



Veterinaria México

Veterinaria México

Universidad Nacional Autónoma de México

mp@servidor.unam.mx

ISSN (Versión impresa): 0301-5092

MÉXICO

2005

Sara Caballero Chacón / Manuel Nieto Sampedro

FISIOPATOLOGÍA DE LA LESIÓN MEDULAR. REVISIÓN DE LITERATURA

Veterinaria México, enero-marzo, año/vol. 36, número 001

Universidad Nacional Autónoma de México

Distrito Federal, México

pp. 75-86

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México



Fisiopatología de la lesión medular. Revisión de literatura

Pathophysiology of spinal cord injury. A review

Sara Caballero Chacón* Manuel Nieto-Sampedro**

Abstract

Here is shown the description of the physiological phenomena that occurs in spinal cord after traumatic injury. Also are reviewed the molecular processes that are present in the developed of primary and secondary neuronal death. Likewise, cellular and molecular processes that inhibit axonal growth and regeneration of central nervous system are reviewed. The finality of this review is to approach the DVM to knowledge of the problem of spinal cord injury in order to attack it from it's molecular bases and take advantage of the information that basic research can offer in our own benefit.

Key words: SPINAL CORD INJURY, PRIMARY NEURONAL DEATH, SECONDARY NEURONAL DEATH, NERVE REGENERATION, ISCHEMIA, CELL TRANSPLANTS, REACTIVE ASTROCYTES.

Resumen

Se presenta la descripción de los efectos fisiopatológicos que ocurren en la lesión medular por trauma y que inciden en los procesos moleculares que desencadenan muerte neuronal primaria y secundaria. Se hace énfasis en los mecanismos moleculares y celulares que impiden la regeneración axonal en el sistema nervioso central. La finalidad de esta revisión es acercar al médico veterinario al conocimiento a fondo sobre las lesiones medulares, para atenderlas desde sus bases moleculares y aprovechar la información que brinda la investigación básica.

Palabras clave: LESIÓN MEDULAR, MUERTE NEURONAL PRIMARIA, MUERTE NEURONAL SECUNDARIA, REGENERACIÓN NERVIOSA, ISQUEMIA, TRASPLANTES CELULARES, ASTROCITOS REACTIVOS.

Recibido el 17 de febrero de 2004 y aceptado el 18 de agosto de 2004.

*Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. Tel. 5622 5908 y 5622 5980; e-mail: saracachas@hotmail.com

**Departamento de Plasticidad Neural, Instituto Ramón y Cajal de Neurobiología, Av. Dr. Arce 37, CP 28002, Madrid, España.

Introduction

Recently the pathophysiologic study of spinal cord injury has been increased. This pathology, mainly traumatic, is very important because the central nervous system, unlike the peripheral nervous system, shows irreversible changes that obstruct nerve regeneration.

When the peripheral nervous system (i.e. sciatic nerve, radial nerve, lumbar nerves) is injured, nerve regeneration is possible because the trophic factors produced by Schwann cells are up regulated. Those cells also improve axonal growth because ensheat and protect axon proximal stump, promoting growth and the establishment of new connections in the target that recovers sensitivity and functionality.¹

In the central nervous system the process is not like in the peripheral, because the primary injury (which is located in the epicenter) destroys neuronal bodies. Damage induces an ischemic process, inflammation and primary neuronal death due the presence of oxygen free radicals. Later, the lesion is extended and secondary neuronal cell death occurs, killing more neurons than the primary neuronal death.²

There are many factors that obstruct the regeneration of the central nervous system; substances like proteoglycans and myelin derivatives are true barriers and an impediment of axonal growth.^{3,4} In a realistic view, the study of these obstacles shows that the damage in the central nervous system is much more complex than putting in contact two electric cables as before was believed in a simplistic way. In this review are described the events that occur during the lesion, but they do not occur in a systematic way, some of them are present at the same or different times depending on the time or size of the injury, for an easy comprehension they are described temporally.

Recently basic research in spinal cord injury is directed to be applied in human medicine. However, the study of spinal cord injury is also concern to veterinary medicine, because domestic animals often are victims of spinal cord trauma, so it is necessary that we think about the strategies that researchers use in order to correct spinal cord damage and how functional recovery can be allowed. It would be interesting if some of these procedures could be practiced and applied in this field in a future.

Pathophysiology of spinal cord injury

In veterinary medicine spinal cord injury is very common in small species. Spinal cord lesions have many causes such as spinal cord trauma and discal hernia acquired or hereditary in breeds prone to

Introducción

En la actualidad el estudio sobre la fisiopatología de las lesiones medulares se ha extendido. Esta patología, principalmente de tipo traumático, adquiere gran importancia, ya que el sistema nervioso central, a diferencia del sistema nervioso periférico, presenta cambios irreversibles que obstaculizan la regeneración nerviosa.

Cuando el sistema nervioso periférico (por ejemplo, el nervio ciático o los nervios radiales o los nervios lumbares) se daña, es posible la regeneración nerviosa. En una lesión a ese nivel hay una sobre-regulación de factores tróficos o de crecimiento que producen las células que envuelven a los axones: las células de Schwann. Estas células favorecen el crecimiento axonal envolviendo y protegiendo al axón en su porción proximal, lo cual procura su crecimiento y el establecimiento de nuevas conexiones en el órgano blanco que recupera sensibilidad y función.¹

En el sistema nervioso central este proceso no ocurre así, ya que cuando hay una lesión a nivel medular, el daño inicial se ubica en el epicentro, induce un proceso de isquemia e inflamación que provoca la muerte neuronal primaria, debido a la presencia de radicales libres de oxígeno. Con el tiempo, la lesión se extiende y se produce la muerte neuronal secundaria, que acaba con más neuronas que en la fase primaria.²

Son muchos los obstáculos que impiden la regeneración en el sistema nervioso central, la presencia de sustancias como los proteoglicanos y los derivados de la mielina son verdaderas barreras que impiden el crecimiento axonal.^{3,4} De manera realista, el estudio de estos impedimentos permite entrever que el daño en el sistema nervioso es mucho más complejo que pegar dos cables eléctricos, como simplísticamente se pensaba. En esta revisión se describen los eventos que ocurren durante la lesión, pero la presentación de éstos no ocurre de manera sistemática, algunos de éstos se presentan al mismo tiempo o varían en tiempos dependiendo del tamaño de la lesión, con fines de comprensión se describen temporalmente.

