

# Muerte encefálica: fisiopatología y neuropatología

Escobar A<sup>1</sup>

## RESUMEN

La muerte encefálica es el criterio aceptado, actualmente, de muerte tanto en el aspecto médico, como en la opinión pública. Implica destrucción irreversible del encéfalo, con pérdida del automatismo respiratorio y persistencia de actividad cardíaca. El criterio de muerte del individuo se asocia con muerte encefálica, que en Estados Unidos, es base de la Ley de Determinación Uniforme de Muerte. La muerte encefálica sobreviene por lesiones traumáticas encefálicas, hemorragia subaracnoidea, maltrato infantil o la asfixia. En 1959 se postuló el coma depassé (coma irreversible) en 23 casos con pérdida de conciencia (coma), reflejos del tallo, respiración espontánea, EEG isoelectrico y necrosis masiva del encéfalo, lo cual condujo a definir el concepto de coma irreversible como "muerte encefálica". Los síndromes de enclaustramiento, Guillain-Barré-Strohl, hipotermia, intoxicación alcohólica, sobredosis de anestésicos, barbitúricos, compuestos adictivos, antidepresivos y trauma, deben ser objeto de diagnóstico diferencial antes de emitir el de muerte encefálica. Los requerimientos energéticos del encéfalo dependen del aporte constante de oxígeno y glucosa para la función cerebral normal. El flujo sanguíneo, la presión de perfusión, la presión intracraneal, la viscosidad sanguínea, la resistencia vascular y la densidad capilar son factores que también participan. En el paro cardíaco el nivel de oxígeno se reduce a cero con muerte encefálica global. El déficit de oxígeno en el aire inspirado, hipoxia, causa lesiones encefálicas de topografía variable, que obedecen al nivel de actividad neuronal, la intensidad y duración de la hipoxia. Susceptibles al daño por déficit de oxígeno y glucosa son la capa piramidal del hipocampo, capas 3, 4 y 5 de neocorteza, neuronas de Purkinje y granulares del cerebelo, el globo pálido y la sustancia blanca subcortical. La preferencia lesional en áreas diversas del parénquima cerebral se basa en la teoría de la patoclisis o de la vulnerabilidad selectiva tisular "topística". La necrosis -muerte- neuronal en la hipoxia por isquemia se debe a excitotoxicidad por glutamato, con acción destructiva sobre los receptores neuronales NMDA, AMPA, kainato y metabotrópicos. Además de la necrosis neuronal ocurre la llamada muerte celular programada, secuencia de cambios morfológicos que, colectivamente, se denominan apoptosis. El evento ocurre por etapas: condensación de la cromatina, enjuntamiento, condensación y fragmentación con extrusión de la estructura celular en cuerpos apoptóticos. Las etapas se asocian a una cascada de eventos moleculares como son: I. vías de señalamiento; II. control e integración, III. fase de ejecución común por la familia caspasa de proteasas; IV. remoción de las células muertas por macrófagos. Las etapas incluyen cambios en la permeabilidad mitocondrial y participación de genes. Los genes Bcl-2, Bax, Bad, BclX, Apaf-1, p53 codifican proteínas cuyas señales pueden ser proapoptosis o antiapoptosis. En conclusión: la muerte encefálica en la práctica clínica requiere también de pruebas confirmatorias que no dejen duda del diagnóstico de muerte encefálica el que, una vez firmemente establecido, lleva a declarar muerte del paciente, desconectar la ventilación mecánica, todo ello siempre de acuerdo con los cánones bioéticos, legales, religiosos y familiares.

