

SS

SECRETARÍA DE SALUD  
DEL ESTADO DE VERACRUZ

SECRETARIA DE SALUD DEL ESTADO DE VERACRUZ  
HOSPITAL GENERAL REGIONAL

“Dr. Luis F. Nachón”

Xalapa, Veracruz

MEDICINA INTERNA



**OFICIO DE ENTREGA DE**  
**PROTOCOLO DE INVESTIGACION**

*“Determinación de los niveles séricos de glutamato como marcador de severidad a corto y mediano plazo en pacientes que sufren Evento Vascular Cerebral Isquémico y Hemorrágico”*

**Como parte del proceso de evaluación para promoción del ciclo académico 2014 – 2015, hago entrega de protocolo de investigación (3 tantos impreso y 1 disco con el documento electrónico)**

PRESENTA:

PANIAGUA LÓPEZ LUIS FRANCISCO  
Residente de primer año de la especialidad de  
Medicina Interna

DR. CARLOS BRITO SUAREZ JACOME  
Médico internista (asesor)

DR. ARMANDO CORDOVA  
Neurólogo (asesor)

DR. RAUL SOTO LARES  
Neurocirujano (asesor)

XALAPA, VERACRUZ; ENERO DE 2014

**SS**

SECRETARÍA DE SALUD  
DEL ESTADO DE VERACRUZ

**SECRETARIA DE SALUD DEL ESTADO DE VERACRUZ  
HOSPITAL GENERAL REGIONAL**



**“Dr. Luis F. Nachón”**

Xalapa, Veracruz

**MEDICINA INTERNA**

**PROTOCOLO DE INVESTIGACION**

*“Determinación de los niveles séricos de glutamato como marcador de severidad a corto y mediano plazo en pacientes que sufren Evento Vascular Cerebral Isquémico y Hemorrágico”*

**PRESENTA:**

**PANIAGUA LÓPEZ LUIS FRANCISCO**

Residente de primer año de la especialidad de  
Medicina Interna

**ASESORES:**

**DR. CARLOS BRITO SUAREZ JACOME**

Médico internista

**DR. ARMANDO CORDOVA**

Neurólogo

**DR. RAUL SOTO LARES**

Neurocirujano

**XALAPA, VERACRUZ; ENERO DE 2014**

## **ÍNDICE DE BÚSQUEDA**

### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### **1.2 REVISIÓN BIBLIOHEMEROGRÁFICA**

1.2.1 CONOCIMIENTOS TEÓRICOS

1.2.2 ESTUDIOS CLINICOS RELACIONADOS

### **1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

1.3.1 IMPORTANCIA DE RESOLVER LA DUDA DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.2 UTILIDAD DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

### **1.4 HIPÓTESIS**

### **1.5 OBJETIVOS**

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

## **2. ACCIONES PARA VERIFICAR LA HIPÓTESIS Y/O ALCANZAR LOS OBJETIVOS**

### **2.1 GENERALIDADES**

2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN PROPUESTA

2.1.2 LUGAR DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.3 TIEMPO PARA EL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

### **2.2 MATERIAL DE ESTUDIO**

#### **2.2.1 ELEMENTOS DE ESTUDIO**

2.2.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

2.2.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

2.2.1.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

#### **2.2.2 NUMERO DE ELEMENTOS EN EL ESTUDIO**

2.2.2.1 UNIVERSO O POBLACIÓN

2.2.2.2 MUESTRA

2.2.2.3 GRUPOS

2.2.2.3.1 NUMERO DE GRUPOS

2.2.2.3.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS ELEMENTOS EN  
CADA UNO DE LOS GRUPOS

2.2.2.3.3 NÚMERO DE ELEMENTOS EN CADA UNO DE  
LOS GRUPOS

### **2.3 METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LOS ELEMENTOS**

#### **2.3.1 VARIABLES DE ESTUDIO**

2.3.1.1 LISTADO

2.3.1.2 DEFINICIÓN

2.3.1.3 DESGLOCE DE LAS VARIABLES

2.3.2 TÉCNICA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

2.3.2.1 TIPO DE TÉCNICA PROPUESTA

2.3.2.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

2.3.2.3 ESTRATEGIA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

2.4 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

2.4.1 REGISTRO DE LOS DATOS

2.4.1.1 REGISTRO DE LOS DATOS POR CADA CASO

2.4.2 PRESENTACIÓN DE LAS VARIABLES

2.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

### **3. BIBLIOHEMEROGRAFÍA**

### **4. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **5. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

5.1 RECURSOS NECESARIOS PARA LA INVESTIGACIÓN

5.1.1 RECURSOS HUMANOS

5.1.2 RECURSOS FÍSICOS

5.1.3 RECURSOS ECONÓMICOS

5.2 FACTIBILIDAD Y VIABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

### **6. CRONOGRAMA**

6.1 DE ACTIVIDADES

6.2 DE GASTOS

### **7. ANEXOS**

## 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La enfermedad vascular cerebral (EVC) es un problema de salud pública. De acuerdo con la organización mundial de la salud, la EVC constituye la segunda causa global de muerte (9.7%), de las cuales 4.95 millones ocurren en países con ingresos medios y bajos. Su tasa de recurrencia a 2 años, va del 10 al 22%, pero puede reducirse hasta en 80% con la modificación de factores de riesgo. De no existir intervenciones de prevención adecuadas, se calcula que para el año 2030, su incidencia se incrementara hasta 44%. Datos de la Secretaria de Salud de México muestran que en nuestro país la tasa de mortalidad por EVC se ha incrementado a partir del año 2000, particularmente en menores de 65 años. Durante el 2007 del total de egresos en hospitales públicos el 1% fue atribuido a EVC, mientras que en el 2008, la tasa de mortalidad fue de 28.3/100,000 habitantes.

La EVC representa una entidad heterogénea, constituida por diferentes subtipos, cada uno de los cuales tienen diferentes manifestaciones clínicas, diferente forma de abordaje diagnóstico y quizá lo más importante; requiere de diferentes tratamientos tanto durante la fase aguda como de prevención secundaria.

La presente investigación se fundamenta en la base fisiopatológica de la enfermedad que indica que una vez que existe oclusión o destrucción de un vaso cerebral con la consecuente obstrucción del flujo sanguíneo cerebral, se desencadena una cascada de eventos bioquímicos que inicia con la pérdida de energía y que termina en muerte neuronal. Dentro de estos eventos que perpetúan y exacerban la lesión incluyen el exceso de aminoácidos excitatorios extracelulares (el glutamato el más importante de ellos) que favorecen la formación de radicales libres, inflamación y entrada de calcio a la neurona. Hasta el momento no existen escalas de severidad de la EVC con marcadores séricos como el glutamato, es por eso que surge la duda de investigación **¿existe relación de los niveles séricos de glutamato como marcador de severidad en pacientes que sufren EVC?**, esta investigación intenta descubrir si existe relación directamente proporcional entre los niveles séricos de glutamato y la severidad de la EVC, con vista en que de demostrarse esta relación se plantee que farmacológicamente la cascada isquémica pueda ser modificada y disminuir sus efectos deletéreos a nivel neuronal, lo que representa en la actualidad una de las áreas de investigación más activa.

La enfermedad vascular cerebral, es una entidad clínica que va en aumento en los países industrializados, ocasionando importantes pérdidas económicas por estancia hospitalaria y por incapacidad de población económicamente activa. Por lo anterior, resulta necesario realizar proyectos de investigación dirigidos a conocer factores pronósticos y eventualmente disponer de nuevas herramientas de abordaje terapéutico, para mejorar la evolución de la enfermedad.

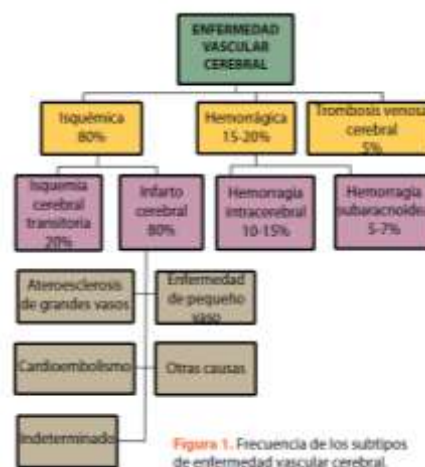
## 1.2 REVISIÓN BIBLIOHEMEROGRÁFICA

### DEFINICION Y CLASIFICACION

La enfermedad vascular cerebral (EVC) es un síndrome clínico caracterizado por el rápido desarrollo de signos neurológicos focales, que persisten por más de 24 h, sin otra causa aparente que el origen vascular. Se clasifica en 2 subtipos: isquemia y hemorragia.

La isquemia cerebral es la consecuencia de la oclusión de un vaso y puede tener manifestaciones transitorias (ataque isquémico transitorio) o permanentes, lo que implica un daño neuronal irreversible.

En la hemorragia intracerebral (HIC) la rotura de un vaso da lugar a una colección hemática en el parénquima cerebral o en el espacio subaracnoideo. En la **figura 1** se muestran los principales subtipos y la frecuencia de cada unos de ellos.



### Isquemia cerebral

En el ataque isquémico transitorio (AIT) no existe daño neuronal permanente. La propuesta actual para definir al AIT establece un tiempo de duración de los síntomas no mayor a 60 min, recuperación espontánea, *ad-integrum* y estudios de imagen (de preferencia resonancia magnética), sin evidencia de lesión<sup>6</sup>. Estudios recientes muestran que los pacientes con AIT tienen mayor riesgo de desarrollar un infarto cerebral (IC) en las 2 semanas posteriores, por lo que se han diseñado escalas de estratificación de riesgo. La escala ABCD2 se basa en 5 parámetros (por sus siglas en inglés), a los que se asigna un puntaje de entre 0 y 2, de acuerdo a si está o no presente: **A**, edad (> 60 años = 1 punto); **B**, presión arterial (= 1); **C**, características clínicas (hemiparesia = 2, alteración del habla sin hemiparesia = 1, otros = 0); **D**, duración del AIT (> 60 min = 2; 10-59 min = 1; < 10 min = 0); **D**, diabetes (2 puntos si está presente). De acuerdo a sus resultados se identifican 3 grupos principales:

1. Bajo riesgo: 1 a 3 puntos; riesgo de IC a 2 días de 1.0%, riesgo de IC a 7 días: 1.2%.
2. Riesgo moderado: 4 a 5 puntos; riesgo de IC a 2 días de 4.1%, riesgo de IC a 7 días 5.9%
3. Alto riesgo: 6 a 7; riesgo de IC a 2 días de 8.1%; riesgo de IC a 7 días de 11.7%.

Aunque aun no existen guías de tratamiento basadas en el resultado de esta escala, los pacientes con alto riesgo son los que principalmente podrían beneficiarse de hospitalización, realización de estudios y establecimiento temprano de prevención secundaria.

**Fisiopatología del infarto cerebral.** Una vez que existe oclusión de un vaso cerebral con la consecuente obstrucción del flujo sanguíneo cerebral (FSC), se desencadena una cascada de eventos bioquímicos que inicia con la pérdida de energía y que termina en muerte neuronal. Otros eventos incluyen el exceso de aminoácidos excitatorios extracelulares, formación de radicales

libres, inflamación y entrada de calcio a la neurona. Después de la oclusión, el núcleo central se rodea por un área de disfunción causada por alteraciones metabólicas e iónicas, con integridad estructural conservada, a lo que se denomina “penumbra isquémica”. Farmacológicamente esta cascada isquémica puede ser modificada y disminuir sus efectos deletéreos, lo que representa en la actualidad una de las áreas de investigación más activas.

**Manifestaciones clínicas.** La principal característica clínica de un IC es la aparición súbita del déficit neurológico focal, aunque ocasionalmente puede presentarse con progresión escalonada o gradual. Las manifestaciones dependen del sitio de afección cerebral, frecuentemente son unilaterales e incluyen alteraciones del lenguaje, del campo visual, debilidad hemicorporal y pérdida de la sensibilidad.

**Subtipos de infarto cerebral.** Los IC pueden subdividirse con base en diferentes parámetros; 1) anatómico; circulación anterior o carotídea y circulación posterior o vertebrobasilar, y 2) de acuerdo con el mecanismo que lo produce, lo que permite establecer medidas de prevención secundaria.

La clasificación de TOAST, es la más utilizada, y define 5 grupos, que a continuación se detallan:

**a) Ateroesclerosis de grandes vasos.** Es el mecanismo más frecuente. La aterosclerosis extracraneal afecta principalmente la bifurcación carotídea, la porción proximal de la carótida interna y el origen de las arterias vertebrales. El IC secundario a aterosclerosis es el resultado de la oclusión trombótica (aterotrombosis) o tromboembólica (embolismo arteria-arteria) de los vasos<sup>8</sup>. Debe sospecharse en pacientes con factores de riesgo vascular y puede confirmarse a través de Doppler carotídeo, angiografía (AIRM) o angiotomografía (ATC) y en algunos casos con angiografía cerebral. Los siguientes hallazgos apoyan aterosclerosis: a) estenosis sintomática > 50% en una de las principales arterias cerebrales, b) IC mayor de 1.5 cm, y c) exclusión de otras etiologías probables.

**b) Cardioembolismo.** Se debe a la oclusión de una arteria cerebral por un embolo originado a partir del corazón. Se caracteriza por: a) signos neurológicos de aparición súbita con déficit máximo al inicio (sin progresión de síntomas y mejoría espontánea), b) IC múltiples en diferentes territorios arteriales, c) IC superficial, cortical o con transformación hemorrágica (por recanalización), d) fuente cardioembólica y e) ausencia de otras causas posibles de IC<sup>10</sup>. Las enfermedades cardíacas embolígenas, se catalogan como de alto (embolismo > 6% por año) y bajo riesgo (< 1% anual). Es de especial importancia la fibrilación auricular no valvular debido a su alta frecuencia. Es un fuerte predictor de infarto cerebral y de recurrencia<sup>12</sup>, algunos estudios muestran que es la principal causa de embolismo cardiaco, lo que explica más de 75,000 casos de IC por año con alto riesgo de recurrencia temprana.