Los avances de la investigación básica en el rubro de lesiones medulares están dirigidos a la aplicación de los hallazgos en medicina humana. Sin embargo, el estudio profundo de las lesiones medulares atañe también a la medicina veterinaria, ya que las especies domésticas con frecuencia son proclives a padecer lesiones traumáticas en la médula espinal, por lo que su estudio es indispensable si se piensa en las estrategias que son utilizadas por los investigadores con el fin de corregir los daños medulares y permitir

condrodystrophy. Discal hernia is a degenerative disease that damages intervertebral discs, there is an extrusion of disc material into the vertebral canal compressing spinal cord. Compression produces clinical signs such as pain and dysfunction in different degrees (movement incoordination, paresis, limb paraplegia, urinary incontinence). Degenerative changes in vertebral disc are often observed cervical, caudal thoracic or lumbar level.⁵

In spinal cord injured, either by trauma or compression, there is a temporal sequence of anatomopathologic changes and is divided into three phases: acute, subacute and chronic.²

Acute phase

During the acute phase in the spinal cord damaged by trauma, the haematoencephalic barrier and local blood vessels are immediately destroyed, microvessels of the gray substance have some alterations inducing petequeal hemorrhage. Blood cells and serum proteins invade the lesionated area, where edema has already happened. Capillary destruction causes ischemia, anoxia and hypoglycemia. Necrosis and myelin degeneration from damaged axons follows 8 to 24 h later, and after 48 h blood white cells appear to eliminate degenerated myelin and other cellular residues.

Blood flow changes and post-traumatic hipoperfusion affect mainly the gray substance and induce primary neuronal death.⁶ The white substance is more resistant to ischemia and hypoxia, but once the lesion is produced initial hyperemia is followed by posterior ischemia. Some substances such as tromboxanes, leucotriens, platelet activator factor, serotonin and endogenous opioids, contribute to reduce the microcirculatory flow.⁷ Early metabolic changes, caused by a lineal decrease of oxygen partial pressure in the injured site, persist for many hours. High-energy phosphate concentrations decrease, metabolic range is low and the environment is mainly anaerobic the first four hours after trauma.

From 4 to 24 h the metabolic range increases and changes to an oxidative metabolism in tissue that remains viable causing lactic acidosis. Interruption of blood flow due to mechanical stress induces oedema generated by increase of the local pressure. Oedema first appears in the central portion of spinal cord and is expanded in a centrifugal way to the white substance. Edema formation is higher the first days after lesion, it compresses the tissue and produces abnormal electrolytic concentrations. This environment induces bradikinin, cytokine, histamine and nitric oxide release that contribute to increase vascular permeability.⁸⁻¹⁰

la recuperación funcional; sería interesante si éstas pudieran practicarse y aprovecharse en un futuro en este campo.

Fisiopatología de la lesión medular

En el campo de la medicina veterinaria es común el daño sobre la médula espinal en pequeñas especies. Estas lesiones tienen diversas etiologías; entre otras, el trauma medular y la hernia discal adquirida o hereditaria en razas que padecen condrodistrofia. La hernia de disco es una enfermedad degenerativa que afecta a los discos intervertebrales, hay una extrusión del material del disco dentro del canal vertebral, lo que causa compresión de la médula espinal. Esta compresión produce signos clínicos de dolor y grados variables de disfunción de la médula espinal (incoordinación de movimientos, paresia o parálisis de extremidades, incontinencia urinaria). Los cambios degenerativos del disco intervertebral se observan frecuentemente en los segmentos medulares cervical, torácico caudal y lumbar.⁵

En la médula espinal dañada por compresión o traumatismo, la secuencia temporal de los cambios anatomopatológicos luego de una lesión se divide en fases: aguda, subaguda y crónica.²

Fase aguda

Durante la fase aguda el trauma en la médula espinal destruye la barrera hematoencefálica y los vasos sanguíneos locales inmediatamente, ocasionando una alteración en la microvasculatura de la sustancia gris, induciendo hemorragias petequeales. Las células sanguíneas y las proteínas del suero invaden el área lesionada, que presenta edema. La destrucción de los capilares causa isquemia, así como anoxia e hipoglucemia. La necrosis y la degeneración de la mielina de los axones dañados sigue 8-24 horas más tarde y después de 48 horas los fagocitos sanguíneos se acumulan localmente para eliminar la mielina degenerada y otros residuos celulares.

Los cambios en el flujo sanguíneo y la hipoperfusión postraumática afectan principalmente a la sustancia gris e inducen la muerte neuronal primaria.⁶ La sustancia blanca es más resistente a los efectos de la isquemia e hipoxia, aunque una vez con la lesión se produce una hiperemia inicial y una isquemia posterior. Algunas sustancias como los tromboxanos, los leucotrienos, el factor activador de plaquetas, la serotonina y los opioides endógenos, contribuyen a reducir el flujo microcirculatorio.⁷ Los cambios metabólicos tempranos causados por el decremento lineal en la presión parcial de oxígeno en el sitio de la lesión, persisten horas después de ésta. Las

Small variations of ion concentration like Ca^{++} , Na^{+} and K^{+} in the interstitial fluid disturb excitability and synaptic transmission. Calcium is crucial, it regulates sodium and potassium permeability during neuronal excitation, controls the activity of critical enzymes and the neurotransmitter storage in synaptic vesicles. Intra-axonal calcium accumulation increases 30 minutes after injury and extracellular calcium concentration reduces quickly during that time. Total calcium concentration increases in the damaged spinal cord segments 45 minutes after trauma; maximal values are achieved 8 h after injury and remain there at least for one week.

Intracellular calcium is incorporated through voltage dependent channels or channels associated to NMDA glutamate receptors (N-metil-aspartate). Calcium released by storages like endoplasmic reticulum and mitochondria also contributes to increase the intracellular calcium concentration. Extracellular released of calcium is also limited because calcium-ATPase is inhibited.¹¹ Excessive concentrations of intracellular calcium can be noxious to neurons that remain alive and can produce their death. Activation of calcium-dependent phospholipases, like phospholipase C and A2 produces cellular membrane alteration and the production of arachidonate metabolites such as: tromboxanes, leucotriens and oxygen free radicals that promote tissue damage and inflammation.¹² Extracellular potassium levels increase in the post-traumatic acute phase; calcium-dependent phospholipase is activated hydrolyzing phospholipids and releasing fatty acids. The rapid accumulation of polyunsaturated fatty acids after injury shows a biphasic pattern. Initial peak occurs 5 to 15 minutes after lesion, normal calcium levels are recovered after 1 hour. Calcium tissue concentration rises 4 h after trauma and the maximum level is reached after 24 h. This second peak is correlated with the degree of irreversible damage.