**Palabras clave:** muerte encefálica, hipoxia, necrosis neuronal, apoptosis neuronal.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(4): 327-335

## Encephalic death: physiopathology and neuropathology

## ABSTRACT

Brain death is at present the accepted criterion to establish the diagnosis of death in all medical aspects and in public opinion. It implies the irreversible destruction of the brain with associated loss of spontaneous breathing and persistent cardiac rhythm. Brain death forms the basis of the Uniform Death Determination Act. Brain death may follow head trauma, subarachnoid hemorrhage, child abuse or choking. In 1959, the concept of coma depassé (irreversible coma) was introduced based on 23 cases with loss of consciousness, of brain stem reflexes, spontaneous breathing, isoelectric EEG, and massive necrosis of the brain, all of which led to define the concept of irreversible coma as brain death. Due to clinical similarities the locked-in syndrome, Guillain-Barré-Strohl peripheral neuropathy, accidental hypothermia, alcoholic intoxication, overdose of anesthetics, barbiturates, addictive drugs, antidepressants, and trauma must be considered in the differential diagnoses prior to diagnosis of brain death. The brain energetic requirements to maintain normal function depend on the constant flow of oxygen and glucose. Blood flow, blood perfusion pressure, intracranial pressure, blood viscosity, vascular resistance, and capillary density, are also participant factors. In cardiac arrest the oxygen drops to zero level with ensuing global brain death. Oxygen deficit in atmospheric air leading to hypoxia, induces brain lesions of varied topography obeying level of neuronal activity, intensity and duration of the hypoxia. Brain areas susceptible to oxygen and glucose deficits include the hippocampal pyramidal layer, neocortical layers 3, 4, 5, cerebellar Purkinje and granular layers, Globus pallidus, and subcortical white matter. The peculiar susceptibility of brain areas to damage by hypoxia is based on the theory of pathoclisis or selective "topistic" vulnerability. Neuronal necrosis in ischemic hypoxia is due to glutamate excitotoxicity acting upon NMDA, AMPA, kainate and metabotropic receptors. Besides neuronal necrosis, programmed cell death also occurs, it is a morphological change named apoptosis. It occurs in sequential stages beginning by cell shrinkage, nuclear chromatin condensation and fragmentation, cytoplasm surface blebbing and extrusion of membrane bound apoptotic bodies. Cascading molecular events to apoptosis include signaling pathways to initiate apoptosis, control and integration, a common-execution phase, and removal of dead cells by phagocytosis. Mitochondrial permeability to release cytochrome c an apoptotic trigger into the cytosol, and gene participation ensue. Bcl-2, Bax, Bad, BclX, Apaf-1, p53; all are genes encoding proteins that may exert pro-apoptotic or anti-apoptotic actions. Conclusion: In clinical practice, in order to avoid any doubts, confirmatory laboratory tests are required as proof of the clinical diagnosis of brain death, which once firmly established leads to declare that the patient is dead, followed by unplugging mechanical ventilation. All of this must be in agreement with the bioethical, legal, and religious regulations and family consent.

**Key words:** Brain death, hypoxia, neuronal necrosis, neuronal apoptosis.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(4): 327-335

1. Profesor Emérito, UNAM.

Correspondencia:

Dr. Alfonso Escobar

Departamento de Biología Celular y Fisiología.

Instituto de Investigaciones Biomédicas,

Ciudad Universitaria, UNAM.

C.P. 04510. México, D.F.

## INTRODUCCIÓN

La "muerte encefálica" \* es, ampliamente aceptada como criterio de muerte tanto en el aspecto

\* El término "muerte encefálica" es más preciso que el de uso más común de "muerte cerebral", dado que el concepto incluye la pérdida de reflejos del tallo como condición *sine qua non*.

médico, médico legal y en la opinión pública. Describe un estado de destrucción irreversible del encéfalo, con ausencia de mecanismo respiratorio espontáneo y persistencia de actividad cardíaca. La muerte encefálica implica abandonar las medidas de apoyo y considerar la posibilidad de donación de órganos con propósitos de trasplante.

En todo el planeta los médicos, funcionarios del sistema de salud, clérigos y el ciudadano civil aceptan, sin discusión, que un individuo está muerto cuando hay muerte encefálica. La muerte encefálica constituye, en los Estados Unidos de América, la base de la *Ley de Determinación Unifórmate de Muerte*.<sup>1</sup>

En el individuo adulto las causas más comunes de muerte encefálica son lesiones traumáticas encefálicas y hemorragia subaracnoidea; en los niños, el maltrato infantil sobrepasa a los accidentes automovilísticos o la asfixia.

