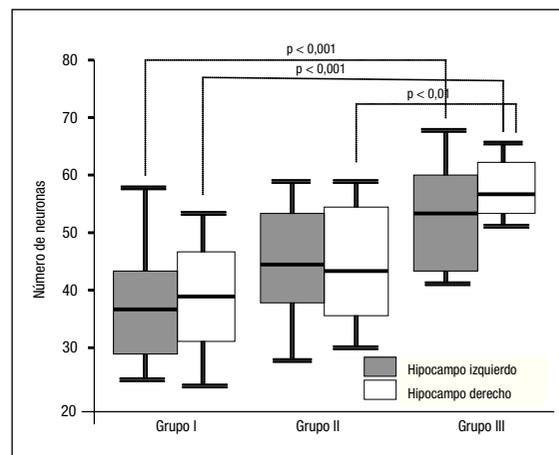


Figura 2. Diferencias en el número de neuronas viables entre grupos considerando cada lado del hipocampo.

DISCUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que, con las condiciones señaladas, el tratamiento combinado de hipotermia moderada, mesilato de tirilazad y sulfato de magnesio preserva un mayor número de neuronas que en el grupo normotérmico o aplicando hipotermia en solitario. Tomando como base el grupo normotérmico, en el grupo de hipotermia existe un 13,7% más de neuronas en el lado derecho, un 16,1% más en el lado izquierdo y una media de un 14,9% más de neuronas de una forma global. Aunque no se alcanza una significación estadística, se produce una menor pérdida neuronal cuando se aplica la hipotermia como medida única neuroprotectora. De forma similar, en el grupo de fármacos más hipotermia (grupo III), cuando se compara con el grupo I, existe un 46,8% más de neuronas en el lado derecho, un 39,7% más en el lado izquierdo, con una media de un 43,3% más de neuronas de forma global. Estas diferencias son claramente significativas. Cuando comparamos los grupos que han recibido hipotermia, III y II, existe una preservación neuronal de un 29,1% mayor en el lado derecho, un 20,4% en el lado izquierdo y un 24,8% mayor en el hipocampo considerado de una forma global, a favor del primero. Estas diferencias han tenido significación en el hipocampo derecho y considerado globalmente, pero no en el izquierdo.

Así, asistimos a una gran eficacia de la combinación farmacológica con hipotermia en la preservación neuronal, superando a la hipotermia en solitario, la medida neuroprotectora más eficaz que se conoce. Puesto que el magnesio y el tirilazad incrementan la neuroprotección de la hipotermia, algunos autores indican la posibilidad de que el mecanismo neuroprotector inducido por la hipotermia⁸ no sea antioxidativo (tirilazad)⁹ ni antiexcitotóxico (magnesio)¹⁰.

La hipotermia ha logrado mantener una tendencia a favor de la preservación neuronal con respecto a la normotermia, aunque no se alcanzaron resultados

estadísticamente significativos. La duración de la hipotermia debe relacionarse con la gravedad de la lesión¹¹, por lo que tal vez deberíamos haber prolongado los tiempos de isquemia, o puede ser que el aumento de la muestra fuese suficiente.

La excelente seguridad del magnesio y mesilato de tirilazad ha sido confirmada en ensayos clínicos, con unos efectos secundarios bien caracterizados^{12,13}. Los valores fisiológicos y parámetros bioquímicos no suponen una alteración destacable que influya sobre los resultados del experimento. Existen dos efectos, ambos relacionados con la administración de magnesio, que es importante vigilar, la hipotensión arterial sistémica y la hiperglucemia¹⁴. El sulfato de magnesio ha demostrado excelente tolerancia hemodinámica en estudios multicéntricos, que se han visto confirmados en este estudio por la ausencia de diferencias significativas en la presión arterial sanguínea¹⁵. La utilización de otras sales, como el cloruro de magnesio, se asocia con una mayor tendencia a la hipotensión¹⁶. A esta no significativa caída de la tensión arterial cuando se administraba magnesio contribuyó tanto la utilización de la forma sulfato, con menor efecto hipotensor, como la administración lenta del preparado, intentando infundir concentraciones asumibles por el sistema vascular. Otro efecto de mayor interés es la aparición de hiperglucemia¹⁷. Dado que el tirilazad no tiene actividad glucocorticoidea, se atribuye al magnesio la causa de la hiperglucemia, conocida su interacción con la insulina¹⁸. Este efecto depende mucho de la sal empleada, siendo también más frecuente con el cloruro de magnesio^{19,20}. De hecho, son los estudios con esta sal los que se suelen asociar a una significación estadística. En cambio, cuando se utiliza el sulfato de magnesio el aumento no suele ser significativo, aunque en nuestro trabajo sí lo sea^{21,22}. Dada la importancia conocida del control de la glucemia sobre la lesión cerebral una línea futura sería el tratamiento de estas elevaciones mediante el aporte de insulina²³.