Arachidonate metabolites, including tromboxanes and leucotriens, affect blood flow and inflammation, they influence secondary damage. Vasoconstriction produced by phospholipase A2 and platelet aggregation reduce blood flow. Phospholipid hydrolysis causes fatty acid release, polyunsaturated fatty acid oxidation and oxygen free radicals production.¹³ The source of oxygen free radicals is also due to the activity of macrophages that cross the haematoencephalic barrier already destroyed. In injured spinal cord, death erythrocytes provide iron that catalyzes oxygen free radical formation. High levels of intracellular calcium stimulate excitatory amino acid release like glutamate and aspartate, their highest extracellular levels are reached few minutes after injury, and they are very toxic to neurons that did not have been damaged.¹⁴

concentraciones de fosfatos de alta energía decrecen, el rango metabólico se deprime y el ambiente medular se vuelve predominantemente anaeróbico las primeras cuatro horas tras el trauma.

Entre las cuatro y 24 horas después el rango metabólico tiende a aumentar y cambia a un metabolismo oxidativo en el tejido que permanece viable, originando acidosis láctica. La interrupción del flujo sanguíneo debida al estrés mecánico propicia formación de edema generado por el aumento de la presión local. El edema se ve primero en la porción central del cordón espinal y se expande de manera centrífuga a la sustancia blanca. La formación de edema es máxima los primeros días después de la lesión, éste comprime el tejido y produce una variación anormal en las concentraciones de electrolitos. Este ambiente induce liberación de bradicininas, citocinas, histaminas y óxido nítrico que, a su vez, contribuyen a aumentar la permeabilidad vascular.⁸⁻¹⁰

Las variaciones leves sobre las concentraciones de los iones, como Ca^{++} , Na^{+} y K^{+} en el fluido intersticial, perturban la excitabilidad y la transmisión sináptica. El calcio es crucial: regula la permeabilidad para sodio y potasio durante la excitación neuronal, controla la actividad de muchas enzimas críticas y el almacenamiento de neurotransmisores en las vesículas sinápticas. La acumulación de calcio intraaxonal aumenta 30 minutos después de la lesión, y la concentración de calcio extracelular se reduce rápidamente en este tiempo. La concentración total de calcio se incrementa en los segmentos medulares dañados a los 45 minutos del trauma; su valor máximo lo alcanza ocho horas después de la lesión y permanece elevado al menos durante una semana.

El calcio intracelular se incorpora a través de los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje o del canal asociado al receptor para glutamato tipo NMDA (N-metil-aspartato). Los sitios de almacenamiento intracelular localizados en mitocondrias y retículo endoplásmico también contribuyen a la liberación de calcio. La salida de calcio de la célula, mediada por la calcio-ATPasa, está inhibida.¹¹ El exceso de calcio tiene un efecto nocivo sobre la función de las neuronas que aún permanecen vivas y puede llegar a causar su muerte. La activación de las fosfolipasas dependientes de calcio, como la fosfolipasa C y A2, tiene como resultado la alteración de la membrana celular y la producción de araquidonato, cuyo metabolismo produce tromboxanos, leucotrienos y radicales libres de oxígeno, que promueven el daño tisular e inflamación.¹² Los niveles de potasio extracelular se elevan en la fase aguda postraumática, la fosfolipasa dependiente de Ca^{++} se activa, hidrolizando fosfolípidos y liberando ácidos grasos. La acumulación acelerada de ácidos grasos polinsa-

Oxygen free radicals finish proteins, lipids and nucleic acids, it leads to lipoperoxides formation and destroys cellular membranes in not damaged cells.^{15,16}

Inflammatory response is initiated few hours after injury and it remains during several days. This response includes: endothelial damage, proinflammatory mediators release, like interleukins 1 and 6 (IL1, IL6), tumoral necrosis factor (TNF α) and macrophage inflammatory proteins (MIP)-1 α and β .¹⁷ The wave of events initiated by trauma includes changes in vascular permeability, edema, inflammatory cell infiltration and microglial activation.²

In injured spinal cord, damaged oligodendrocytes expose specific proteins called Nogo; they are associated with axonal growth inhibition. These inhibitory molecules are not present in the normal external membrane of oligodendrocyte, they must be injured.¹⁸ The nature of these inhibitory proteins is antigenic and recently researchers have produced an antibody called NI-1, against Nogo. New researches carried out with rats injured in the corticospinal tract and treated with NI-1, administered by infusion pumps *in situ*, showed axonal sprout formation and recovering of motor reflex and locomotor function.⁴

Another myelin-derivative component with inhibitory function of the axonal growth is MAG (myelin associated glycoprotein),¹⁹ it can promote or inhibit neurite growth, depending on the neuronal developmental stage *in vitro*.^{20,21} Other proteins like colapsines-semaphorines have a repulsive effect on axonal guide (in cell cultures axons are not directed lineally; they are deviated), they are a big glycoprotein family with a repulsive effect on axonal guide. Colapsine 2 is produced by pre-oligodendrocytes and it is present in white and gray substances.²² Probably during spinal cord injury other extracellular matrix molecules that are present during development, as netrins²³ or tenasin-ECM molecules (janusin-restictin), are exposed. They have an inhibitory activity on neuronal growth, i.e. when they are added *in vitro* reject and deviated neuron growth cones.²⁴

Subacute phase

Subacute phase is characterized by reactivation of glial cells as a consequence of necrosis, hemorrhage and local ischemia after trauma. During first week after trauma, the ischemic area is the site where secondary neuronal death takes place and cystic cavities will be developed during the chronic phase (Figure 1). Cysts are formed mainly by reactive glia; it involves astrocytes, microglia and populations of peripheral cells located in the lesion area. "Glial scar" is an accumulation of hypertrophic fibrotic astrocytes in

turados que sigue a la lesión muestra un patrón bifásico. El pico inicial ocurre entre cinco y 15 minutos posteriores a la lesión; los niveles normales de calcio se recuperan después de una hora. La concentración tisular sube de nuevo cuatro horas después del trauma y alcanza otro máximo a las 24 horas. Este segundo pico correlaciona fuertemente con el grado de daño irreversible.