**c) Enfermedad de pequeño vaso cerebral.** El infarto lacunar (IL) es un IC menor de 15 mm de diámetro, localizado en el territorio irrigado por una arteriola. Explica alrededor del 25% de los IC, son más frecuentes en hispanoamericanos y pueden asociarse con demencia vascular<sup>14</sup>. Ocurren principalmente en las arterias lenticuloestriadas y talamoperforantes. Aunque se han descrito por lo menos 20 síndromes lacunares, los 5 más frecuentes son: hemiparesia motora pura, síndrome sensitivo puro, síndrome sensitivo-motor, disartria-mano torpe y hemiparesia atáxica. Los principales factores de riesgo asociados a IL son hipertensión arterial (HAS) y diabetes mellitus. Los hallazgos que apoyan la enfermedad de pequeño vaso son: a) síndrome lacunar, b) historia de diabetes o HAS, c) IC menor de 1.5 cm localizado en estructuras profundas y, c) exclusión de otras causas.

**d) Otras causas.** Se presentan principalmente en menores de 45 años, aunque no son exclusivas de este grupo. Las más frecuentes son vasculopatías no aterosclerosas como; disección arterial cervico-cerebral (DACC), fibrodisplasia muscular, enfermedad de Takayasu, vasculitis del sistema nervioso central (SNC) y enfermedad de Moya-Moya<sup>20</sup>. De ellas, la más frecuente en nuestro medio es la DACC que representa hasta 25% de los IC en menores de 45 años. Se produce por

desgarro de la pared arterial, dando lugar a la formación de un hematoma intramural. Puede manifestarse con síntomas locales, IC o ser asintomática<sup>21</sup>. La displasia fibromuscular, la vasculitis del sistema nervioso central<sup>23</sup>, las trombofilias (deficiencia de proteína C, S, y de antitrombina III) y el síndrome antifosfolípidos<sup>24</sup> son menos frecuentes, pero deben investigarse en sujetos jóvenes, sin causa evidente del IC.

**e) Etiología no determinada.** Incluye los IC con más de una etiología posible o aquellos en los que a pesar de una evaluación completa, no se puede determinar la causa, o que tienen una evaluación incompleta.

**Abordaje diagnóstico.** Se han desarrollado varias escalas para cuantificar la gravedad del paciente. La escala de los Institutos Nacionales de la Salud (NIHSS) es la más utilizada<sup>25</sup>. Se basa en 11 parámetros que reciben un puntaje de entre 0 a 4. Su resultado oscila de 0 a 39 y según la puntuación se cataloga la gravedad en varios grupos:  $\leq 4$  puntos: déficit leve; 6-15 puntos: déficit moderado; 15-20 puntos: déficit importante; y  $> 20$  puntos: grave.

En el paciente con sospecha de IC, los estudios de imagen son indispensables; la tomografía axial (TC) simple es el estudio de elección ya que es accesible y rápida<sup>27</sup>. Tanto la TC como la imagen de resonancia magnética (IRM) tienen una alta sensibilidad, aunque la IRM puede detectar IC aun en fases hiperagudas y los localizados en la circulación posterior<sup>28</sup>. La angiografía cerebral, la ATC y la AIRM permiten la visualización de la circulación intra y extracraneal, y en algunos casos de la arteria ocluida, lo que puede tener utilidad terapéutica, y en el diagnóstico de vasculopatía no aterosclerosa<sup>29</sup>.

En la valoración del paciente en la fase aguda son necesarios también los siguientes estudios: glucosa sérica (la hipo e hiperglucemia son simuladores del IC), biometría hemática y tiempos de coagulación y electrocardiograma.

**Tratamiento.** El único tratamiento de eficacia probada durante la fase aguda, es la administración de activador tisular del plasminógeno humano (rt-PA) intravenoso. La evidencia de ensayos clínicos muestra que los pacientes tratados con rt-PA, a dosis de 0,9 mg/kg, tienen una evolución funcional con recuperación completa o casi completa, significativamente mayor que los tratados con placebo. El riesgo de hemorragia intracerebral (HIC) sintomática después de su administración es también mayor, especialmente en pacientes graves (NIHSS  $> 20$ ) y datos tomográficos de IC en la valoración inicial. Estudios recientes y metaanálisis<sup>30</sup> de los datos disponibles sugieren que los pacientes con beneficio potencial son aquellos en los que el tiempo establecido de evolución es de hasta 4.5 h, sin signos tempranos de IC por TC y con IC con NIHSS de entre 4 y 20. Los pacientes que se excluyen son aquellos con factores que incrementan el riesgo de hemorragia, tales como ingesta de anticoagulantes, descontrol hipertensivo, cuenta plaquetaria baja, e historia de hemorragia. Por desgracia, en nuestro país menos del 1% de los casos con IC agudo reciben trombolisis. Las medidas generales como el manejo soluciones, de la presión arterial, de la glucosa y de las complicaciones tempranas, logran disminuir la morbimortalidad, por lo que resultan de gran importancia. En la **tabla 1** se resumen las recomendaciones de la Asociación Americana de Corazón (American Heart Association) para el manejo de la EVC aguda.

**Tabla 1. Medidas generales para el manejo de pacientes con EVC agudo<sup>37</sup>**

Recomendado	No recomendado
Cuidado de la vía aérea Monitoreo cardíaco Soluciones salinas al medio Oxígeno (en caso de hipoxemia) Vigilancia neurológica estrecha Posición semifowler	Soluciones con dextrosa, Hipotensión/deshidratación Exceso de líquidos intravenosos
Manejo de la presión arterial 1) Tratar si la PAS $> 185$ mmHg o PAD $> 110$ mmHg a) Labetalol 10 a 20 mg IV en 1 a 2 minutos, o b) Nitroglicerato, o c) Nicardipina en infusión, 5 mg/h, incrementar 2.5 mg/h en intervalos de 5 a 15 minutos, al máximo de 2 de 15 mg/h	Tratar si la PAS $< 185$ mmHg o PAD $< 110$ mmHg Reducción brusca de la presión arterial Uso de antihipertensivos de efecto inmediato Uso de nifedipina sublingual
Manejo con antipiréticos en caso de fiebre	Uso de antipiréticos profilácticos El uso de hipotermia se considera experimental
Monitoreo y manejo de hiperglucemia ( $> 140$ mg) aun en pacientes no diabéticos	
Profilaxis de trombosis venosa periférica con: a) Compresión intermitente b) Medias de compresión, o c) Dosis profiláctica de anticoagulantes	Anticoagulación a dosis completa
Movilización temprana Rehabilitación temprana	Uso de anticonvulsivos profilácticos Uso de esteroides
Antiagregantes plaquetarios (iniciar 24 horas después en caso de trombolisis)	Uso profiláctico de antibióticos

PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.



*Prevención secundaria.* Se refiere a la modificación y tratamiento de factores que contribuyen a incrementar la recurrencia. Son de especial importancia el manejo de la HAS, diabetes y dislipidemia. Los antiagregantes plaquetarios constituyen la piedra angular en los IC por aterosclerosis, en los IL e IC de causa no determinada<sup>39</sup>. Los antiagregantes plaquetarios con evidencia probada son: aspirina a dosis de 75 a 325 mg, clopidogrel 75 mg, y la combinación de aspirina más dipiridamol de liberación prolongada. La anticoagulación a largo plazo, en los IC cardioembólicos y por estados hipercoagulables, reduce significativamente el riesgo de recurrencia. Se sugiere mantener un índice internacional estandarizado (INR) de 2.5 (rango de 2 a 3). Las estatinas reducen los niveles de colesterol total y de lipoproteína de baja densidad, y tienen diferentes efectos pleiotrópicos. En el metaanálisis que analizó el efecto de las estatinas en la prevención secundaria, se confirmó que la reducción del riesgo relativo de recurrencia de EVC es del 18%. La principal evidencia es con atorvastatina 80 mg/día. En análisis subsecuentes del estudio SPARCL, se confirmó que la eficacia se mantiene entre personas de edad avanzada y en ambos géneros. Se recomienda mantener en forma indefinida el uso de estatinas ya que existe evidencia que su suspensión se asocia a riesgo de recurrencia de eventos vasculares.

### Hemorragia intracerebral

Representa 10-15% de toda la EVC, y según su localización puede ser intraparenquimatosa o intraventricular. La hemorragia intraparenquimatosa se define como la extravasación de sangre dentro del parénquima, en el 85% de los casos es primaria, secundaria a HAS crónica o por angiopatía amiloidea.

*Epidemiología de la HIC.* Su incidencia es de 10 a 20 casos/100,000 habitantes/año, y se duplica cada 10 años después de los 35. Tiene una morbimortalidad elevada; sólo 38% de los casos sobrevive al pasar 1 año, mientras que el 30% logra ser independiente a los 3 meses<sup>47</sup>. En México, en el Registro Nacional Mexicano de Enfermedad Vascul ar Cerebral (RENAMEVASC) su prevalencia fue del 29% de un total de 2,000 pacientes con EVC aguda. La HAS es el factor de riesgo más claramente asociado (55-81%), y su localización más frecuente es en los ganglios basales. Se sabe que la HAS incrementa hasta 4 veces el riesgo de HIC, que el 91% de los pacientes están hipertensos en el momento de la HIC y que el 72% de los casos son hipertensos conocidos y mal controlados.

El depósito de proteína  $\beta$ -amiloide en la pared de los vasos corticolectomeningeos, es causa de HIC lobar, recurrente y se presenta en sujetos mayores de 55 años sin historia de HAS. En la **tabla 2** se muestran las principales causas de HIC.

Tabla 2. Principales causas de hemorragia intracerebral <sup>47</sup>	
Hemorragia primaria	Hemorragia secundaria
Hipertensiva	Traumática
Angiopatía amiloide	Aneurismática
	Malformación arteriovenosa
	Angioma cavernoso
	Neoplasias primarias o metastásicas
	Coagulopatías
	Trombosis de los senos venosos
	Fístula dural arteriovenosa
	Vasculitis
	Vasculopatías
	- Diseción arterial
	- Enfermedad de Moya Moya
	Medicamentos
	- Simpaticomiméticos
	- Anticoagulantes
	- Trombolíticos
	Uso de drogas
	- Cocaína
	Anfetaminas

**Fisiopatología.** La HIC hipertensiva es el resultado de la ruptura de la pared de pequeñas arterias penetrantes en los sitios correspondientes a los microaneurismas de Charcot y Bouchard. En estas arterias existe degeneración de la media y de la capa muscular, con hialinización de la íntima y formación de microhemorragias y trombos intramurales. La ruptura del vaso ocurre frecuentemente en los sitios de bifurcación, en donde la degeneración de sus capas es más prominente.

**Manifestaciones clínicas.** Al igual que otros subtipos de EVC, se presenta de forma súbita o con síntomas rápidamente progresivos. Es frecuente el déficit neurológico máximo al inicio, así como síntomas acompañantes sugestivos de aumento de la presión intracraneal (PIC) tales como cefalea, náusea y vómitos<sup>51</sup>. La HIC supratentorial puede presentarse con déficit neurológico sensitivo-motor contralateral y las infratentoriales con compromiso de nervios craneales, ataxia, nistagmus o disimetría. Las crisis convulsivas aparecen en el 5-15% de las HIC supratentoriales y los signos meníngeos se presentan en HIC con apertura al sistema ventricular o espacio subaracnoideo<sup>53</sup>. Uno de cada 4 pacientes sufre de deterioro neurológico en las primeras 24 h, secundario a extensión del hematoma, aumento de sangre ventricular o edema, aunque pueden presentarse también entre la segunda y tercera semana. Como se muestra en la **tabla 3**, la localización del hematoma y sus características de presentación pueden orientar a su posible etiología.

<b>Tabla 3. Etiología probable de la HIC según edad, localización y otras características<sup>52</sup></b>		
<b>Edad</b>	<b>Sitio</b>	<b>Etiología probable</b>
Joven	Lobar	Malformación vascular
> 75 años, no hipertenso	Lobar	Amiloidea
Adulto	Ganglios basales	Hipertensiva (78-88%)
Joven	Ganglios basales	Hipertensiva (11%)
Adulto hipertenso	Lobar	Hipertensiva (20-30%)
Joven	Cerebelo	Malformación vascular
Adulto hipertenso	Cerebelo	Hipertensiva
Joven /toxemia	Ganglios basales	Hipertensiva
Joven /puerperio	Lobar	Trombosis venosa
Sujeto añoso	Lobar/ganglios/ edema	Tumor

**Diagnóstico.** La TC y la IRM son de gran utilidad para confirmar su diagnóstico, determinar su tamaño y localización<sup>28</sup>. La TC sigue siendo el estudio de elección por su alta sensibilidad y especificidad. La ATC puede identificar otras causas, tales como malformación arteriovenosa (MAV) o aneurismas, mientras que la IRM permite identificar cavernomas y delimitar el edema perihematoma. La angiografía está indicada en casos de HIC de localización no habitual, y cuando no se identifica su etiología, especialmente en jóvenes. En ocasiones, es necesario repetir estudios entre las 2 y 4 semanas posteriores.

**Tratamiento.** Puede ser médico o quirúrgico e idealmente debe ofrecerse en unidades de terapia intensiva. Para su elección debe considerarse la edad, escala de Glasgow, tamaño y localización del hematoma, desplazamiento de la línea media, apertura ventricular, hidrocefalia y etiología. El objetivo principal del tratamiento es reducir la PIC y prevenir complicaciones. Se basa en protección de la vía aérea, reemplazo del factor apropiado, transfusión de plaquetas, uso de vitamina K en algunos pacientes y manejo de la presión arterial, para lo que se sugiere el esquema referido en la **tabla 1**, considerando siempre que la reducción brusca de las cifras tensionales reduce la PPC, empeora el daño cerebral y se asocia con mayor mortalidad, por lo que no se recomienda.

Otras medidas recomendadas incluyen: 1) manitol para el manejo de la PIC, manteniendo osmolaridad sérica de 300-320 mOsm/kg y evitar la hipovolemia.

*Tratamiento quirúrgico.* El manejo quirúrgico de la HIC supratentorial sigue siendo controvertido. La ausencia de estudios con metodología adecuada ha tenido como principal inconveniente el origen de las evidencias a partir de series de casos. El estudio STICH (Surgical Treatment in Intracerebral Haemorrhage) asignó en forma aleatoria a pacientes con HIC supratentorial para ser tratados con evacuación del hematoma, o tratamiento médico. La evaluación de mortalidad y estado funcional de los sobrevivientes a los 6 meses produjo valores semejantes en los 2 grupos (mortalidad: 36% en el grupo quirúrgico, 37% en el no quirúrgico). El único grupo que mostró un posible beneficio del tratamiento quirúrgico fue el de pacientes con hematomas lobares ubicados a 1 cm o menos de la superficie cortical. Debido a este resultado, el estudio STICH-2 está actualmente en curso, así como otras alternativas quirúrgicas. Existe consenso generalizado en que pacientes con hemorragia cerebelosa y deterioro neurológico se benefician de evacuación quirúrgica, al igual que aquellos con HIC secundaria a ruptura de aneurisma, MAV o angioma cavernoso, especialmente en pacientes con expectativa de vida favorable y lesiones accesibles. Se sugiere también tratamiento quirúrgico en pacientes jóvenes con HIC lobar de tamaño moderado a severo con deterioro neurológico progresivo.