No se han podido demostrar diferencias en la pérdida de peso entre grupos. Dado que todos los animales del estudio estuvieron comiendo y bebiendo a partir del primer día, debemos suponer que el catabolismo predomina en un espacio temporal tan cerca del procedimiento isquémico. Por ello, tal vez un tiempo más prolongado de observación fuera necesario para mostrar diferencias en un contexto de estrés tan intenso.

Dada la complejidad de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la muerte neuronal isquémica, crece entre los investigadores la noción de la combinación de una o más drogas neuroprotectoras con la hipotermia, para realizar un bloqueo suficientemente eficaz de la cascada metabólica postisquémica^{5,18,24-31}. Este hecho crece en importancia cuando la administración farmacológica se realiza posterior al insulto isquémico, y no con anterioridad, momento en que la respuesta es de mayor intensidad³². La elección de la hipotermia es obvia, al ser la medida neuroprotectora más intensa y hoy en día un estándar en el tratamiento de la isquemia cerebral. La concomitante elección de magnesio y tirilazad ha sido consecuencia de la existencia de unos efectos secundarios mínimos, probadas ambas en ensayos clínicos y su utilización conjunta en una serie de experimentos en el seno de la isquemia focal y global que demostraban su utilidad.

Pero los excelentes resultados de la aplicación de estos fármacos en el tratamiento clínico del enfermo con isquemia cerebral focal no han sido tan rotundos como demostraban los ensayos experimentales con animales³³⁻³⁶. Existe un continuo debate sobre el porqué resultados positivos en el laboratorio no lo son en el contexto clínico³⁷. Se han dado múltiples respuestas, pero parece razonable intentar que el contexto clínico y el de laboratorio se parezcan. En el presente estudio hemos intentado reproducir el contexto de isquemia global que atiende el clínico lo más fielmente posible, aplicando las medidas con posterioridad al insulto isquémico, e intentando simular lo más fielmente posible los cuidados aplicados.

Así, dado que en nuestro trabajo la combinación terapéutica de hipotermia, mesilato de tirilazad y sulfato de magnesio ha demostrado un adecuado grado de preservación neuronal, y dado que sus efectos secundarios sobre el hombre son suficientemente conocidos y estudiados, se deberían plantear aproximaciones de este tipo a la práctica clínica puesto que nos encontramos ante una entidad clínica, la isquemia cerebral global, que presenta unas escasas medidas eficaces y una alta repercusión funcional a nivel de morbimortalidad y de repercusión social (estado vegetativo crónico persistente tras parada cardiorrespiratoria reanimada, etc.).

Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lipton P. Ischemic death cell in brain neurons. *Physiol Rev.* 1999;79:1431-568.
2. Curfman GD. Hypothermia to protect the brain. *N Eng J Med.* 2002;346:546.
3. Bartus RT, Dean RL, Mennerick S, Eveleth D, Lynch G. Temporal ordering of pathogenic events following transient global ischemia. *Brain Res.* 1998;790:1-13.
4. Muñoz-Torrero JJ, Mora FJ, Díez Tejedor E. Tratamiento específico del infarto cerebral agudo. Presente y futuro. *Rev Neurol.* 2000;30:959-82.
5. Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen HJ. Monotherapy with dextromethorphan or tirilazad-but not a combination of both-improves outcome after transient focal cerebral ischemia in rats. *Exp Brain Res.* 1998;122:121-7.
6. Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen HJ. Neuroprotective effects of combination therapy with tirilazad and magnesium in rats subjected to reversible focal cerebral ischemia. *Neurosurgery.* 1999;44:163-72.
7. Schmid-Elsaesser R, Hungerhuber E, Zausinger S, Baethmann A, Reulen HJ. Combination drug therapy and mild hypothermia: a promising treatment strategy for reversible, focal cerebral ischemia. *Stroke.* 1999;30:1891-9.
8. Chopp M, Knight R, Tidwell CD, Helpert JA, Brown E, Welch KM. The metabolic effects of mild hypothermia on global cerebral ischemia and recirculation in the cat: comparison to normothermia and hyperthermia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1989;9:141-8.
9. Kavanagh RJ, Kam PC. Lazaroids: efficacy and mechanism of action of the 21-aminosteroids in neuroprotection. *Br J Anaesth.* 2001;86:110-9.
10. Miles AN, Majda BT, Meloni BP, Knuckey NW. Postischemic intravenous administration of magnesium sulfate inhibits hippocampal CA1 neuronal death after transient global ischemia in rats. *Neurosurgery.* 2001;49:1443-50; discussion 1450-1.
11. Shann F. Hypothermia for traumatic brain injury: how soon, how cold, and how long? *Lancet.* 2003;362:1950-1.
12. Muir KW, Lees KR. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial of intravenous magnesium sulfate in acute stroke. *Stroke.* 1995;26:1183-8.
13. Van der Worp HB, Kappelle LJ, Algra A, Bar PR, Orgogozo JM, Ringelstein EB, et al; TESS Investigators. The effect of tirilazad mesylate on infarct volume of patients with acute ischemic stroke. *Neurology.* 2002;58:133-5.
14. Dube L, Granry JC. The therapeutic use of magnesium in anesthesiology, intensive care and emergency medicine: a review: [L'usage thérapeutique du magnésium en anesthésiologie, réanimation et médecine d'urgence]. *Can J Anaesth.* 2003;50:732-46.
15. Muir KW, Lees KR. Dose optimization of intravenous magnesium sulfate after acute stroke. *Stroke.* 1998;29:918-23.
16. Altura BM, Altura BT. Interactions of Mg and K on cerebral vessels: Aspects in view of stroke-Review of present status and new findings. *Magnesium.* 1983;3:195-211.
17. De Courten-Myers GM, Myers RE, Schoolfield L. Hyperglycemia enlarges infarct size in cerebrovascular occlusion in cats. *Stroke.* 1988;19:623-30.
18. Auer RN. Combination therapy with U74006F (tirilazad mesylate), MK-801, insulin and diazepam in transient forebrain ischaemia. *Neurol Res.* 1995;17:132-6.
19. Blair JL, Warner DS, Todd MM. Effects of elevated plasma magnesium versus calcium on cerebral ischemic injury in rats. *Stroke.* 1989;20:507-12.
20. Izumi Y, Roussel S, Pinard E, Seylaz J. Reduction of infarct volume by magnesium after middle cerebral artery occlusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991;11:1025-30.
21. Marinov MB, Harbaugh KS, Hoopes PJ, Pikus HJ, Harbaugh RE. Neuroprotective effects of preischemia intraarterial magnesium sulfate in reversible focal cerebral ischemia. *J Neurosurg.* 1996;85:117-24.
22. Wolf G, Keilhoff G, Fischer S, Hass P. Subcutaneously applied magnesium protects reliably against quinolinate-induced N-methyl-D-aspartate (NMDA)-mediated neurodegeneration and convulsions in rats: Are there therapeutic implications. *Neurosci Lett.* 1990;117:207-11.

23. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia: part II. Mechanism of damage and treatment. *J Neurosurg.* 1992;77:337-54.
24. Thordstein M, Bagenholm R, Thiringer K, Kjellmer I. Scavengers of free oxygen radicals in combination with magnesium ameliorate perinatal hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Pediatr Res.* 1993;34:23-6.
25. Vaagenes P, Safar P, Moossy J, Rao G, Diven W, Ravi C, et al. Asphyxiation versus ventricular fibrillation cardiac arrest in dogs. Differences in cerebral resuscitation effects—a preliminary study. *Resuscitation.* 1997;35:41-52.
26. Lee EJ, Ayoub IA, Harris FB, Hassan M, Ogilvy CS, Maynard KI. Mexiletine and magnesium independently, but not combined, protect against permanent focal cerebral ischemia in Wistar rats. *J Neurosci Res.* 1999;58:442-8.
27. Milani H, Lepri ER, Giordani F, Favero-Filho LA. Magnesium chloride alone or in combination with diazepam fails to prevent hippocampal damage following transient forebrain ischemia. *Braz J Med Biol Res.* 1999;32:1285-93.
28. Mikami C, Suzuki M, Tsuiki K, Ogawa A. Effect of nicardipine and magnesium on cerebral infarction - brain surface perfusion technique. *Cerebrovasc Dis.* 2001;11:44-50.
29. Oktem IS, Menku A, Akdemir H, Kontas O, Kurtsoy A, Koc RK. Therapeutic effect of tirilazad mesylate (U-74006F), mannitol, and their combination on experimental ischemia. *Res Exp Med (Berl).* 2000;199:231-42.
30. Gross CE, Kimelberg HK, Raymond-Russell S, Booth C, Bednar MM. Delayed adjuvant therapy with the 21-aminosteroid U74006F and the anion channel blocker L644-711 does not improve outcome following thrombolytic therapy in a rabbit model of thromboembolic stroke. *Surg Neurol.* 1997;47:60-5; discussion 66-7.
31. Del Pilar Fernández M, Meizoso MJ, Lodeiro MJ, Belmonte A. Effect of desmethyl tirilazad, dizocilpine maleate and nimodipine on brain nitric oxide synthase activity and cyclic guanosine monophosphate during cerebral ischemia in rats. *Pharmacology.* 1998;57:174-9.
32. Hickenbottom SL, Grotta J. Neuroprotective therapy. *Se-min Neurol.* 1998;18:485-92.
33. Magnesium for acute stroke (Intravenous Magnesium Efficacy in Stroke trial) randomised controlled trial. *Lancet.* 2004;363:439-45.
34. Intravenous administration of magnesium in acute stroke: a randomized double-blind study. *Clin Neuropharmacol.* 2001;24:11-5.
35. Tirilazad for acute ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;4:CD002087.
36. Tirilazad mesylate in acute ischemic stroke: A systematic review. Tirilazad International Steering Committee. *Stroke.* 2000;31:2257-65.
37. Grotta J. Neuroprotection is unlikely to be effective in humans using current trial designs. *Stroke.* 2001;33:306-7.