Los metabolitos del ácido araquidónico, incluyendo los tromboxanos y leucotrienos, afectan al flujo sanguíneo y la inflamación e influyen en el daño secundario. Además de la vasoconstricción provocada por la activación de la fosfolipasa A2, la agregación de las plaquetas contribuye a la reducción postraumática del flujo sanguíneo. La hidrólisis de fosfolípidos causa liberación y oxidación de ácidos grasos polinsaturados, así como producción de radicales libres de oxígeno.¹³ El origen de los radicales libres de oxígeno después de una lesión en la médula espinal se debe a la actividad de los macrófagos sanguíneos que atraviesan la barrera hematoencefálica destruida. En la médula espinal lesionada, la muerte eritrocitaria provee además una fuente de hierro que cataliza la formación de radicales libres de oxígeno. La elevación del calcio intracelular estimula la liberación de aminoácidos excitatorios como glutamato y aspartato, cuya concentración extracelular máxima ocurre pocos minutos después del trauma, estos aminoácidos resultan ser altamente tóxicos para las neuronas que no sufrieron daño.¹⁴ Los radicales libres de oxígeno acaban con las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, lo cual permite la formación de lipoperoxidos y destruyen las membranas celulares de células no dañadas.^{15,16}

La respuesta inflamatoria, iniciada a las pocas horas del trauma medular, se mantiene por varios días. Esta respuesta incluye daño endotelial, liberación de mediadores proinflamatorios como las interleucinas 1 y 6 (IL-1, IL-6), el factor de necrosis tumoral (TNF α) y las proteínas inflamatorias de macrófagos (MIP)-1 α y β .¹⁷ La cascada de acontecimientos iniciada por el trauma incluye cambios en la permeabilidad vascular, desarrollo de edema, infiltración de células inflamatorias y activación de la microglía.²

Cuando hay un trauma en la médula espinal, los oligodendrocitos dañados exponen unas proteínas específicas denominadas Nogo y están relacionadas con la inhibición del crecimiento axonal. Vale la pena destacar que estas moléculas inhibitorias no se encuentran en la membrana externa de los oligodendrocitos, sino que para exhibirla los oligodendrocitos deben estar dañados.¹⁸ La naturaleza de estas moléculas inhibitorias es antigénica y recientemente se ha producido el anticuerpo NI-1, dirigido contra el antígeno inhibitorio Nogo. Nuevas investigaciones realizadas en ratas que presentaban

the surface of the lesion; those cells are called reactive astrocytes.

Reactive astrocytes show an increased expression of the intermediate filaments recognized by antibodies against glial fibrillar acid protein (GFAP). This response reaches its highest levels 14 days after injury and remains for 28 days.²

Reactive glia represent an attempt of the nervous system to isolate itself from the uncontrolled influences of the organism, reconstructing a new glia limitans or "glial scar" that represent the mayor obstacle to restore injured connetions.³ Astrocytic surface changes due to proteoglycanes expression, they inhibit the initiation, adhesion, growth and neurite orientation.²⁵⁻²⁷ Additionally, fibroblasts of adjacent connective tissue proliferate over the astrocytic layer and deposite collagen completing the formation of a true barrier to separate neurones that were connected before injury. Neurones that have lost their original innervations are re-innervated by not damaged neurones closed to them; generally this does not conduce to the recovery of their primitive function. This barrier, nevertheless, represent a true obstacle to restore new conexions.²⁸

Other types of cells that invade the lesion site in spinal cord are Schwann cells, meningeal cells and fibroblasts. Schwann cells, are able to migrate from the peripheral nervous system to the central nervous system in presence of damage and they have been implicated in the process of recovery in uncompleted medullar injuries.²⁹ Concentrations of basic fibroblast growth factor (FGF-2) increase into the lesion site, it promotes fibroblast proliferation and angiogenesis.³⁰ Schwann cells, fibroblast and macrophages deposit extracellular matrix material, such as laminin, fibronectin and different types of collagen,³¹ that might be involved on functional recovery in uncompleted medullar injuries.

The subacute phase of spinal cord injury includes two moments were cellular inflammatory infiltration can occur. In the first one, polymophonuclear granulocytes are infiltrated; during the second one, monocytes-macrophages invade the lesion site. Polymophonuclear leukocyte infiltration depends on hemorrhage in the lesion site, because the hemoglobin products are strong chemo-attractants for them and induce neuronophagia^{32,33} and astrophagia.³⁴ Infiltration of monocyte-macrophage-microglial cells, phagocyte death tissue.³⁵ In this phase microglial cells are reactivated and acquire amoeboid morphology,³⁶ they express molecules of the histocompatibility complex class I and II (MHC I and III), C3 complement receptor and macrophage marker ED1.³⁷ Those changes are related with microglia activation and transformation in phagocytic cells.³⁵ Microglial

lesión en el tracto corticoespinal demuestran que cuando NI-1 es administrado con bombas de infusión *in situ*, mejora la formación y ramificación de los brotes axonales, mediando así la recuperación de reflejos motores y funciones locomotoras.⁴

Otro de los componentes inhibitorios del crecimiento axonal derivados de la mielina es la glicoproteína asociada a mielina MAG (myelin associated glycoprotein),¹⁹ que puede promover o inhibir el crecimiento de neuritas, dependiendo del estado desarrollo de la neurona *in vitro*.^{20,21} Las proteínas como las colapsinas-semaforinas constituyen una gran familia de glucoproteínas transmembrana que tienen efecto repulsivo a la guía axonal, ya que en cultivos celulares, los axones no se dirigen linealmente sino que se desvían. La colapsina 2, en particular, es producida por los oligodendrocitos durante el desarrollo y está normalmente presente en la materia blanca y gris.²² Es probable que durante el daño medular se exponga a otras moléculas de la matriz extracelular que también están presentes durante el desarrollo, como las netrinas²³ o las moléculas de la familia de la tenasina-ECM (janusina-restrictina), y que ejerzan una actividad inhibitoria del crecimiento neuronal, ya que cuando son administradas *in vitro* se observa que repelen y desvían los conos de crecimiento nervioso.²⁴

Fase subaguda

En la fase subaguda, sobreviene la reactivación de las células gliales como consecuencia de la necrosis, la hemorragia e isquemia local posteriores al trauma medular. Durante la primera semana después del trauma, se conforman las zonas de penumbra isquémica en las que tendrá lugar muerte neuronal secundaria, donde se formarán cavidades y quistes durante la fase crónica (Figura 1). Los quistes están formados principalmente por glía reactiva; ésta involucra a la microglía y la astrogía, así como a poblaciones de células periféricas en el área de la lesión. La "cicatriz glial" consiste en una acumulación de astrocitos fibrosos hipertróficos en la superficie de la lesión, denominados astrocitos reactivos.