### Hemorragia subaracnoidea (Hsa)

Se define como la presencia de sangre en el espacio subaracnoideo. El 80% de los casos son secundarios a ruptura de un aneurisma sacular, representa entre el 4 y 7% de toda la EVC y tiene una alta morbimortalidad: el 45% de los pacientes fallece en los primeros 30 días y el 50% de los supervivientes evolucionan con secuelas irreversibles<sup>58</sup>. Su incidencia es de 10.5 casos por 100,000 personas/año y afecta principalmente a la población menor de 65 años<sup>59</sup>. En México, en el RENAMEVASC representó el 15% del total de EVC. Su principal factor de riesgo es la HAS, así como el tabaquismo, etilismo intenso, historia de HSA en familiares en primer grado y enfermedades hereditarias del tejido conjuntivo. Además de la ruptura aneurismática, otras causas incluyen la ruptura de MAV, de aneurismas micóticos, disección de arterias intracraneales, coagulopatías vasculitis del SNC.

Los aneurismas se localizan en la circulación anterior en 80 a 90% de los casos, con mayor frecuencia en bifurcaciones arteriales; en la circulación posterior, son frecuentes en la arteria basilar. En 15% de los casos se encuentran aneurismas múltiples. El riesgo de ruptura de un aneurisma depende de su tamaño y localización, como se muestra en la **tabla 4**.

**Tabla 4. Riesgo anual de ruptura de aneurismática de acuerdo al tamaño y localización<sup>61</sup>**

Tamaño (mm)	Circulación anterior (%)	Circulación posterior (%)
<7	0	2.5
7-12	2.6	14.5
13-24	14.5	18.4
> 25	40	50

*Fisiopatología de la formación de aneurismas.* La elevación del FSC produce cambios en la remodelación de los vasos<sup>63</sup>, dilatación y cambios en el grosor de la pared, remodelación excéntrica y remodelación asimétrica, con aumento del flujo sanguíneo en el segmento distal del cuello del aneurisma, lo que se denomina “zona de Impacto”. Esta alteración se presenta como recirculación dentro del saco aneurismático, transformándolo de un flujo alto a un flujo bajo con cambios de dirección dentro del mismo. Los componentes sanguíneos permanecen en las regiones de bajo flujo durante más tiempo, lo que favorece la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio, y expresión de moléculas de adhesión celular tipo 1 (ICAM-1) y citocinas. Estas moléculas atraen neutrófilos y monocitos circulantes, que facilitan la infiltración de la pared del vaso por polimorfonucleares, los que a su vez secretan metaloproteinasas, elastasas y citocinas, que favorecen la remodelación excéntrica.

**Manifestaciones clínicas.** El síntoma cardinal de la HSA es la cefalea severa de inicio súbito, que el paciente describe como “la peor de su vida”, acompañada de náusea, vómito, fotofobia y alteración de la conciencia. En el examen pueden encontrarse hemorragias subhialoideas en el fondo de ojo, signos meníngeos o focales, tales como parálisis del III o VI nervios craneales, paraparesia, pérdida del control de esfínteres o abulia (arteria comunicante anterior) o la combinación de hemiparesia, afasia o negligencia visuoespacial (arteria cerebral media). La HSA no logra diagnosticarse hasta en el 50% de los casos en la primera valoración, en el 40% se presentan síntomas precedentes como “cefalea centinela” o cefalea “en estallido”, con duración de minutos a horas en las semanas previas.

La TC confirma el diagnóstico de HSA desde las primeras 12 h en todos los casos; en el 93% entre las 12 a 24 h y en 50% en los 7 días posteriores. Aunque la angiografía cerebral se sigue considerando el estándar de oro para detectar aneurismas cerebrales, la ATC se utiliza con mayor frecuencia por su alta sensibilidad y especificidad (85 y 98% respectivamente). En los pacientes con diagnóstico confirmado de HSA y estudio de imagen negativo para aneurisma, éste debe repetirse en los siguientes 7 a 14 días, o debe considerarse etiología no aneurismática. La punción lumbar está indicada en casos con sospecha de HSA y TAC normal. El líquido cefaloraquídeo (LCR) hemorrágico, la presencia de eritrocitos y la xantocromia confirman el diagnóstico de HSA. Una TC negativa y LCR normal descartan HSA.

**Tratamiento.** Todos los pacientes deben recibir medidas generales, preferentemente en centros especializados con equipos de neurocirugía, terapia endovascular y unidad de cuidados intensivos. Se sugiere mantener un aporte hídrico y de sodio adecuado, evitar esfuerzos, de ser necesario manejo de analgesia y de hipertensión arterial, tratando de mantener TA media menor a 125 mmHg. De forma arbitraria, se considera un máximo de 180/100 mmHg antes de iniciar antihipertensivos. Una vez tratado el aneurisma, se permite hipertensión, aunque no hay aun acuerdo en el rango. La hiperglucemia y la hipertermia se asocian con un mal pronóstico y deben evitarse. La profilaxis para trombosis venosa profunda debe iniciarse con aditamentos de compresión y heparina subcutánea una vez que el aneurisma fue tratado. La nimodipina 60 mg cada 4 h vía oral durante 21 días, reduce el riesgo de mal pronóstico por isquemia secundaria a vasoespasmo en un 40% y la mortalidad en un 10%. Cuando existen signos de focalización por vasoespasmo puede utilizarse la terapia “Triple H” (hipertensión inducida, hipervolemia y hemodilución), que incrementa la PPC, aunque no hay evidencia clara sobre su beneficio. Si no hay mejoría, puede considerarse angioplastia química con infusión de vasodilatadores. En estudios fase II las estatinas disminuyeron la frecuencia de vasoespasmo, aunque no hay evidencia clara de su beneficio. Se recomienda profilaxis con antiepilépticos. Existen 2 opciones para asegurar un aneurisma roto: el clipaje quirúrgico y el manejo con terapia endovascular (TEV). La opción quirúrgica se determina valorando la edad del paciente, condición médica, localización, morfología y relación con vasos adyacentes del aneurisma. Se considera mejor opción en los aneurismas con cuello ancho, asociados a hematomas intraparenquimatosos o con efecto de masa. Los estudios clínicos aleatorizados muestran que la cirugía temprana tiene una menor tasa de resangrado, de complicaciones y mayor tasa de oclusión completa. La TEV se realiza con *coils* que se depositan por catéteres en el aneurisma para excluirlo de la circulación. Algunos estudios muestran que la TEV tiene un pronóstico favorable con menor discapacidad a un año, menor riesgo de epilepsia y se prefiere en los pacientes ancianos o en aneurismas de la circulación vertebrobasilar o de localización profunda.

Las complicaciones más importantes de la HSA son el resangrado, el vasoespasmo e hidrocefalia. La primera, puede presentarse desde los primeros días y tiene una mortalidad elevada. En los casos no tratados, el riesgo de resangrado en las primeras 4 semanas es del 35 al 40%. El vasoespasmo es también frecuente y puede llevar a la isquemia. Su incidencia es directamente proporcional al volumen de sangre. El diagnóstico se sospecha por incremento de la cefalea, alteraciones de conciencia, focalización, fiebre y leucocitosis. Los métodos de estudio recomendados para su detección son el Doppler transcraneal, la ATC y la angiografía cerebral. Se presenta entre el cuarto y el décimo día, y puede persistir hasta por un periodo de 2 a 4 semanas. En su fisiopatología interviene la oxihemoglobina que libera endotelina, generando radicales libres de oxígeno que

producen peroxidación de lípidos y contracción del músculo liso, inhibiendo al mismo tiempo la acción vasodilatadora del óxido nítrico. Existe también un incremento en la actividad de la proteincinasa C, con liberación del calcio intracelular. Las complicaciones sistémicas llegan a ser graves en el 40% de los casos e incluyen edema pulmonar cardiogénico o neurogénico en el 23%, arritmias cardiacas en el 35% y desequilibrio hidroelectrolítico en el 28%. La hiponatremia se produce por secreción inapropiada de hormona antidiurética o por síndrome cerebral perdedor de sal y se asocia con mal pronóstico. Pueden también ocurrir disminución del gasto cardiaco con inversión simétrica de la onda T y prolongación del segmento QT en el EKG, lo que lleva a disminución en la PPC con incremento del riesgo de complicaciones.

El principal factor pronóstico es la severidad de la hemorragia inicial, por lo que es de gran importancia el uso de escalas de valoración clínica como la Escala de Coma de Glasgow, la escala de Hunt y Hess o la de la World Federation of Neurological Surgeons (WFNS), o la escala tomográfica de Fisher que se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Escalas de valoración de la hemorragia subaracnoidea <sup>11</sup>		
<b>Escala de Hunt y Hess</b>		
I	Asintomático, leve cefalea, discreta rigidez nuchal	5-15% mal pronóstico
II	Cefalea moderada a severa, rigidez nuchal, parálisis de nervio craneal	5-15% mal pronóstico
III	Déficit focal discreto, letargia o confusión	15-30 % mal pronóstico
IV	Estupor, déficit motor moderado a severo, rigidez de descerebración inicial	35-45% mal pronóstico
V	Coma profundo, rigidez de descerebración, apariencia moribunda	75-90% mal pronóstico
<b>Escala de Fisher</b>		
I	Sin sangre en las cisternas	
II	Sangre difusa fina, < 1 mm en cisternas verticales	
III	Coágulo grueso cisternal, > 1 mm en cisternas verticales. Predice vasoespasmo clínico en el 95% de los casos	
IV	Hematoma intraparenquimatoso, hemorragia intraventricular, HSA difuso	
<b>Escala de la WFNS</b>		
	Escala de coma de Glasgow	Déficit neurológico
I	15	No
II	13-14	No
III	13-14	Si
IV	7-12	+/-
V	3-6	+/-

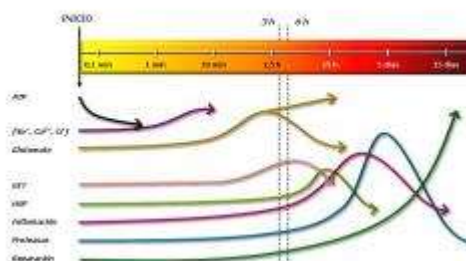
## Bases moleculares de la isquemia cerebral.

### Introducción:

El cerebro humano no dispone, como otros órganos, de depósitos energéticos, por ello las células del sistema nervioso central precisan un flujo sanguíneo continuo que aporte el oxígeno y glucosa necesarios para mantener su actividad metabólica; esto convierte al cerebro en un órgano especialmente vulnerable a la isquemia.

Con la isquemia cerebral se desencadenan una serie de fenómenos que pueden llevar a la muerte celular si la isquemia es de suficiente intensidad y se prolonga el tiempo necesario. Inicialmente se produce una depleción energética y se liberan moléculas que producen excitotoxicidad y estrés oxidativo en el tejido isquémico (cascada isquémica); al mismo tiempo se pone en marcha una respuesta inflamatoria local, más prolongada en el tiempo, que puede amplificar el daño cerebral isquémico (cascada neuroinflamatoria).

Curso temporal de la expresión molecular de la isquemia cerebral



**Figura 1:** Curso temporal de la expresión molecular de la isquemia cerebral. (GET): Genes de expresión temprana. (HSP): Proteínas de choque térmico.

Estas alteraciones no se pueden contemplar de forma aislada sino en el contexto amplio de interrelación que existe entre los diferentes elementos nerviosos. Las células del sistema nervioso interactúan entre sí y con la matriz extracelular con objeto de mantener un adecuado funcionalismo. La neurona, astrocito y endotelio representan una “Unidad neurovascular” pues existe una estrecha relación entre ellos, aunque también intervienen otros tipos celulares (Del Zoppo; 2006). La “Unidad neurovascular” es un concepto que busca integrar los cambios que se producen en el tejido cerebral durante la isquemia, tales como la alteración de la barrera hematoencefálica por efecto de la activación de las metaloproteasas de matriz y los efectos que, a su vez, esta disrupción causa en los elementos de la unidad neurovascular, que analizaremos a continuación.

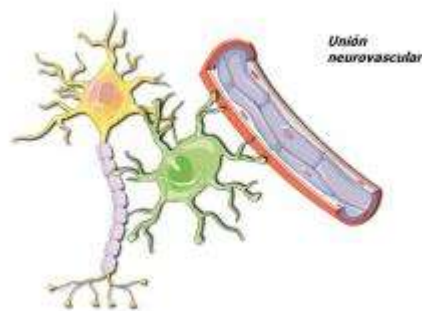


Figura 2a

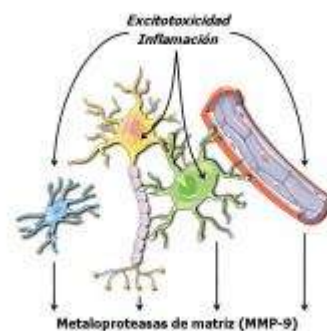


Figura 2b

Figura 2 a y figura 2 b: Efectos de la excitotoxicidad e inflamación en la unidad Neurovascular. (MMP-9): metaloproteasa de matriz 9

### **La cascada isquémica:**

Durante la isquemia cerebral cesa la producción celular de energía, con reducción de los niveles celulares de ATP y fosfocreatina. El fallo energético condiciona una despolarización de membrana, cuyo potencial depende de las bombas intercambiadoras de iones que, para mantener la homeostasis iónica, precisan ATP.