Los astrocitos reactivos muestran incremento en la expresión de filamentos intermedios que son reconocidos por anticuerpos contra la proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP). Esta respuesta alcanza un máximo a los 14 días de la lesión, pero permanece hasta 28 días después.²

La glía reactiva representa el intento del sistema nervioso por aislarse de las influencias incontroladas del resto del organismo, reconstituyendo una nueva *glia limitans* o "cicatriz glial" y constituye el mayor obstáculo para la restitución de las conexiones lesionadas,³ ya

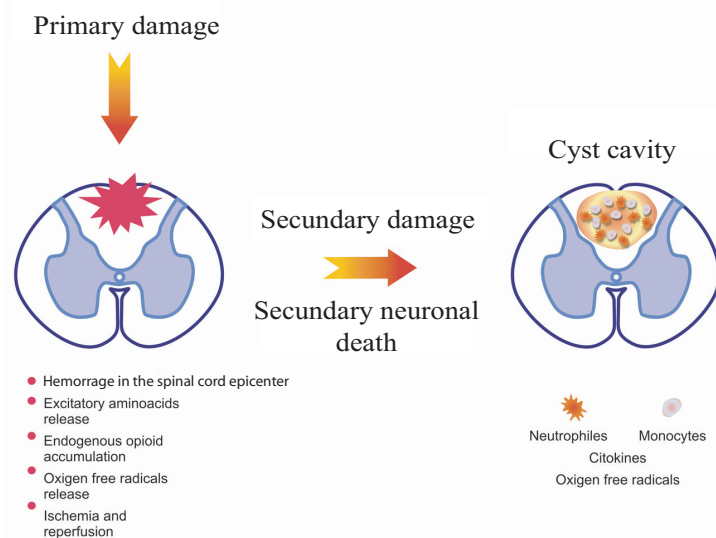


Figura 1. Esquema representativo de los cambios tisulares que ocurren en la médula espinal después de una lesión aguda.

Diagram showing the changes that occur in spinal cord after an acute lesion.

activation is a graduated process dependent on the severity of injury, it starts in the central zone of the spinal cord and is extended to gray and white adjacent substances.⁶ Inflammatory cells can persist for weeks into the cavities.³⁸ In models of spinal cord trauma, once glia limitans is broken and dendritic cells are damaged, resident microglia and mononuclear cells are recruited to facilitate antigen exposition in the MHC class II context, that with other co-stimulating substances, like proinflammatory cytokines (Th1 [IL-2, IFN γ] and Th2),³⁹ favor the expansion and activation of autoreactive repertoire of positive CD4 T lymphocytes and develop a posterior autoimmune process.⁴⁰

Chronic phase

During chronic phase, the degenerative process on the injured spinal cord continues and is extended along the primary lesion site. Neuronal destruction is extended in space and time. Secondary or late neuronal death starts one or two days after the lesion, killing more neurons than the primary neuronal death. Neural tissue (glia and neurons) close to the injured area or connected with it, present a depression on electric and functional activity, this area is known as penumbra zone in ischemic lesions and evolves to secondary lesion, that is responsible of functional loss in brain and spinal cord trauma. Trauma causes death of neurons and glia, blood vessels destruction and axonal tract lesions. Because death neurons are not replaced, injured axons do not regenerate and functional disturbance is permanent.²⁸ Acute and subacute phases are resolved in days, weeks or months after lesion. Phagocytic macrophage disappears from the lesion area and abandons the cyst cavity that is now full with brain fluid and surrounded by reactive glia.¹⁶

que la superficie de los astrocitos reactivos cambia debido a la expresión de proteoglicanos inhibidores de la iniciación, adhesión, crecimiento y orientación de las neuritas.²⁵⁻²⁷ Adicionalmente, los fibroblastos del tejido conjuntivo adyacente proliferan sobre la capa de astrocitos fibrosos, depositan colágeno y completan la formación de una verdadera barrera que separa las neuronas que antes de la lesión estaban conectadas. Las neuronas que han perdido su innervación original son invadidas por neuronas cercanas no dañadas, lo que, en general, no conduce a la recuperación de la función primitiva. Esta barrera, no obstante, implica un serio obstáculo para el restablecimiento de nuevas conexiones.²⁸

Otros tipos celulares que invaden también el sitio de lesión medular son las células de Schwann, las células meníngeas y los fibroblastos. Las células de Schwann, son capaces de migrar desde el sistema nervioso periférico al central en presencia de daño y se han implicado en procesos de recuperación en lesiones medulares incompletas.²⁹ En la lesión hay un aumento en la concentración del factor de crecimiento fibroblástico básico (FGF-2), que promueve la proliferación de fibroblastos y angiogénesis.³⁰ Tanto las células de Schwann como los fibroblastos y los macrófagos depositan material de matriz extracelular, como la laminina, fibronectina y colágeno de diferentes tipos³¹ que quizá estén implicados en recuperación funcional en lesiones incompletas.

En la fase subaguda de la lesión medular hay dos momentos en que ocurre infiltración de células inflamatorias. En el primero se infiltran granulocitos polimorfonucleares; durante el segundo, monocitos-macrófagos invaden la lesión. La infiltración de leucocitos polimorfonucleares depende de la hemorragia en el sitio de lesión, porque los productos de la hemoglobina son fuertes quimioatrayentes

Myelin loss is dependent on time and starts 24 h after lesion. After 7 days, axons are presented without myelin protection and demyelination increase two weeks later, due to inflammatory cells effect that enter in a secondary migration stage.⁴¹ Three weeks later some axons show wallerian degeneration and loss of axonal diameter.⁴² Oligodendrocyte immature forms that are not damaged are found in the adjacent area of spinal cord lesion. Those precursor cells can mature and they are able to remyelinate some axons,⁴³ this process is concomitant with macrophage depletion.⁴⁴ Close to the dorsal root entrance, in lesions with extensive wallerian degeneration, it has been detected remyelination due to Schwann cells.^{45,46} Schwann cells express neurotrophic factors and are able to produce peripheral myelin and endogenous axonal regeneration.⁴⁷ It means that neurotrophins, either from Schwann cells or when they are administered exogenously, can induce axonal regeneration. The neuronal ability to respond to neurotrophic factors decreases throughout the time after lesion.⁴⁸

Conclusions

This review is based on dates obtained from recent researches. An attempt to match in a chronologic way some important events occurred during spinal cord injury was made thinking in function on the therapy administration in a short, medium or long period. It is feasible to think that much of this process could accelerate its presentation depending on the severity of the lesion. It is not pretending in any way to be systematic in order to show the consecution of events that may occur simultaneously; just is offered important information that could help the researcher or veterinarian to guide in which moment it is possible to apply any treatment.

From these study is bring out that complex series of reactions occur during spinal cord trauma, and how researchers have done in order to promote central nervous system reparation. This information is very important because it allows to know the window time available in order to attempt neuroprotection and to avoid secondary neuronal death, which occurs 72 h after an acute trauma; obviously there are variations among species, for example, in mice these window is one week after trauma.^{49,50} During the acute phase is possible to prevent an oxidative process with anti-inflammatory and antioxidant drugs.⁵¹ Glial scar is formed since 12 days after injury, the astrocytic division peak occurs 14 days after the injury and remain there for one month. This information has permitted the researchers to know the right moment to apply division inhibitory drugs or antibodies directed against proteoglycans that are produced by reactive

de éstos e inducen neuronofagia^{32,33} y astrofagia.³⁴ La infiltración de las células de linaje monocito-macrófago-microglial, que fagocitan el tejido muerto.³⁵ En esta fase las células microgliales se reactivan y adquieren morfología ameboide,³⁶ expresan moléculas de los complejos de histocompatibilidad clase I y II (MHC I y II), el receptor de la fracción C3 del complemento y el marcador de la activación de macrófagos ED1.³⁷ Estos cambios marcan la activación de la microglía y su transformación en células fagocíticas.³⁵ La activación microglial es un proceso graduado que depende de la severidad de la lesión, empieza en la zona central de la médula espinal y se extiende a la sustancia gris y blanca adyacente.⁶ Las células inflamatorias pueden persistir por semanas dentro de las cavidades.³⁸ En los modelos de trauma medular, una vez que se rompe la *glia limitans* y se dañan las células dendríticas, la microglía residente y las células mononucleares reclutadas facilitan la exposición y la presentación de antígenos en el contexto de MHC (*major histocompatibility complex*) clase II, que junto con sustancias coestimuladoras como las citocinas proinflamatorias (Th1 [IL-2, IFN γ] y Th2),³⁹ favorecen la activación y expansión del repertorio autorreactivo de los timocitos CD4 positivos que desarrollan posteriormente un proceso autoinmune.⁴⁰

Fase crónica

Durante la fase crónica, el proceso degenerativo de la médula espinal continúa y se extiende a lo largo del sitio de lesión primaria. La destrucción neuronal se extiende en el tiempo y en el espacio. La llamada muerte neuronal secundaria o tardía comienza uno o dos días después de la lesión y es responsable de la muerte de más neuronas que las que ocasiona la muerte neuronal primaria. El tejido neural (neuronas y glía) cercano al área lesionada o conectado con ella, presenta actividad eléctrica y actividad funcional deprimidas, esta zona, llamada zona de penumbra en las lesiones isquémicas, evoluciona hacia lo que se conoce como lesión secundaria y posiblemente es responsable de la pérdida de función neuronal, en la mayoría de los traumas dirigidos a cerebro y médula espinal. El trauma causa muerte, tanto de neuronas como de células gliales, destrucción de vasos sanguíneos y lesión de tractos axonales. Ya que las neuronas muertas no son reemplazadas, los axones lesionados no se regeneran y los trastornos funcionales son permanentes.²⁸ Las fases de trauma medular aguda y subaguda se resuelven varios días, semanas o meses después de la lesión. Los macrófagos fagocíticos desaparecen del área lesionada y dejan una cavidad llamada quiste, carente de células, llena

astrocytes in order to inhibit the axonal growth inhibition.²⁵

Derivatives of damaged myelin stop axonal growth and its effect can be resisted when antibodies against these molecules are added, it has been observed that sprouting of the collateral type is found.⁵²

It is unquestionably that four-footed animals have recovery indication signs when spinal cord injury is uncompleted; they can recover sensitivity and motor activity in a partial way, situation that is not observed in bipeds. It is due to neurotrophic factors supplied by Schwann cells that infiltrate the lesion site but it is also due to the presence of spinal accessory tracts that are not present in bipeds.^{46,53} These data are very positive, because neurotrophin addition promote axonal regrowth and neuronal surviving.⁴⁸ Likewise, there is special interest on transplant of different cells types related with those last topics, that is the case of olfactory ensheathing glia,⁵³ stem cells, Schwann cells, fibroblasts, etc.,¹⁰ those transplants at the moment are in researching but they have shown a relative effect on functional recovery, may be in a future can be applied in animal or human patients.

In cronic spinal cord injury, the study has to be board deeply of the therapeutic possibilities existing now. In the chronic stage it is possible to perform tissue substitution with biocompatible matrix that favors axonal growth or supports stem cell transplants added with neurotrophins or not, those strategies are now tried by basic science.⁵³⁻⁵⁶

It is necessary to know the pathophysiology of spinal cord and study in depth all the therapeutic procedures existing, also to review the ones that are actually in research, because many of them have been practiced only in acute or subcute phase.⁵⁷ Because spinal cord injury is a very complex process, it will be important to review if all the therapeutic dispositions can be applied integrally, just if we think in a experimental manner, only one treatment is proved, and may be this is the reason way researchers just have obtained partial results.

Referencias

1. David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science* 1981;214: 931-933.
2. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996; 76: 319-370.
3. Nieto-Sampedro M. Neurite outgrowth inhibitors in gliotic tissue. *Adv Exp Med Biol* 1999; 468:207-224.
4. Bandtlow CE, Schwab ME. NI/35250/Nogo-A: a neurite growth inhibitor restricting structural plasticity and regeneration of nerve fibres in the adult vertebrate CNS. *Glia* 2000; 29:175-181.

de fluido cerebroespinal rodeada de glía reactiva.¹⁶

La pérdida de mielina es dependiente del tiempo y empieza a las 24 horas de la lesión. A los siete días, se presentan los axones sin protección de mielina y la desmielinización se incrementa después de dos semanas,⁴¹ debido al efecto de las células inflamatorias que entran en una segunda fase de migración. A las tres semanas, algunas fibras presentan degeneración walleriana y pérdida del diámetro axonal.⁴² En zonas adyacentes a la lesión medular se encuentran formas inmaduras de oligodendrocitos no dañadas. Estos precursores, al madurar, son capaces de remielinizar algunos axones,⁴³ y la depleción de macrófagos es concomitante con la remielinización.⁴⁴ Cerca de la zona de entrada de la raíz dorsal, en lesiones con degeneración walleriana extensiva, se ha identificado remielinización debida a células de Schwann.^{45,46} Se ha reportado regeneración axonal endógena debida los factores tróficos que liberan las células de Schwann, estas células además son capaces de mielinizar los axones regenerados.⁴⁷ Esto implica que cuando hay una lesión medular, los factores de crecimiento de tipo neurotrófico (neurotrofinas), ya sea los que son producidos por las células de Schwann o bien si son administrados exógenamente, pueden inducir regeneración axonal. Esta capacidad de respuesta de las neuronas a factores neurotróficos decrece cuanto más tiempo pase después del trauma inicial.⁴⁸

Conclusiones

La información contenida en esta revisión está basada en datos obtenidos de investigaciones científicas recientes. Se han intentando acoplar de manera cronológica algunos eventos que resultan importantes si se piensa en función de la administración de una terapia a corto, mediano y largo plazos. Es factible pensar que muchos de estos procesos podrían acelerarse en su presentación, según la severidad de la lesión. No se pretende de ninguna manera sistematizar la consecución de los eventos que quizá ocurran simultáneamente; sólo se pretende ofrecer datos importantes que podrían ayudar al investigador o al médico a guiarse en el momento de aplicar un tratamiento.