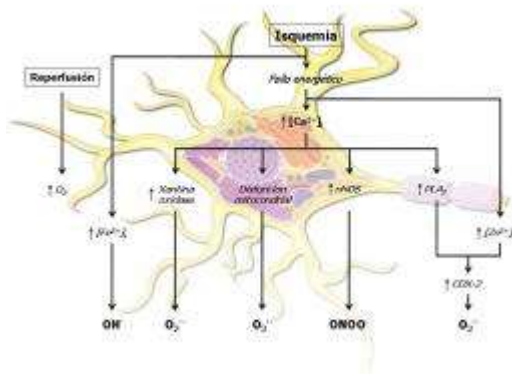


Figura 3

Figura 3: Producción de radicales libres en la isquemia cerebral. (PLA2): Fosfolipasa A 2. (COX-2): Ciclooxigenasa 2

-La entrada masiva de calcio al interior celular:

Entre otros efectos, la despolarización anóxica determina un flujo de calcio extracelular al interior de la célula, pero también la movilización del calcio que se encuentra en el retículo endoplásmico hacia el citosol. Además la acidosis láctica provocada por el metabolismo anaeróbico de la glucosa desplaza el calcio de su unión a proteínas intracelulares, aumentando aún más la concentración de calcio libre intracelular (Torregrosa et al; 2007).

El aumento en la concentración intracelular de calcio ha demostrado ser decisivo en el proceso de daño celular pues induce los siguientes fenómenos:

- 1) La liberación de neurotransmisores como el glutamato, responsable en gran parte de los fenómenos de excitotoxicidad, con síntesis y liberación de radicales libres en el tejido cerebral isquémico.
- 2) Inhibe la producción de energía (ATP).
- 3) Activa enzimas que intervienen en la degradación de proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos.

-La excitotoxicidad del glutamato:

La despolarización que ocurre durante la isquemia cerebral induce por si misma liberación de neurotransmisores. De todos los neurotransmisores liberados durante la cascada isquémica el glutamato es el que juega un papel más importante por su toxicidad sobre las neuronas. El glutamato actúa, por un lado, sobre sus receptores -principalmente del tipo NMDA y AMPA- desplazando el magnesio que, en situación de reposo, actúa bloqueando el paso de otros iones; de este modo se abre una nueva vía que permite el paso de iones calcio al interior de la célula.

El glutamato también induce la formación de radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS). Radicales libres como el oxido nítrico (NO) y especies reactivas del oxígeno (ROS) tienen, en condiciones normales, funciones fisiológicas; de hecho a nivel cerebral el NO actúa como segundo mensajero y provoca vasodilatación arteriolar cuando actúa sobre los vasos sanguíneos.

El NO se sintetiza a partir de la L-arginina gracias a la acción de la enzima oxido nítrico sintasa (NOS), de la cual se conocen tres isoformas: forma neuronal (nNOS), forma endotelial (eNOS) y forma inducible (iNOS). El NO tiene una vida media muy corta y, en condiciones normales, las pequeñas cantidades producidas son metabolizadas por mecanismos enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) y mecanismos no enzimáticos como las vitaminas C y E y la glutatión; de modo que existe

un equilibrio entre los radicales que se producen y los que son eliminados (Torregrosa et al; 2007).

Durante la isquemia cerebral se producen concentraciones anormalmente elevadas de estas sustancias oxidantes, entre las que se encuentran el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), el radical hidroxilo (OH), el óxido nítrico (NO) y el anión peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>); todas ellas implicadas en el daño neuronal que ocurre durante la isquemia; si bien el O<sub>2</sub><sup>-</sup> se considera el agente oxidante más importante, pues causa daño cerebral directamente y por reactividad con el NO, al generarse ONOO<sup>-</sup>.

La actividad de las isoformas neuronal (nNOS) y endotelial (eNOS) de la NOS, localizadas en neuronas y células endoteliales respectivamente, está regulada por el calcio. Su activación durante la isquemia cerebral ocurre principalmente en las fases iniciales. La isoforma inducible (iNOS) se ha identificado en diferentes tipos celulares del sistema nervioso como astrogliá, microgliá, neuronas, células del músculo liso y endotelio vascular y también en los neutrófilos infiltrados en el tejido cerebral isquémico (Torregrosa et al; 2007). Esta isoforma es inducida por mediadores inflamatorios y es independiente del calcio, y provoca, de forma retardada, incrementos significativos en la concentración de NO en el área isquémica que contribuyen de forma importante a la progresión del daño cerebral.

Los efectos nocivos de los radicales libres liberados en el tejido cerebral isquémico serían los siguientes:

- El NO producido en grandes cantidades reacciona con el O<sub>2</sub><sup>-</sup>, dando lugar al anión peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), que es muy tóxico por su alta capacidad oxidante, produciendo entre otros efectos peroxidación lipídica, nitración de grupos tirosina, oxidación y nitrosilación de grupos sulfidriilo y rotura del ADN (Hurtado et al, 2007).
- El NO también inhibe enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa y a la citocromo c oxidasa que se encuentra a nivel mitocondrial, alterando la cadena respiratoria. El NO y el O<sub>2</sub><sup>-</sup> compiten para unirse a la citocromo oxidasa. Altas concentraciones de NO pueden desplazar al O<sub>2</sub><sup>-</sup>, que a su vez podría reaccionar con el NO para formar el anión peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). La inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial hace que se reduzca la producción de ATP (Hurtado et al; 2007).
- El NO induce la fusión de vesículas sinápticas a la membrana, con liberación de neurotransmisores como el glutamato a la hendidura sináptica, contribuyendo aún más al daño por excitotoxicidad.

Parece que los radicales libres tendrían un efecto beneficioso cuando actúan aisladamente a nivel vascular, pues tienen un efecto vasodilatador y anteagregante. (Cuenca-López et al; 2010)

Durante la isquemia cerebral el estímulo glutamatérgico se mantiene en el tiempo pues la despolarización isquémica impide que el transportador de glutamato, unido a la membrana celular, pueda funcionar adecuadamente, internalizando el glutamato en vesículas sinápticas; de esta forma la concentración de glutamato en la hendidura sináptica es mayor y su estímulo excitotóxico mantiene elevadas las concentraciones de calcio intracelular y aumenta la formación de radicales libres y ROS, con su efecto nocivo sobre las células por estrés oxidativo.



Los astrocitos son fundamentales en el control de la acción del glutamato, pues en su interior el glutamato es convertido a glutamina por acción de la enzima glutamina sintetasa. De esta forma, la glutamina podrá ser utilizada de nuevo por las neuronas para la síntesis de glutamato y GABA.

Durante la isquemia cerebral, como consecuencia del fallo energético y disfunción de los canales iónicos, se produce edema celular que afecta en primer lugar a los astrocitos, por lo que la recaptación de glutamato por estas células está reducida (Castillo et al; 2004).

-Radicales libres derivados de la actividad fosfolipasa A2:

La fosfolipasa A2, de la cual existe diversas isoformas, es un enzima que se sobreactiva durante la isquemia cerebral por efecto de la entrada de calcio al interior celular. Su acción provoca un acumulo de ácidos grasos como el ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico que pueden desacoplar la fosforilación oxidativa y alterar la permeabilidad de la membrana celular y de sus canales iónicos. Además la sobreestimulación de las fosfolipasas A2 origina un aumento de productos de degradación de los fosfolípidos de membrana. Algunos lisofosfolípidos acumulados son fácilmente convertibles a factor activador de plaquetas, con un efecto favorecedor de la agregación plaquetaria, e inductores de la respuesta inflamatoria mediante la adhesión y agregación de leucocitos (Torregrosa et al; 2007).

#### **La respuesta inflamatoria:**

La respuesta inflamatoria que se produce durante la isquemia cerebral aguda es una de las causas más importante de progresión del daño cerebral.

La reducción del flujo sanguíneo induce la expresión de genes inflamatorios en diferentes tipos celulares, provocando la liberación de citoquinas, quemoquinas y activación de enzimas proteolíticas (Castellanos et al; 2006). Las neuronas, los astrocitos, la microglia y los oligodendrocitos pueden producir estos mediadores inflamatorios

La interleuquina 1- $\beta$  (IL- $\beta$ ) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) son las citoquinas que inician la respuesta inflamatoria. Su activación ocurre de forma muy temprana pero es transitoria. La IL- $\beta$  y TNF- $\alpha$  inducen una respuesta inflamatoria secundaria, más tardía, mediada por la Interleuquina 6 (IL-6) y interleuquina 8 (IL-8). Estas citoquinas juegan un papel importante en la aparición de reactantes de fase aguda como la fiebre, proteína C reactiva y fibrinógeno, así como en la liberación de moléculas de adhesión celular que contribuyen a la agregación leucocitaria y posterior adhesión a la pared vascular (Castillo et al; 2004).

Hay tres tipos de moléculas de adhesión celular: selectinas, los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y las integrinas. Las selectinas participan en la interacción entre leucocitos y células endoteliales en la periferia del infarto. La superfamilia de las inmunoglobulinas actúa durante la fase aguda del infarto cerebral. Entre ellas destacan la molécula de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión vascular tipo 1 (VCAM-1) que intervienen en el mecanismo de adhesión y sirven de ligandos a las integrinas. Por último, las integrinas se ha visto que participan en la adhesión intercelular, agregación plaquetaria y en la interacción entre las células y la matriz extracelular. El resultado de la activación de las moléculas de adhesión celular es el reclutamiento leucocitario, agregación posterior y adhesión de los mismos a la pared

vascular (Rodríguez-Yáñez et al; 2008). De este modo un gran número de células inflamatorias se localizan en la zona periférica al área infartada, principalmente en la zona de penumbra isquémica, producen mediadores neurotóxicos y contribuyen al daño isquémico mediante la obstrucción de microvasos.

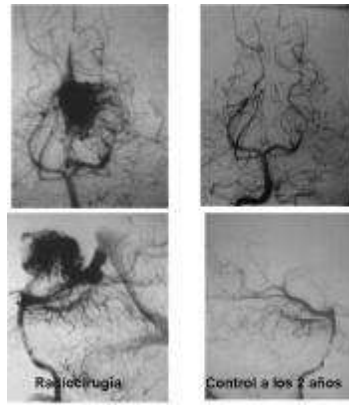
La presencia de ciertas citoquinas como la IL-6 y el TNF- $\alpha$  estimula la producción de metaloproteinasas, especialmente la MMP-9 (Blanco et al; 2005).

Las metaloproteasas de matriz (MMP) son proteasas encargadas de degradar las proteínas de la matriz extracelular como el colágeno, los proteoglicanos, la laminina y la fibronectina. En condiciones fisiológicas estas enzimas se encuentran inactivadas o en forma de proenzima. Las MMP se activan cuando son cortadas por proteasas como la plasmina u otras MMP. La microglía es la principal fuente de MMP, aunque otros tipos celulares como los astrocitos inducen también la expresión de estas moléculas. La participación de las MMP 2 y 9 en el tejido cerebral isquémico es responsable de la alteración en la barrera hematoencefálica que condiciona la aparición de edema vascular y contribuye a la transformación hemorrágica del infarto (Castillo et al; 2004).

Otras citoquinas como la Interleuquina 10 (IL-10) parecen desempeñar un papel antiinflamatorio bloqueando e inhibiendo la producción continua de citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF- $\alpha$ . También el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) parece que reduce la respuesta inflamatoria que acompaña al proceso de isquemia cerebral. (Cuenca-López et al; 2010)

Las quemoquinas son polipéptidos reguladores con funciones de comunicación celular y reclutamiento de células inflamatorias. Las principales quemoquinas son: la molécula quimioatrayente de neutrófilos inducidos por citoquina (CINC), que se cree interviene en la quimioatracción de neutrófilos hacia las zonas dañadas del cerebro y la proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), que se piensa altera la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y está implicada en la migración de células derivadas de la médula ósea hacia áreas isquémicas cerebrales con el objetivo de colaborar en la regeneración de la zona afectada (castellanos et al; 2006) (Krupinski et al; 2007).

Las citoquinas pueden, a su vez, inducir cambios nucleares que en ocasiones llevan a la apoptosis celular. Una de estas vías se denomina vía JAK/STAT. Las proteínas JAK acopladas a los dominios intracelulares de muchos receptores de citoquinas se activan cuando las citoquinas actúan sobre su receptor. Una vez activada la proteína JAK, esta puede fosforilar miembros de la familia STAT que se traslocan al núcleo, donde tras unión a secuencias específicas de DNA, promueven la activación selectiva de la transcripción. Existen diferentes tipos de proteínas STAT. La activación de STAT 1 promueve la muerte celular, mientras que la activación de STAT 3, debida a señales antiinflamatorias, produce efectos de supervivencia (Krupinski et al; 2007).



**Figura 4**

Figura 4\*: Neuroinflamación en isquemia cerebral. (IL-1): Interleuquina-1, (IL-2): Interleuquina-2, (TNF- $\alpha$ ): Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , (IL-10): Interleuquina-10, (TGF- $\beta$ ): Factor de crecimiento transformante  $\beta$ , (MCP-1): proteína 1 quimioatrayente de monocitos, (MIP-1 $\alpha$ ): macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ , (COX-1): ciclooxigenasa 1, (COX-2): ciclooxigenasa 2. (eNOS): oxido nítrico sintasa endotelial, (nNOS): oxido nítrico sintasa neuronal, (iNOS): oxido nítrico sintasa inducible, (MMP-2): metaloproteasa de matriz 2, (MMP-9): Metaloproteasa de matriz.

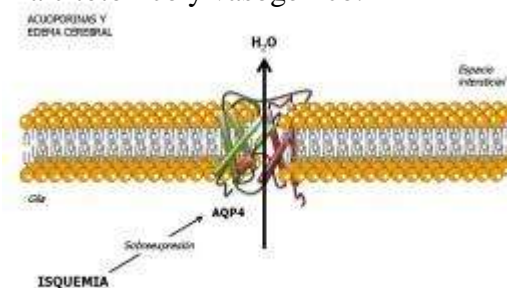
\*Figura publicada en "Cuenca-López MD et al en Rev Neurol 2010; 50 (6): 349-359"; y expuesta en este documento con la autorización del Dr.Castillo.

#### **Edema en la isquemia cerebral:**

El fallo de las bombas iónicas de membrana y liberación de glutamato provocan la entrada de sodio y agua al interior de la célula y el incremento de la concentración intracelular de calcio, responsables en gran medida del edema intracelular. El edema citotóxico se origina principalmente como consecuencia de la activación de los receptores AMPA por los aminoácidos excitadores (Castillo et al; 2004); pero también la acción de otros neurotransmisores, liberados en el área isquémica, como la noradrenalina y adenosina, activadores de la adenilato ciclasa, provocan un aumento de la permeabilidad de membrana de las células gliales, con entrada de sodio, cloro y agua que contribuyen a la producción de edema celular.

Posteriormente la respuesta inflamatoria, cambios en la microcirculación y la ruptura de la barrera hematoencefálica son responsables del edema vasogénico que se produce en el ictus isquémico (Castillo et al; 2004).

Las acuoporinas son proteínas de membrana que permiten la circulación de agua. La acuoporina 1 (AQP1) y la acuoporina 4 (AQP4) son permeables al agua y permiten que esta circule dentro y fuera de los astrocitos en respuesta a cambios osmóticos (Sobrado et al; 2007). La AQP4 se sobreexpresa en los astrocitos durante la isquemia y podría jugar un importante papel en el edema citotóxico y vasogénico.



**Figura 5 jpg.JPG**Figura 5: Acuoporina 4 (AQP4) y edema cerebral.

## EL GLUTATION Y SU RELACION CON ENFERMEDADES VASCULRES

### Introduccion:

Las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral se asocian, en diferentes estadios de su desarrollo, con la existencia de estrés oxidativo; los antioxidantes constituyen un eje de protección ante la producción de especies reactivas, éstas incluyen las de tipo enzimático y las no enzimáticas; el glutatión en su forma reducida es un tipo de defensa no enzimática, y es una de las primeras líneas de defensa ante el daño oxidante. Las funciones biológicas del glutatión involucran su participación como: antioxidante, neuromodulador, detoxificante, por lo que su deficiencia es importante en la fisiopatogenia de las enfermedades anteriormente mencionadas, ya que en diferentes etapas de su desarrollo se encuentra una disminución importante en los niveles cerebrales de este metabolito. El conocimiento del metabolismo del glutatión en el cerebro es necesario para comprender la progresión e incluso el desarrollo de las enfermedades asociadas a la neurodegeneración.

### Estrés oxidante:

Los radicales libres son definidos como moléculas o fragmentos moleculares con uno o dos electrones desapareados. Un electrón desapareado incrementa la reactividad química de un átomo o molécula y busca complementar su último orbital; es por ello que los radicales libres tienen una vida media muy corta (millonésimas de segundos) y son altamente reactivos con otras moléculas. El estrés oxidativo se origina por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) y la capacidad antioxidante de la célula. Las ERO incluyen, entre otras, el anión superóxido ( $O_2^-$ ), los radicales hidroxilo ( $\bullet OH$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ); y las ERN incluyen el óxido nítrico ( $NO^-$ ), dióxido de nitrógeno ( $NO_2^-$ ) y el peroxinitrito ( $OONO^-$ ), entre otras moléculas. El daño a los tejidos causado por estrés oxidativo se ha relacionado con diversos fenómenos biológicos, incluyendo envejecimiento, carcinogénesis, aterosclerosis, neurodegeneración etcétera.

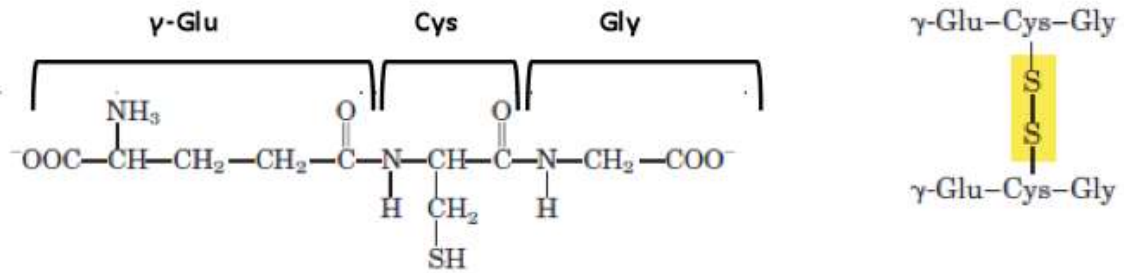
Los antioxidantes son moléculas que cuando están presentes en concentraciones más bajas respecto a las de un sustrato oxidable, retrasan o inhiben la oxidación de este sustrato; entre ellos podemos mencionar los sistemas antioxidantes enzimáticos, que incluyen a la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y los sistemas no enzimáticos como las vitaminas A, C y E, flavonoides, carotenoides y algunos metabolitos de bajo peso molecular como el glutatión en su forma reducida (GSH).

El estrés oxidativo puede dañar a lípidos, proteínas y los ácidos nucleicos, alterando las funciones de estas moléculas. El cerebro posee un elevado metabolismo oxidativo y un alto contenido de moléculas susceptibles de ser dañadas por especies reactivas, aunado a una baja capacidad antioxidante comparada con otros tejidos; por tanto, las especies de oxígeno y nitrógeno reactivas producidas en cantidades abundantes en el cerebro, lo hacen más susceptible al daño oxidativo. El estrés oxidativo ha mostrado ser uno de los factores que predisponen para la neurodegeneración.

## FUNCIONES Y METABOLISMO DEL GLUTATIÓN

### Síntesis de glutatión:

El tripéptido glutatión (GSH,  $\gamma$ -L-glutamyl-L-cisteinilglicina) (Fig. 1) es sintetizado en el citoplasma de las células por la acción consecutiva de dos enzimas:  $\gamma$ -glutamyl-cisteina ( $\gamma$ -GluCys) sintetasa (también conocida como glutamato cisteína ligasa, GCL por sus siglas en inglés) que utiliza glutamato y cisteína como sustrato para formar el dipéptido  $\gamma$ -glutamylcisteína, el cual es combinado con la glicina en una reacción catalizada por la glutatión sintetasa para formar GSH. El trifosfato de adenosina (ATP) es donador de energía para ambas enzimas. Las concentraciones intracelulares de glutatión son reguladas por la inhibición de la  $\gamma$ -GluCys sintetasa por el producto final, GSH. Así, existe un equilibrio celular entre la síntesis y el consumo de este metabolito.



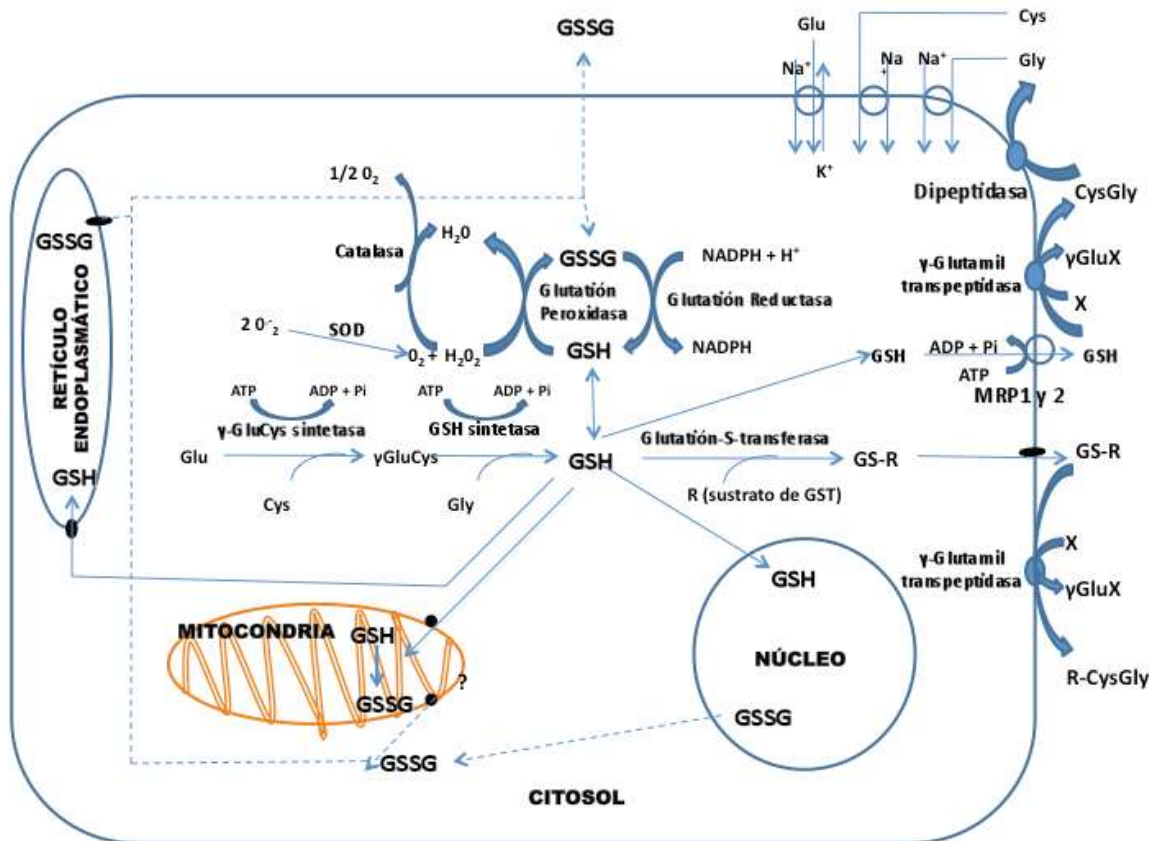
**Figura 1.** Representación de: A, glutatión reducido (GSH) y B, glutatión oxidado (GSSG). El GSH está constituido por tres aminoácidos: glutamato, cisteína y glicina. En el caso del GSSG son dos moléculas unidas por un puente disulfuro formado por las cisteínas.

### Funciones del glutatión:

El glutatión se encuentra en concentraciones promedio de 12 mM en células de mamíferos. Tiene importantes funciones como antioxidante, es parte importante de la detoxificación de xenobióticos, es cofactor para las reacciones de isomerización y también sirve como almacenamiento y transporte de cisteína. Además, es esencial para la proliferación celular y tiene un papel importante en la apoptosis, ya que la disminución de la cantidad de glutatión es permisiva para la activación de caspasas y la progresión de los mecanismos de apoptosis. Una función muy importante del glutatión es mantener el potencial de óxido-reducción de la célula, ya que mantiene en estado reducido los grupos tiol de las proteínas y así permite la generación de diversas cascadas de señalización intracelular; un ejemplo es la proteína cinasa C, que contiene varios residuos de tirosina en su centro catalítico, que le confieren sensibilidad al estado redox de la célula, lo que puede afectar la señalización mediada por esta enzima.

### Metabolismo del glutatión:

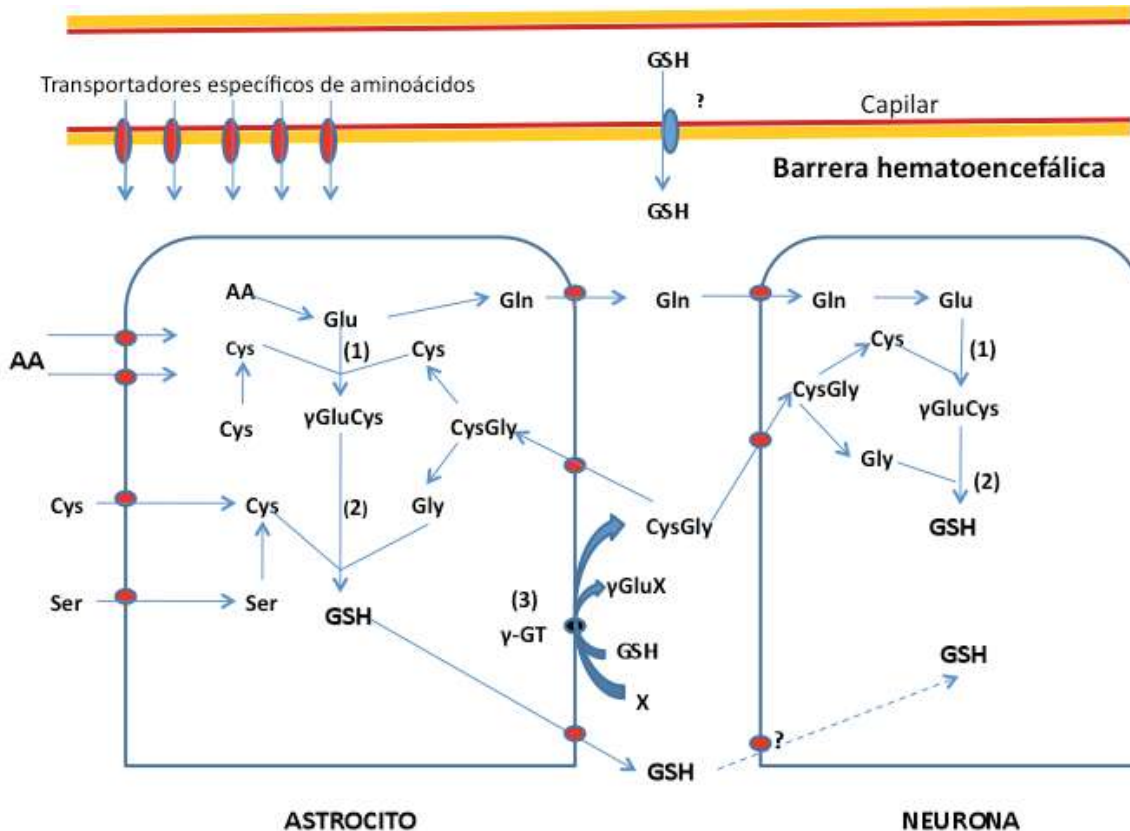
Durante la detoxificación de las ERO, el glutatión está involucrado en dos tipos de reacciones: la interacción no enzimática con radicales como el anión superóxido, óxido nítrico y radical hidroxilo; otra forma es proporcionando un electrón para la reducción de peróxidos en la reacción catalizada por la GPx. El producto final de la oxidación de GSH es glutatión oxidado (GSSG), constituido por dos moléculas de GSH unidas por un puente disulfuro, Fig 1) que es regenerado por la glutatión reductasa (GR), esta enzima transfiere electrones del NADPH al GSSG, reduciendo esta molécula. Durante las reacciones catalizadas por la GPx y la GR el glutatión no es consumido, pero es reciclado y así puede de nuevo ser utilizado cuando se requiera. Por otro lado, durante la generación de conjugados-S-glutatión por las glutatión-S-transferasas (GST) o por la liberación de GSH por las células, el nivel total de GSH disminuye dentro de las células. Por lo tanto, el glutatión utilizado para esos procesos tiene que ser remplazado por síntesis de novo. El GSH extracelular y los conjugados-S-glutatión son sustratos para la ectoenzima  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GT), esta enzima cataliza la transferencia del motivo  $\gamma$ -glutamilo del GSH (o de los conjugados-S-glutatión) a una molécula aceptora y por lo tanto, generando el dipéptido cisteinilglicina (o el conjugado-S-cisteinilglicina) y el  $\gamma$ -glutamiloconjugado. El dipéptido cisteinilglicina puede ser hidrolizado por ectopeptidasas a cisteína y glicina, aminoácidos que posteriormente pueden ser transportados por la célula a través de transportadores específicos y participar en la síntesis de novo de glutatión (Fig. 2)



**Figura 2.** Metabolismo de glutatión en una célula de mamífero representativa. El glutamato y la cisteína se unen para formar el dipéptido  $\gamma$ -glutamilcisteína a través de la  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetasa, posteriormente se adiciona glicina para formar GSH en una reacción catalizada por la GSH sintetasa. Se forma una poza de GSH de la cual la célula puede disponer de él, ya sea en reacciones redox o en otros procesos de detoxificación al conjugarse con ellos mediante la glutatión-S-transferasa (GST) y así ser transportados hacia el exterior de la célula. El glutatión reducido también puede salir de la célula mediante los transportadores MRP 1 y 2 (Multidrug-resistance protein), proceso que requiere de energía en forma de ATP, y así llegar al espacio extracelular en donde se metaboliza por la  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GT) para generar cisteinilglicina, la cual puede ser fragmentada por dipeptidasas y así generar cisteína y glicina, que junto con la glutamato, pueden entrar de nuevo a la célula mediante cotransportadores y comenzar de nuevo el ciclo. El glutatión reducido, utilizado en los diversos organelos, es transportado en forma de GSSG hacia el citosol donde puede iniciar de nuevo el ciclo de reducción y así regenerar el glutatión reducido. La relación normal entre la concentración de GSSG y GSH es de 1/10, variando la [GSH] entre 1 y 10 mM.