Es tan compleja la serie de reacciones que ocurren durante el trauma medular que de este estudio se desprende cómo los investigadores han hecho para intentar la reparación del sistema nervioso central. Lo relevante de esta información es que, por ejemplo, permite conocer el tiempo disponible para intentar la neuroprotección y así evitar la muerte neuronal secundaria, después de un trauma medular agudo, que es de 72 horas, pero varía según la especie en la que se recopile el dato; por ejemplo, se informa

5. Oliver JE, Lorenz MD. Handbook of Veterinary Neurology. 2nd ed., Philadelphia, W.B. Saunders CO, 1997.
6. Dusart I, Schwab ME. Secondary cell death and inflammatory reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 1994; 6: 712-724.
7. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
8. Azbill RD, Mu X, Bruce-Keller AJ, Mattson MP, Springer JE. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following a traumatic spinal cord injury. *Brain Res* 1997; 765: 283-290.
9. Lee YB, Shih K, Bao P, Ghirnikar RS, Eng LF. Cytokine chemoquine expression in contused rat spinal cord. *Neurochem Int* 2000; 36: 417-425.
10. Hulsebosch CE. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. *Adv Physiol Educ* 2002; 26:238-355.
11. Balentine JD, Spector M. Calcification of axons in experimental spinal cord trauma. *Ann Neurol* 1977; 2: 520-523.
12. Young W, Koreh I. Potassium and calcium changes in injured spinal cords. *Brain Res* 1986; 365: 42-53.
13. Taoka Y, Okiyama K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 341-358.
14. Lotan M, Solomon A, Ben-Bassta S, Schwartz M. Cytokines modulate the inflammatory response and change permissiveness to neuronal adhesion in injured mammalian nervous system. *Exp Neurol* 1994; 126: 284-290.
15. Franssen R, Schoenen J, Leprince P, Joosten E, Moonen G, Martin D. Effects of macrophage transplantation in the injured rat spinal cord: a combined immunocytochemical and biochemical study. *J Neurosci Res* 1998; 51: 316-327.
16. Girardi FP, Khan SN, Cammisa FP, Blanck T. J. J. Advances and Strategies for Spinal Cord Regeneration. *Orthop Clin North America*, 2000; 31: 465-472.
17. Bartholdi D, Schwab ME. Expression of proinflammatory cytokine and chemokine mRNA upon experimental spinal cord injury in mouse: an hybridisation study. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 1422-1438.
18. Schnell L, Schwab ME. Axonal regeneration in the rat spinal cord produced by an antibody against myelin-associated neurite growth inhibitors. *Nature* 1990; 343:269-272.
19. Schachner M, Bartsch U. Multiple functions of the myelin-associated glycoprotein MAG (siglec-4a) in formation and maintenance of myelin. *Glia* 2000; 29: 154-165.
20. Filbin MT. The muddle with MAG. *Mol Cell Neurosci* 1996; 8:84-92.
21. Tang S, Woodhal RW, Shen YJ, deBellard ME, Saffell JL, Doherty P, et al. Soluble myelin-associated glycoprotein (MAG) found *in vivo* inhibits axonal regeneration. *Mol Cell Neurosci* 1997; 9:333-346.
22. Feiner L, Koppel AM, Kobayashi H, Raper JA. Secreted chick semaphorins bind recombinant neurophilin

que en ratones la ventana es de una semana antes de que las neuronas no dañadas sufran los estragos secundarios.^{49,50} Durante la lesión medular aguda es posible prevenir el proceso oxidativo con agentes antioxidantes y antiinflamatorios.⁵¹ La cicatriz glial se desarrolla en rata a partir de los 12 días, los atrociitos se dividirán y alcanzarán su pico a los 14 días y se mantendrán hasta por un mes después de la lesión. Esta información ha permitido a los investigadores saber el momento en el que se deben aplicar los fármacos inhibidores de la división celular o bien anticuerpos contra los proteoglicanos producidos por los astrociitos reactivos para intentar impedir la inhibición del crecimiento axonal.²⁵

Los derivados de mielina dañada impiden el crecimiento axonal y su efecto se puede contrarrestar al aplicar anticuerpos contra estas moléculas, el efecto de este anticuerpo es aumentar el crecimiento de ramas axonales de tipo colateral (*sprouting*).⁵²

Es indudable que en animales cuadrúpedos existen indicios de recuperación cuando las lesiones son incompletas, ya que pueden recuperar la sensibilidad y la actividad locomotora de manera parcial, situación que no comparten con los bípedos. Esto se debe, en parte, a la presencia de factores de crecimiento proporcionados por células de Schwann que se infiltran en el sitio de lesión y a la presencia de tractos espinales accesorios con los que los bípedos no cuentan.^{46,53} Estos datos son alentadores, pues la adición de neurotrofinas promueve el crecimiento axonal y la sobrevivencia neuronal.⁴⁸ Asimismo, se ha motivado el estudio de los trasplantes celulares de glía envolvente de bulbo olfatorio,⁵³ células troncales, células de Schwann, fibroblastos, etc.,¹⁰ que hasta el momento han dado resultados parciales que pueden tener a futuro una aplicación en pacientes humanos y animales.

En las lesiones de la médula espinal de tipo crónico se tendrá que establecer un estudio más profundo sobre las posibilidades terapéuticas existentes. En un estado crónico es posible la sustitución de tejido con matrices biocompatibles que favorezcan el crecimiento axonal, y que apoyen los trasplantes de células madre o troncales de tipo neural con o sin la adición de factores de crecimiento nervioso; estas últimas son, por ahora, estrategias que están siendo probadas en ciencia básica.⁵³⁻⁵⁶

Por esta razón es necesario conocer la fisiopatología del proceso de la lesión medular para profundizar en la revisión de los procedimientos terapéuticos que son utilizados a la fecha y revisar también los que están en investigación actualmente, ya que muchos de ellos se han practicado sólo para reparar lesiones agudas y no crónicas.⁵⁷ Dada la complejidad de los acontecimientos que surgen en el daño medular,

with similar affinities but bind different subsets on neurons *in situ*. *Neuron* 1997; 19:539-545.