### Presencia de GSH en cerebro:

La síntesis de glutatión en cerebro sigue las mismas vías que en otros tejidos. Las enzimas que producen glutatión muestran una gran actividad en los plexos coroideos, aunque el glutatión es una molécula que se encuentra con homogeneidad en todo el cerebro (concentración de 1 a 3 mM), hay regiones en las cuales este metabolito se encuentra en mayores concentraciones y se ha documentado la presencia de las enzimas que son responsables de su síntesis en células gliales y en neuronas. La concentración de GSH en astrocitos en cultivo parecen ser mayor que en neuronas en cultivo; no obstante, cuando se co-incubaban ambos tipos celulares la concentración de GSH es mayor en las neuronas, indicando su interacción (Fig. 3).



**Figura 3.** Metabolismo de glutatión en células del sistema nervioso central. Esquema propuesto para las interacciones metabólicas entre los astrocitos y las neuronas en el metabolismo de la glutatión. Los astrocitos toman diferentes precursores que provienen del torrente sanguíneo e ingresan a través de la barrera hematoencefálica, y sintetizan GSH. El GSH liberado por los astrocitos al medio extracelular es sustrato de la  $\gamma$ -GT de membrana plasmática del astrocito; la cisteinilglicina generada en esta reacción sirve como sustrato para la síntesis de glutatión por la neurona. Además, la glutamina liberada por los astrocitos es usada por las neuronas para generar glutamato, necesario para la síntesis de glutatión. El transporte de la glutatión desde la barrera hematoencefálica y desde el líquido cerebroespinal hacia las neuronas y su ingreso hacia las neuronas vía el transportador es un proceso poco conocido. (1)  $\gamma$ -glutamylcisteína sintetasa; (2) GSH sintetasa; (3) gamma glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GT); GS-R, conjugado-S-glutatión; R-CysGly, conjugado-S-cisteinilglicina; X, sustrato aceptor de glutamato;  $\gamma$ Glu-X, sustrato glutamilado por ejemplo glutail-glutamato

### Transporte del GSH hacia el cerebro:

La homeostasis de la glutatión dentro del cerebro se mantiene predominantemente por el reciclamiento de sus constituyentes dentro del cerebro, pero en condiciones en las cuales incrementa la demanda, deben obtenerse nuevos precursores a partir del plasma, estos deben ser transportados a través de la barrera hematoencefálica (BHE), la cual es altamente selectiva a diversas moléculas y la única forma por la que pasan es a través de transportadores específicos. Además del transporte de los precursores, se ha descrito el transporte de la glutatión hacia el cerebro desde el plasma, por un transportador dependiente de sodio a través de los capilares cerebrales.

### Metabolismo de glutatión en cerebro:

Hay investigaciones que indican la presencia de actividad de las enzimas que metabolizan la glutatión en cerebro (GR y GPx), aunque son menores que en otros tejidos como el riñón e hígado.

Además, en cortes histológicos, se ha encontrado inmunoreactividad para GPx en células de microglia de cerebro de rata. También se han descrito neuronas inmunoreactivas para GPx en la lámina II de la corteza cerebral, el giro dentado y el núcleo pontino del ratón. En contraste, en cerebros humanos se ha encontrado una inmunoreactividad débil para GPx en astrocitos y neuronas, pero un incremento significativo se ha encontrado en los márgenes de áreas cerebrales infartadas en cerebros humanos.

La GR ha sido purificada del cerebro de rata como un dímero con subunidades idénticas, ésta tiene valores de Km del orden micromolar para sus sustratos (NADPH y GSSG). La inmunoreactividad hacia esta enzima, en rebanadas de cerebro de borrego, ha sido localizada en neuronas; no obstante, en células gliales la reactividad es variable. Así, en células en cultivo se encuentra poca inmunoreactividad en astrocitos y elevada en neuronas, microglia y oligodendrocitos, esto podría indicar la importancia de esta enzima en los mecanismos antioxidantes, ya que generaría mayor glutatión reducido a través de su ciclo de reducción. Los procesos bioquímicos que consumen glutatión en reacciones no óxido-reductoras, también se han descrito en cerebro; por ejemplo, se han reportado gran variedad de isoenzimas de GST expresadas en cerebro, de las tres clases de GST ( $\alpha$ ,  $\mu$  y  $\pi$ ) la clase  $\alpha$  es expresada en astrocitos, neuronas y células endoteliales; la clase  $\mu$  en neuronas y astrocitos; la clase  $\pi$  en oligodendrocitos. Las interacciones entre los astrocitos y las neuronas son de gran importancia para el metabolismo del GSH, ya que los precursores que llegan vía BHE ingresan a los astrocitos, y en estos se lleva a cabo la síntesis de GSH, el cual se transporta hacia el espacio extracelular donde es metabolizado por la  $\gamma$ -GT, generando cisteinilglicina que puede ingresar a las neuronas para integrarse a la formación de nuevo GSH. El transporte de GSH, como tal, a través de transportadores específicos entre astrocitos y neuronas es un proceso poco estudiado y requiere mayor investigación (Fig. 3).

#### **Funciones del glutatión en el cerebro:**

En la actualidad se ha hecho énfasis en las funciones especiales del glutatión en cerebro. Se considera que funciona como una neurohormona (o neuromodulador), debido a que: 1) se ha detectado glutatión en el espacio extracelular, 2) su liberación se estimula en cortes cerebrales, 3) se une específicamente a receptores extracelulares que generan cascadas de señalización en astrocitos y 4) promueve la inducción de corrientes de sodio en la neocorteza. El glutatión extracelular tiene funciones detoxificantes, por ejemplo en la isquemia cerebral experimental se metaboliza por medio de la  $\gamma$ -GT para generar compuestos menos tóxicos (Fig. 3), entre ellos encontramos el  $\gamma$ -glutamil glutamato que se forma por la combinación con glutamato, un componente que en condiciones de isquemia se incrementa (el glutamato) y genera muerte neuronal por excitotoxicidad. Otro ejemplo de detoxificación por el GSH es el asociado a los metabolitos oxidados de las catecolaminas (*o*-quinonas), ya que se ha observado que la deficiencia en la actividad de la enzima GST se asocia a daño y menor supervivencia de las neuronas dopaminérgicas. Otra de las funciones del GSH es participar indirectamente con el metabolismo de los leucotrienos. Así, el leucotrieno C4 (LTC4, un conjugado S-glutatión) es producto de la transferencia del GSH al leucotrieno A4 (LTA4), mediante la enzima GST; el leucotrieno D4 (LTD4, un conjugado-S-cisteinilglicina) es generado a partir del LTC4 en una reacción catalizada por la  $\gamma$ -GT. Ambos lípidos están relacionados con funciones neuroendocrinas y excitatorias.

#### **En eventos vasculares cerebrales:**

Los EVC constituyen una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en México y a nivel mundial, con numerosas secuelas a largo plazo. El EVC tipo isquémico representa aproximadamente del 80-85% de todos los casos; hay suficiente evidencia que sostiene la participación del estrés oxidativo como mecanismo fundamental del daño cerebral por reperusión. Cuando ocurre un EVC tipo isquémico, hay reducción en el flujo sanguíneo cerebral, generando un área central y un área de penumbra, en la zona central existe muerte neuronal casi después de iniciado el evento, mientras que en la zona de penumbra permanecen neuronas en bajo estado metabólico o no funcionales. Después del evento isquémico, se acumula ácido láctico y se



desarrolla acidosis tisular, promoviendo el estado prooxidante en el área. Diversos antioxidantes participan en esta etapa del proceso (CAT, SOD, vitaminas), uno de ellos, el GSH, ha mostrado ser una de las primeras líneas de defensa, ya que sus niveles disminuyen después del evento isquémico. Por el contrario, la disminución en la concentración del GSH, en diversos modelos animales, antes del evento isquémico, tiene como consecuencia un mayor daño, comparado con controles en los cuales no se disminuyó la concentración del GSH antes del evento.

### **1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.3.1 IMPORTANCIA DE RESOLVER LA DUDA DE LA INVESTIGACIÓN**

Excitotoxicidad es el proceso patológico por el cual las neuronas son dañadas y destruidas por las sobreactivaciones de receptores del neurotransmisor excitatorio glutamato, como el receptor NMDA y el receptor AMPA. Las excitotoxinas como el NMDA y el ácido kaínico que se unen a estos receptores, así como altos niveles patológicos de glutamato, pueden provocar la excitotoxicidad al permitir que niveles elevados de iones de calcio entren en la célula. La entrada de  $Ca^{++}$  en las células activa una serie de enzimas, incluyendo las fosfolipasas, las endonucleasas, y proteasas tales como la calpaína. Estas enzimas continúan dañando estructuras celulares como las que componen el citoesqueleto, la membrana y el ADN.

Hasta el momento no existen marcadores séricos de severidad en la EVC los cuales pueden orientar hacia la severidad del cuadro e indirectamente servir como factor pronóstico en la evolución de la patología; incluso podría utilizarse junto con otros factores como la edad, comorbilidades, cuadro clínico, magnitud, localización del evento isquémico o hemorrágico y alteraciones asociados (edema, desviación de la línea media, irrupción a ventrículos, etc.) observadas por TAC, como criterios para definir si un paciente es buen candidato para su ingreso a terapia intensiva, sin es necesario manejo quirúrgico o medico conservador.

Inicialmente la idea de investigación fue basada en que dentro de la fisiopatología de la EVC isquémica (mecanismo de lesión ampliamente descrito en la bibliografía) y hemorrágica (no plenamente comprobada pero si implicada en el área hipoperfundida secundaria a la lesión del vaso) el glutamato es el neurotransmisor que juega el papel más importante por su excitotoxicidad en la neurona permitiendo la entrada masiva de iones de calcio al interior de la célula, induciendo la formación de concentraciones anormalmente elevadas de radicales libres y especies reactivas de oxígeno que perpetúan y exacerbaban la lesión neuronal. Me planteo entonces la idea de que si existiera la forma de reducir el estímulo glutaminérgico en la hendidura sináptica (como una especie de diálisis de glutamato o fármacos que bloquen las vías de los aminoácidos excitadores) podría reducirse la lesión neuronal inducida por este neurotóxico y serviría así como medida terapéutica en la atención inicial de la EVC ya que al momento la atención está básicamente dirigida a medidas de sostén, trombolisis intravenosa, técnicas endovasculares y tratamiento

antitrombótico en el EVC isquémico y medidas de sostén, control estricto de la presión arterial, control de coagulopatias, manejo osmótico y/o quirúrgico en caso de que este indicado para el EVC hemorrágico, pero las medidas de neuroprotección para ambos tipos de EVC y sobre todo los manejos a nivel de las bases moleculares de la lesión están hasta ahora poco estudiados o con resultados inconclusos y es esta la línea de investigación (neuroprotección: hipotermia, normoglucemia, bloqueo selectivo de canales de calcio, disminución de concentraciones de glutamato, etc.) la que en los últimos años es motivo de constantes estudios y pruebas de investigación.

Sin embargo al iniciar la revisión de la bibliografía para sustentar la duda de investigación inicial (reducir el estímulo glutaminérgico como medida terapéutica en el manejo inicial de la EVC) me encontré con que no existe hasta el momento escalas de determinación de las concentraciones de glutamato en pacientes que sufren EVC isquémica o hemorrágica y mucho menos una relación entre los niveles alcanzados y la severidad clínica del paciente y su pronóstico a corto y mediano plazo; por lo que a este proyecto se le dio un giro y la presente investigación intenta demostrar si existe correlación entre niveles de glutamato y severidad de la EVC y servir como guía para continuar con los estudios y en un futuro sentar las bases para dirigir nuevas investigaciones encaminadas a responder la idea original de investigación para así disponer de más recursos terapéuticos en la atención inmediata de la EVC, para mejorar pronóstico y calidad de vida.

### 1.3.2 UTILIDAD DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

El presente proyecto pretende comprobar si existe relación entre los niveles séricos de glutamato y la severidad del cuadro clínico y presencia de secuelas en pacientes que sufren EVC tanto isquémica como hemorrágica. Se pretende investigar si de existir esta relación se puede integrar una serie de rangos de valores que sirvan como factores pronósticos en la evolución de la enfermedad. Se realizaría así una serie de valores que hasta ahora no existe para definir la severidad del cuadro. Además se sentarían las bases para continuar la investigación con mira a la posibilidad de una nueva terapéutica en la atención inicial de la EVC.

La investigación puede llevarse a cabo tomando en consideración que se cuenta con los recursos económicos, materiales, humanos y se ha definido el tiempo y espacio para el desarrollo de la misma. Por último, el protocolo de investigación me permitirá aprobar el apartado normativo de la Universidad Veracruzana de investigación, permitiéndome acreditar al siguiente año de residencia.