23. Wang KH, Brose K, Arnold D, Kidd T, Goodman CS, Henzel W, *et al*. Biochemical purification of a mammalian slit protein as a positive regulator of sensory axon elongation and branching. *Cell* 1999; 96:771-784.
24. Taylor J, Pesheva P, Schachner M. Influence of janusin and tenascin on growth cone behaviour *in vitro*. *J Neurosci Res* 1993; 35: 347-62.
25. Bovolenta P, Wandosell F, Nieto-Sampedro M. Characterization of a neurite outgrowth inhibitor expressed after CNS injury. *Eur J Neurosci* 1993; 5: 454-465.
26. Bovolenta P, Fernaud-Espinosa I, Mendez-Otero R, Nieto-Sampedro, M. Neurite outgrowth inhibitor of gliotic brain tissue. Mode of action and cellular localization, studied with specific monoclonal antibodies. *Eur J Neurosci* 1997; 9: 977-989.
27. Canning DR, Hoke A, Malemud CJ, Silver J. A potent inhibitor of neurite outgrowth that predominates in the extracellular matrix of reactive astrocytes. *Int J Dev Neurosci* 1996; 14: 153-175.
28. Nieto-Sampedro M. Reparación del trauma medular. *Bol Soc Esp Neuroci* 2001; 12: 2-15.
29. Blight AR, Young W. Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by Schwann cells. *J Neurol Sci* 1989; 91:15-34.
30. Blight AR. Morphometric analysis of blood vessels in chronic experimental spinal cord injury: hypervascularity and recovery of function. *J Neurol Sci* 1991; 106:158-174.
31. Risling MK, Fried H, Linda T, Carlsted T, Culheim S. Regrowth of motor axons following spinal cord lesions: distribution of laminin and collagen in the CNS scar tissue. *Brain Res Bull* 1993; 30: 405-414.
32. Means ED, Anderson DK. Neuronophagia by leukocytes in experimental spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983; 42:707-719.
33. McTigue DM, Tani M, Krivacic K, Chernosky A, Kelner GS, Maciejewski D. Selective chemokine mRNA accumulation in the rat spinal cord after contusion injury. *J Neurosci Res* 1998; 53: 358-376.
34. Moreno-Flores M.T, Bovolenta, P, Nieto-Sampedro M. Polymorphonuclear leukocytes in brain parenchyma after injury and their interaction with purified astrocytes in culture. *Glia* 1992; 7: 146-157.
35. Perry VH, Brown MC, Gordon S. The macrophage response and inflammation in the central nervous system. *Trends Neurosci* 1993; 16: 268-273.
36. Anderson PB, Perry BH, Gordon S. The kinetic and morphological characteristics of the macrophage-microglial response to kainic acid-induced neuronal degeneration. *Neuroscience* 1991; 42: 202-214.
37. Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW. Functional plasticity of microglia: a review. *Glia* 1988;1:301-307.
38. Barlett B, Holets VR, Bates ML, Clarke TS, Watson BD. Characterization of photochemically induced spinal

sería importante revisar si estas medidas terapéuticas pueden ser aplicadas de manera integral, pues de manera experimental se aborda un solo tratamiento, por lo cual podría no ser exitoso o bien sólo se obtendrán resultados parciales.

- cord injury in the rat by light and electron microscopy. *Exp. Neurol* 1994; 127:76-93.
39. Wang CX, Oslochowka JA, Wrathall JR. Increase of interleukin-1 β mRNA and protein in the spinal cord following experimental traumatic injury in the rat. *Brain Res* 1997; 59: 190-196.
40. Popovich PG, Stokes BT and Whitacre CC. Concept of autoimmunity following spinal cord injury: possible roles for T lymphocytes in the traumatized central nervous system. *J Neurosci Res* 1996; 45: 349-363.
41. Griffiths IR, McCulloch MC. Nerve fibres in spinal cord impact injuries. *J Neurol Sci* 1983; 58: 335-349.
42. Blight AR, Decrescito V. Morphometric analysis of experimental spinal cord injury in the cat: the relation of injury intensity to survival of myelinated axons. *Neuroscience* 1986; 19:321-346.
43. Morin-Richau C, Felblum S, Privat A. Astrocytes and oligodendrocytes reactions after total section of the rat spinal cord. *Brian Res* 1998; 783: 85-101.
44. Kotter MR, Setzu A, Fraser JS, vanRooijen N, Franklin RJM. Macrophage depletion impairs oligodendrocyte remyelination following lysolecithin-induced demyelination. *Glia* 2001; 35: 204-212.
45. Blight AR, Young W. Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by Schwann cells. *J. Neurol Sci* 1989; 91:15-34.
46. Beattie MS, Bresnahan JC, Komon J, Tovar CA, Van Meter M, Anderson DK, *et al*. Endogenous repair after spinal cord contusion injuries in the rat. *Exp Neurol* 1997; 148: 453-463.
47. Li Y, Raisman G. Schwann cells induce sprouting in motor and sensory axons in the adult rat spinal cord. *J Neurosci* 1994; 14: 4050-4063.
48. Houle JD, YeJH. Changes occur in the ability to promote axonal regeneration as the post-injury period increases. *Neuroreport* 1997; 8: 751-755.
49. Bhavé SV, Ghoda L and Hoffman PL. Brain-derived neurotrophic factor mediates the anti-apoptotic effect of NMDA in cerebellar granule neurons: signal transduction cascades and site of ethanol action. *J Neurosci* 1999; 19: 3277-3286.
50. Wrathall JR, Choiniere D, Teng YD. Dose-dependent reduction of tissue loss and functional impairment after spinal cord trauma with the AMPA/kainite antagonist NBQX. *J Neurosci* 1994; 14: 6598-6607.
51. Bartholdi D, Schwab ME. Methylprednisolone inhibits early inflammatory processes but not ischemic cell death after experimental spinal cord lesion in the rat. *Brain Res* 1995; 672: 177-186.
52. Caroni P, Schwab ME. Antibody against myelin associated inhibitor of neurite growth neutralizes non-

- permissive substrate properties of CNS white matter. *Neuron* 1988; 1: 85-96.
53. Caballero Ch S. Producción de células similares a la glía de Schwann a partir de células madre neurales, para la reparación de lesiones medulares en rata (tesis doctoral). Madrid, España. Universidad Autónoma de Madrid, 2003.
54. Joosten EAJ. Corticospinal tract regrowth. *Prog Exp Neurol* 1997, 53: 1-25.
55. Spilker MH, Yannas IV, Kostyk SK, Norregard TV, Hsu H-P, Spector M. The effects of tubulation on healing and scar formation after transection of the adult rat spinal cord. *Rest Neurol Neurosci* 2001; 18:23-38.
56. Woerly S, Doan VD, Sosa N, deVellis J, Espinosa A. Reconstruction of the transected cat spinal cord following Neuro-Gel implantation: axonal tracing, immunohistochemical and ultrastructural studies. *Int J Dev Neurosci* 2001; 19: 63-83.
57. Houle J and Tesslerb A. Repair of chronic spinal cord injury. *Exp Neurol* 2003; 182: 247-260.