## **1.4 HIPÓTESIS**

1. Los niveles séricos de glutamato son más elevados en pacientes que cursan con EVC que en pacientes sanos o con factores de riesgo para EVC.
2. Los niveles séricos de glutamato son más elevados en EVC isquémica en la hemorrágica.
3. Los niveles séricos de glutamato son directamente proporcionales a la severidad clínica inmediata (dentro de las primeras 72hrs) de pacientes con EVC.
4. Aquellos pacientes que presentaron mayor elevación de niveles séricos de glutamato en el evento agudo cursan con mayores secuelas incapacitantes a corto y mediano plazo.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar si los niveles séricos de glutamato funcionan como marcador de severidad en la EVC.

### **1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar la incidencia de EVC isquémica y hemorrágica.
- Determinar el tipo de EVC mediante tomografía axial computarizada.
- Identificar los factores de riesgo mayormente asociados a EVC isquémica.
- Identificar los factores de riesgo mayormente asociados a EVC hemorrágica.
- Determinar los niveles séricos de glutamato en pacientes que no cuentan con factores de riesgo para EVC.
- Determinar los niveles séricos de glutamato en pacientes que cuentan con factores de riesgo para EVC.
- Determinar los niveles séricos de glutamato en pacientes que cursan con EVC isquémica y hemorrágica.
- Determinar la relación de eventos vasculares cerebrales de tipo isquémico y hemorrágico cuando se tiene niveles séricos de glutamato no elevados.
- Determinar la relación de eventos vasculares cerebrales de tipo isquémico y hemorrágico cuando se tiene niveles séricos de glutamato elevados.
- Comparar la relación entre pacientes sin factores de riesgo, con factores de riesgo, con EVC isquémica, con EVC hemorrágica y los niveles séricos de glutamato elevados y no elevados.
- Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la determinación de niveles séricos de glutamato como marcador de severidad para EVC isquémica y hemorrágica.

## **2. ACCIONES PARA VERIFICAR LA HIPÓTESIS Y/O ALCANZAR LOS OBJETIVOS**

### **2.1 GENERALIDADES**

#### **2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN PROPUESTA**

La investigación será prospectiva, transversal, descriptiva, no experimental.

#### **2.1.2 LUGAR DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN**

En las instalaciones del Hospital General “Dr. Luis F. Nachón”.

#### **2.1.3 TIEMPO PARA EL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN**

La investigación se llevará a cabo en el período febrero-diciembre del presente año, de acuerdo a los puntos citados en el cronograma de actividades en la sección de anexos.

### **2.2 MATERIAL DE ESTUDIO**

#### **2.2.1 ELEMENTOS DE ESTUDIO**

##### **2.2.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Todo paciente con diagnóstico clínico de enfermedad vascular cerebral con menos de 12 horas de evolución que acuda al servicio de urgencias del hospital.

Todo paciente con el diagnóstico de EVC que sea ingresado al servicio de Medicina Interna o Unidad de Cuidados Intensivos.

Pacientes de la consulta externa de neurología/neurocirugía que cursen con el diagnóstico de secuelas de EVC que hayan sido estudiados en el presente protocolo durante la fase aguda del evento.

Sujetos de estudio (tomados de la investigación de Carmen) que cuenten con factores de riesgo para EVC.

Sujetos de estudio (tomados de la investigación de Carmen) que no cuenten con factores de riesgo para EVC.

##### **2.2.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Que no aceptaron los pacientes o los familiares que se incluyera en el estudio.

Que por su gravedad se envió a un tercer nivel de atención antes de la realización de los estudios.

Que acudió al servicio de urgencias después de 12 horas de iniciado con datos clínicos de enfermedad vascular cerebral.

### 2.2.1.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Paciente que falleció antes de la determinación de glutamato y/o la evaluación del caso mediante tomografía axial computarizada.

En quien se documento, mediante tomografía axial computarizada, el diagnostico de otra enfermedad neurológica diferente de EVC como causa de hospitalización (absceso cerebral, neoplasia cerebral, etc.)

Que por cualquier motivo no se recabaron los resultados de glutamato y/o que no fue posible realizar una evaluación mediante tomografía axial computarizada.

Paciente que curso con isquemia cerebral transitoria, hematoma subdural o isquemia cerebral secundaria a proceso tumoral o infeccioso que se diagnostico a través de la tomografía axial computarizada.

En los que no se pudo realizar el diagnostico definitivo a través de tomografía axial computarizada.

## 2.2.2 NUMERO DE ELEMENTOS EN EL ESTUDIO

### 2.2.2.1 UNIVERSO O POBLACIÓN

Pacientes que se ingresaron al servicio de urgencias del Hospital General Regional "Dr. Luis F. Nachón" durante el periodo febrero-diciembre 2014, con el diagnostico clínico de enfermedad vascular cerebral de menos de 12 horas de evolución.

Mismo número de sujetos que el ingresado en punto anterior pero que cursen con factores de riesgo para EVC sin que cursen con esta patología (obtenidos del protocolo de Carmen).

Mismo número de sujetos que el ingresado en punto anterior pero que cursen sin factores de riesgo para EVC sin que cursen con esta patología. (Obtenidos del protocolo de Carmen).

### 2.2.2.2 MUESTRA

El 100% de pacientes que cursen con diagnostico clínico de EVC.

Para sujetos con factores de riesgo sin EVC se tomaran el mismo número de sujetos que en el punto anterior tomados de forma aleatoria del estudio realizado por Carmen.

Para sujetos sin factores de riesgo sin EVC se tomaran el mismo número de sujetos que en el punto anterior tomados de forma aleatoria del estudio realizado por Carmen.

### 2.2.2.3 GRUPOS

#### 2.2.2.3.1 NUMERO DE GRUPOS

Se dividirá en 4 grupos

#### 2.2.2.3.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS ELEMENTOS EN CADA UNO DE LOS GRUPOS

Grupo 1: Sujetos sin factores de riesgo para EVC sin EVC con niveles séricos de glutamato alto/bajo.

Grupo 2: Sujetos con factores de riesgo para EVC sin EVC con niveles séricos de glutamato alto/bajo.

Grupo 3: Sujetos con EVC isquémica con niveles séricos de glutamato alto/bajo.

Grupo 4: Sujetos con EVC hemorrágica con niveles séricos de glutamato alto/bajo..

#### 2.2.2.3.3 NÚMERO DE ELEMENTOS EN CADA UNO DE LOS GRUPOS

Indeterminada

## 2.3 METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LOS ELEMENTOS

### 2.3.1 VARIABLES DE ESTUDIO

#### 2.3.1.1 LISTADO

2.3.1.1.1 Glutamato

2.3.1.1.2 Tipo de enfermedad vascular cerebral.

2.3.1.1.3 Factores de riesgo para EVC

#### 2.3.1.2 DEFINICIÓN

2.3.1.2.1 GLUTAMATO: **A) Conceptual:** El ácido glutámico, o en su forma ionizada, el glutamato es uno de los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas. El ácido glutámico es crítico para la función celular y no es nutriente esencial porque en el hombre puede sintetizarse a partir de otros compuestos. Pertenece al grupo de los llamados aminoácidos ácidos, o con carga negativa a pH fisiológico, debido a que presenta un segundo grupo carboxilo en su cadena secundaria. Es el neurotransmisor excitatorio por excelencia de la corteza cerebral humana. Su papel como neurotransmisor está mediado por la estimulación de receptores específicos, denominados receptores de glutamato, que se clasifican en: ionotrópicos (canales iónicos) y receptores metabotrópicos (de siete dominios transmembrana y acoplados a proteínas G) de ácido glutámico. Todas las neuronas contienen glutamato, pero sólo unas pocas lo usan como neurotransmisor. Es potencialmente excitotóxico, por lo que existe una compleja maquinaria para que los niveles de esta sustancia estén siempre regulados. **B) Operacional:** Se consideran niveles elevados de glutamato a aquellos niveles que se alejen más de 2 desviaciones estándar del promedio obtenido de niveles séricos de glutamato de sujetos sin factores de riesgo para EVC ni EVC. **C) Indicador:** Niveles elevados de glutamato/ niveles no elevados de glutamato.

2.3.1.2.2 TIPO DE ENFERMEDAD VASCULAR CEREBRAL: **A) Conceptual:** La *isquemia cerebral* es la reducción del flujo sanguíneo que dura desde varios segundos a varios minutos. Si dura más de unos pocos minutos tiene lugar un infarto del tejido cerebral. La *hemorragia intracraneal* puede ocurrir en el parénquima cerebral, espacio subaracnoideo o en el espacio subdural o epidural. La mayoría de las hemorragias se asocian a

hipertensión, siendo menos frecuentes las hemorragias por malformaciones arteriovenosas y hemorragias intratumorales. Las hemorragias subaracnoideas suelen ser secundarias a la rotura de un aneurisma sacular o con menor frecuencia por una malformación arteriovenosa. **B) Operacional:** Se considera *EVC hemorrágica* cuando se observe en la tomografía craneal simple y contrastada una imagen hiperdensa. Se considera *EVC isquémica* cuando se observe en la tomografía craneal simple y contrastada una imagen hipodensa. **C) Indicador:** EVC Hemorrágico/ EVC Isquémico.

2.3.1.2.3 FACTORES DE RIESGO PARA EVC: **A) Conceptual:** Se considera factores de riesgo aquellas comorbilidades y factores biológico-genéticos y de hábitos higiénico dietéticos que favorecen o condicionan la presencia de aumento en el riesgo para presentar enfermedad vascular cerebral. Para efecto de esta investigación se incluyen en estos factores a la edad mayor de 65 años, sexo, raza, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, obesidad e inactividad física, adicción a drogas, hiperhomocistinemia, fibrinógeno alto, antecedentes de familiares de primera línea con EVC, anticuerpos antifosfolipidos, placas ulceradas en la aorta, tabaco, anticonceptivos orales, alcohol, crisis isquémicas transitorias, hiperlipidemia, arritmias cardiacas, trombosis aterosclerótica, vasculitis, tromboflebitis, alteraciones hematológicas (policitemia, purpura trombocitopenica, hemofilia) **B) Operacional:** presencia de cuando menos 3 factores de riesgo para EVC. **C) Indicador:** con presencia de factores de riesgo/ sin presencia de factores de riesgo.

### 2.3.1.3 DESGLOCE DE LAS VARIABLES

2.3.1.3.1 GLUTAMATO: Dependiente, cuantitativa, nominal, dicotomica.

2.3.1.3.2 TIPO DE ENFERMEDAD VASCULAR: Independiente, cualitativa, nominal, dicotomica.

2.3.1.3.3 FACTORES DE RIESGO PARA EVC: Independientes, cualitativa, nominal



## 2.3.2 TÉCNICA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

### 2.3.2.1 TIPO DE TÉCNICA PROPUESTA

Prueba diagnóstica

- a.- Pedir consentimiento informado (anexo no 2) al sujeto de estudio o familiar responsable de sujeto de estudio que cumplió con los criterios de inclusión.
- b.- Llenar el formato de recolección de datos (anexo no 3)
- c.- Realizar la toma sanguínea antes de las 12 y a las 72 hrs de iniciado el cuadro clínico (determinado mediante el interrogatorio a familiares durante la realización de la historia clínica) a fin de determinar los niveles séricos de glutamato.
- d.- Adecuada técnica de toma, almacenamiento, transporte y procesamiento de las muestras según sea especificado por el laboratorio.
- e.- A todos los pacientes con diagnóstico clínico de EVC se les realizara tomografía axial computarizada de cráneo máximo 24hrs después de ocurrido el evento.
- f.- Tanto en grupos 3 y 4 se determinara mediante el estudio tomográfico si la enfermedad vascular cerebral es isquémica o hemorrágica.
- g.- Seguir la evolución clínica de los pacientes con EVC que cumplen criterios de inclusión durante su estancia hospitalaria y en la consulta externa de neurología/neurocirugía a los 3 y 6 meses.
- f.- Comparar si existe relación entre severidad clínica de la enfermedad vascular cerebral isquémica o hemorragia y los niveles séricos de glutamato, relacionando los cuatro grupos de estudio.

### 2.3.2.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Formato de recolección de datos (anexo no 3)

### 2.3.2.3 ESTRATEGIA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se tomarán los datos de expedientes clínicos formados en los servicios de urgencias, medicina interna y terapia intensiva, con el apoyo de médicos adscritos e internos de estos servicios (previa explicación del proyecto y su disposición de colaborar en la investigación). Se concentraran estos hallazgos clínico-bioquímicos en el formato de recolección de datos.

## 2.4 MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

### 2.4.1 REGISTRO DE LOS DATOS

#### 2.4.1.1 REGISTRO DE LOS DATOS POR CADA CASO

<b>Glutamato</b>	<b>Sin factores de riesgo</b>	<b>Con factores de riesgo</b>	<b>Con EVC hemorrágico</b>	<b>Con EVC isquémico</b>	
Elevado	%	%	%	%	
No elevado	%	%	%	%	

### 2.4.2 PRESENTACIÓN DE LAS VARIABLES

Los datos agrupados se presentaran mediante gráficos:

- a) Tablas y cuadros
- b) Gráficas

### 2.4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

El análisis se realizara mediante el método estadístico:

Se realizara la prueba U de Mann-Whitney para comparar los niveles séricos de glutamato en pacientes con factores de riesgo, sin factores de riesgo y en aquellos que cursen con EVC isquémico o hemorrágica por tomografía de cráneo.

La comparación de proporciones de EVC de tipo isquémico y hemorrágico en los grupos de pacientes con glutamato elevado y glutamato no elevado se analizara mediante la prueba exacta de Fisher.

Se determinara la sensibilidad y especificidad de los niveles de glutamato considerados en escala nominal dicotómica (niveles elevados de glutamato vs no elevados). Se determinara también la sensibilidad y especificidad para los distintos niveles de glutamato que sean obtenidos en el estudio, a fin de fabricar una curva de características operativas para el receptor que permita detectar el mejor punto de corte posible (hablando en términos de sensibilidad y especificidad). Se graficaran curvas para evaluar el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de la prueba para las diferentes prevalencias de la enfermedad documentadas en los antecedentes.

### 3. BIBLIOHEMEROGRAFÍA

1. Arduz A, Ruiz Franco A. Enfermedad vascular cerebral. Clínica de enfermedad vascular cerebral. Instituto nacional de neurología y neurocirugía Manuel Velazco Suarez. Artículo de revisión. Vol. 55, N.º 3. Mayo-Junio 2012
2. Alwan A. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva. World Health Organization 2011
3. Lopez A, Mathers C, Ezzati M, et al. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet*. 2006;367:1747-57.
4. Kolominsky-Rabas P, Weber M, Gefeller, et al. Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: incidence, recurrence, and long-term survival in ischemic stroke subtypes: a population-based study. *Stroke*. 2001;32:2735-40.
5. Strong K, Mathers C, Bonita R. Preventing stroke: saving lives around the world. *Lancet Neurol*. 2007;6:182-87.
6. Chiquete E, Ruíz J, Murillo B, et al. Mortalidad por enfermedad vascular cerebral en México, 2000-2008: Una exhortación a la acción. *Rev Mex Neuroci*. 2011;12:235-41
7. Easton J, Saber J, Albers G, et al. Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association stroke council. *Stroke*. 2009;40:2276-93.
8. Johnston S, Rothwell P, Nguyen-Huynh M, et al. Validation and refinement of scores to predict very early stroke risk after transient ischemic attack. *Lancet*. 2007;369:283-92.
9. Van der Worp H, Van Gijn J. Acute Ischemic Stroke. *N Engl J Med*. 2007;357:572-9
10. Brott T, Adams H, Olinger CP, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke*. 1989;20:864-70.
11. Adams H, Bendixen B, Kapelle L, Love B, Gordon D, Marsh E. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of org 10172 in acute stroke treatment. *Stroke*. 1993;24:35-41.
12. Blanco M, Rodriguez-Yáñez M, Sonbrino T, Leira R, Castillo J. Platelets, inflammation, and atherothrombotic neurovascular disease: the role of endotelial dysfunction. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20 (suppl. 2): 32-39.
13. Castellanos M, Sobrino T, Castillo J. Evolving paradigms for neuroprotection: molecular identification of ischemic penumbra. *Cerebrovasc Dis* 2006; 21 (suppl 2): 71-79.
14. Castillo J, Leira R, Blanco M. Metaloproteasas y lesión neurovascular. *Neurología* 2004; 19: 312-320
15. Castillo J, Rodriguez I. Biochemical changes and inflammatory response as markers for brain ischaemia: molecular markers of diagnostic utility and prognosis in human clinical practice. *Cerebrovasc Dis* 2004; 17 (suppl 11): 7-18.
16. Cuenca-López MD, Brea D, Segura T, Galindo MF, Antón-Martínez D, Agulla J, Castillo J, Jordan J. La inflamación como agente terapéutico en el infarto cerebral: Respuesta inflamatoria celular y mediadores inflamatorios. *Rev. Neurol* 2010; 50 (6): 349-359.
17. Del Zoppo GJ. Focus on research: Stroke and neurovascular protection (Editorial). *N Engl J Med* 2006; 354; 6: 553-555.
18. Hurtado O, Moro MÁ, Sobrado M. Cadena respiratoria mitocondrial y generación de radicales libres en el infarto cerebral. . En: Joan Montaner. *Fisiopatología de la isquemia cerebral*. 2007. 1ª Edición. Ed. Marge Medica Books; 91-107.
19. Krupinski J, Turu MM. La respuesta neuroinflamatoria en la isquemia cerebral. En: Joan Montaner. *Fisiopatología de la isquemia cerebral*. 2007. 1ª Edición. Ed. Marge Medica Books; 119-144.
20. Rodriguez-Yáñez M, Castillo J. Role of inflammatory markers in brain ischemia. *Curr Opin Neurol* 2008; 21: 353-357.
21. Sobrado M, Moro MA, Hurtado O. El papel de la glía tras la isquemia cerebral. En: Joan Montaner. *Fisiopatología de la isquemia cerebral*. 2007. 1ª Edición. Ed. Marge Medica Books; 145-158.
22. Torregrosa G., Salom JB, Jover-Mengual T, Alborch E. *Fisiopatología básica: De la oclusión*

- arterial a la muerte neuronal. En: Joan Montaner. Fisiopatología de la isquemia cerebral. 2007. 1ª Edición. Ed. Marge Medica Books; 13-31.
23. Jesús Martínez-Sámamo, Patricia Victoria Torres-Durán, Marco Antonio Juárez-Oropeza. El glutatión y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. *REB* 30(2): 56-67, 2011 56
  24. Sistema Nacional de Información en Salud. Estadísticas 2000-2008. [www.sinais.salud.gob.mx](http://www.sinais.salud.gob.mx), accesado el día 11 abril 2011.
  25. Castrejón Sosa M (2007) Radicales libres y sistemas antioxidantes. En: Bioquímica: un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida. Editores: Diaz-Zagoya JC, Juárez- Oropeza MA. McGraw-Hill Interamericana, México. pp 611-628.
  26. Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97:1634-1658.
  27. Halliwell B, Gutteridge JMC (2007) Free radicals in biology and medicine. Fourth Edition. Oxford University Press, New York, USA, p. 851.
  28. Ballatori N, Krance SM, Notenboom S, Shi S, Tieu K, Hammond CL (2009) Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol Chem* 390:191-214.
  29. Franco R, Cidlowski JA (2009) Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death Differ* 16:1303-1314.
  30. McEligot AJ, Yang S, Meyskens FL (2005) Redox regulation by intrinsic species and extrinsic nutrients in normal and cancer cells. *Annu Rev Nutr* 25: 261-295.
  31. Dringen R, Gutterer JM, Hirrlinger J (2000) Glutathione metabolism in brain, metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species. *Eur J Biochem* 267: 4912-4916.
  32. Aoyama K, Watabe M, Nakaki T (2008) Regulation of neuronal glutathione synthesis. *J Pharmacol Sci* 108: 227-238.
  33. Takizawa S, Matsushima K, Shinohara Y, Ogawa S, Komatsu N, Utsonomiya H, Watanabe K (1994) Immunohistochemical localization of glutathione peroxidase in infarcted human brain. *J Neurol Sci* 122:66-73.
  34. Janaky R, Ogita K, Pasqualotto BA, Bains JS, Oja SS, Yoneda Y, Shaw CA (1999) Glutathione and signal transduction in the mammalian CNS. *J Neurochem* 73: 889-902.
  35. Bain JS, Shaw CA (1997) Neurodegenerative disorders in humans: the role of glutathione in oxidative stress-mediated neuronal death. *Brain Res Rev* 25:335-358.
  36. Allen CL, Bayraktutan U (2009) Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *Int J Stroke* 4: 461-470.
  37. Mizui T, Kinouchi H, Chan P (1992) Depletion of brain glutathione by buthionine sulfoximine enhances cerebral ischemic injury in rats. *Am J Physiol* 262: 313-317.

#### **4. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN**

En la realización de este protocolo se han analizado las posibles consecuencias que la investigación pueda presentar. Se ha cerciorado que tal investigación no traiga consigo efectos que resulten perjudiciales, tanto para las personas estudiadas como para los investigadores. Es por esto que se puede manifestar que el desarrollo de la investigación planteada en este protocolo no afecta física, moral ni psicológicamente a las personas involucradas en ella, ya que se maneja con absoluta confidencialidad la identidad de los sujetos de estudio. El presente proyecto de investigación se someterá a aprobación del Comité Local de Investigación y se basará en las normas de la Ley General de Salud de la República Mexicana y de la Declaración de Helsinki enmendada en octubre de 2000. En todos los casos se solicitará al sujeto de estudio o en su caso al familiar el consentimiento informado para ser incluido en el estudio.

Este trabajo se desarrollará bajo un criterio ético ya que no se afectará a ningún sujeto que participará en éste estudio, respetando su derecho al anonimato y a la confidencialidad. La investigación se llevará a cabo respetando los límites geográficos y cronológicos planeados para el estudio.

## 5. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 5.1 RECURSOS NECESARIOS PARA LA INVESTIGACIÓN

#### 5.1.1 RECURSOS HUMANOS

- Presenta

Dr. Paniagua López Luis Francisco. R1MI

- Asesores

Dr. Suarez Jácome Carlos. MI

Dr. Córdova Armando. Neurólogo

Dr. Soto Lares Raúl. Neurocirujano.

- Coordinador de investigación

Dr. Fidel Mendoza Mauricio. Especialidad ¿?

- Colaboradores

Médicos adscritos, residentes e internos de los servicios de urgencias, medicina interna y terapia intensiva que acepten colaborar en la investigación.

#### 5.1.2 RECURSOS FÍSICOS

Los investigadores podrán llevar a cabo la investigación en el tiempo y espacio definidos y con los recursos materiales que ésta necesite.

#### 5.1.3 RECURSOS ECONÓMICOS

Los gastos necesarios para la investigación serán solventados por los realizadores de la misma, con el apoyo de laboratorios y/o instituciones que se interesen en la realización de la investigación, así como con el uso de los recursos del hospital necesarios para el diagnóstico y tratamiento de los pacientes ingresados.

### 5.2 FACTIBILIDAD Y VIABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

#### *Factibilidad*

En la presente investigación se cuenta con los recursos humanos, institucionales físicos y económicos (**no es cierto no se tiene nada de presupuesto aun**) suficientes para llevar a cabo el estudio de los objetivos planteados.

#### *Viabilidad*

El protocolo de investigación se realiza para poder acreditar el primer año de la residencia de medicina interna, con respaldo académico de la Universidad Veracruzana. Una vez obtenidos los resultados se llevará a cabo la elaboración del reporte final. El tema de investigación es relacionado con conocimientos teóricos afines a la residencia y permitirá enriquecer los conocimientos hasta ahora escritos.

### 6. CRONOGRAMA

#### 6.1 DE ACTIVIDADES

Semana	Enero					Febrero- Noviembre													Diciembre													
	1	2	3	4	5	1 .....43													1	2	3	4										
Actividad																																
Definición del tema	X																															
Objetivo		X																														
Objeto de Transformación		X																														
Metodología		X																														
Cronograma de Actividades		X																														
Marco Teórico			X	X																												
Determinación de Recursos			X	X	X																											
Recolección de Datos						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																
Análisis de Datos						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						X	X						
Procesamiento de Información						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						X	X						
Informe Final																										X	X					
Vinculación																											X	X				
Presentación de Protocolo																															X	

#### 6.2 DE GASTOS

MATERIAL	CANTIDAD	COSTO
1	a.	?
2	b.	?
3	c.	?
4	d.	?
n.	x.	?

## 7. ANEXOS

### 7.1 ANEXO 1

Metodología para el análisis de las muestras de glutamato.

A.- *Muestra*: suero, plasma heparinizado o EDTA plasma.

B.- *Toma, almacenamiento y transporte de la muestra*: lo dispuesto por el laboratorio encargado. (Pendiente por investigar).

C.- *Reactivos*: lo dispuesto por el laboratorio encargado. (Pendiente por investigar).

D.- *Procesamiento de la muestra*: lo dispuesto por el laboratorio encargado. (Pendiente por investigar).

E.- *Control de calidad*: lo dispuesto por el laboratorio encargado. (Pendiente por investigar).

F.- *Entrega de resultados*: reporte por escrito de niveles séricos de glutamato directamente al responsable de la investigación.



## 7.1 ANEXO 2

Carta de consentimiento informado para participación en proyectos de investigación clínica.

Xalapa, Veracruz, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014

Por medio del presente acepto que participe mi familiar en el proyecto de investigación titulado, *“Determinación de los niveles séricos de glutamato como marcador de severidad a corto y mediano plazo en pacientes que sufren Evento Vascular Cerebral Isquémico y Hemorrágico”*, registrado ante el Comité Local de Investigación con el numero \_\_\_\_\_.

El objetivo de este estudio es determinar si existe relación entre los niveles séricos de glutamato y la severidad clínica de la enfermedad vascular cerebral.

Se me ha explicado que mi participación o la de mi familiar a mi cargo será en que se le tomen ¿? Ml de sangre a través de una punción venosa.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes (como son la sensación ligeramente molesta o dolorosa al momento de la punción venosa), molestias y beneficios derivados de mi participación o la de mi familiar a mi cargo en el estudio (como sería la vigilancia estrecha del caso).

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para el tratamiento, así como responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevaran a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme o retirar a mi familiar a mi cargo del estudio en cualquier momento en que le considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se me identificara a mí o a mi familiar a mi cargo en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a la permanencia en el mismo.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente o familiar responsable.

\_\_\_\_\_  
Investigador principal.

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

### 7.1 ANEXO 3

Formato de recolección de datos del protocolo de investigación *“Determinación de los niveles séricos de glutamato como marcador de severidad a corto y mediano plazo en pacientes que sufren Evento Vascular Cerebral Isquémico y Hemorrágico”*

#### FICHA DE IDENTIFICACION

Nombre \_\_\_\_\_  
Edad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_ No. De expedientes \_\_\_\_\_  
Domicilio \_\_\_\_\_ Colonia \_\_\_\_\_  
Municipio \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

#### DATOS EPIDEMIOLOGICOS

Tabaquismo	<input type="checkbox"/>	Anticonceptivos hormonales	<input type="checkbox"/>
HAS	<input type="checkbox"/>	Actividad física	<input type="checkbox"/>
Cardiopatía	<input type="checkbox"/>	Antecedente familiar para EVC	<input type="checkbox"/>
Hipercolesterolemia	<input type="checkbox"/>	Uso de drogas ilícitas	<input type="checkbox"/>
Diabetes mellitus	<input type="checkbox"/>	Obesidad	<input type="checkbox"/>

Otros \_\_\_\_\_

Fecha y hora de inicio \_\_\_\_\_ Fecha y hora actual \_\_\_\_\_  
Peso \_\_\_\_\_ Talla \_\_\_\_\_ IMC \_\_\_\_\_ Glasgow \_\_\_\_\_

#### RESULTADO DE LABORATORIO

Niveles séricos de glutamato antes de las 12 hrs \_\_\_\_\_ a las 72 hrs \_\_\_\_\_  
Hemoglobina \_\_\_\_\_ Hematocrito \_\_\_\_\_ Leucocitos \_\_\_\_\_ Plaquetas \_\_\_\_\_  
Na \_\_\_\_\_ Cl \_\_\_\_\_ K \_\_\_\_\_ Glucosa \_\_\_\_\_ Creatinina \_\_\_\_\_  
Colesterol \_\_\_\_\_ Trigliceridos \_\_\_\_\_  
Otros de importancia \_\_\_\_\_  
EKG (anormalidades encontradas) \_\_\_\_\_

#### EVOLUCION CLINICA (principales datos relevantes)

A su ingreso \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A las 12 hrs \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A las 72 hrs \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A su egreso \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

En la consulta externa a los 3 meses \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

En la consulta externa a los 6 meses \_\_\_\_\_