Vale la pena mencionar que, en 1959, Mollaret y Goulon,<sup>2</sup> Mollaret, Bertrand y Mollaret<sup>3</sup> introdujeron el término *coma dépassé* (coma irreversible) a propósito de 27 casos en los que clínicamente hubo pérdida de conciencia (coma), de reflejos del tallo cerebral, de actividad en el electroencefalograma y de la respiración espontánea, así como necrosis masiva del tejido cerebral. Esta descripción dio lugar a ulteriores estudios, entre ellos, en 1968, el del Comité *Ad hoc* de la Escuela de Medicina de Harvard;<sup>4</sup> en 1971 y 1976, en la Conferencia de los Colegios Médicos Reales y las Facultades Médicas del Reino Unido,<sup>5</sup> estudios llevados a cabo con el propósito de definir, apropiadamente, el concepto de coma irreversible que se denominó de "*muerte encefálica*". Una importante adición al concepto de muerte encefálica fue el requisito de pérdida irreversible de las funciones del tallo cerebral, como el centro de toda función encefálica, sin el cual no hay vida.<sup>6,7</sup> En otras palabras, se consideró que el diagnóstico de muerte encefálica debe incluir, además de la pérdida de las funciones del tallo, pérdida de las funciones de la neocorteza (funciones cerebrales superiores) y de otras regiones del cerebro.

La muerte encefálica se define, actualmente, como el cese irreversible de todas las funciones del encéfalo, incluidas las del tallo, definición que considera los criterios cardiorrespiratorios tradicionales y los neurológicos modernos que, de hecho, generan confrontación con creencias religiosas e interfieren con la donación de órganos.

Si se considera que "encéfalo" implica poseer funciones cognoscitivas, se podría entender que el estado de coma priva al individuo de la calidad de persona, ya que como ser humano debe tener la capacidad de pensar, tener conciencia de ser uno

mismo. De ser éste el caso, conllevaría a que los pacientes en estado vegetativo persistente, como ocurre en las fases terminales de la demencia, pudiesen ser declarados individuos muertos. En 1981<sup>8</sup> y 1995<sup>9,10</sup> se añadieron otros requisitos, de tiempo para dictaminar sobre muerte encefálica y de maniobras de examen clínico, validez de pruebas confirmatorias y de las pruebas de apnea. A pesar de todas esas precisiones sobre cómo determinar muerte encefálica, hasta el día de hoy el tema sigue siendo discutido y sujeto de controversia en relación con aspectos médicos, legales, religiosos y culturales.

Otra controversia no resuelta en relación con el paciente en muerte encefálica es el dilema que confronta al médico con los familiares del paciente: "¿Cuándo se debe permitir a una persona morir?". Se recomienda que los médicos no usen el término "muerte encefálica" y se les dé tiempo y explicación a las familias para entender las bases del diagnóstico de muerte, el que no parece ser evidente cuando el cuerpo del familiar todavía manifiesta signos de vida, gracias al apoyo de un respirador.

## **ESTADOS NEUROLÓGICOS QUE PUEDEN CONFUNDIRSE CON MUERTE ENCEFÁLICA**

Con el fin de evitar errores de diagnóstico es conveniente tener en cuenta estados patológicos cuyas manifestaciones clínicas semejan muerte encefálica.

El síndrome de enclaustramiento secundario a la destrucción del puente en la trombosis de la arteria basilar; son casos en que el paciente no puede mover las extremidades, gesticular y deglutir, pero mantienen el parpadeo voluntario, los movimientos oculares verticales y el estado de conciencia, ya que la formación reticular y otras estructuras en el tegmento mesencefálico, por lo general, no se afectan.<sup>11</sup> El síndrome de Guillain-Barré-Strohl, con parálisis progresiva de todo el sistema nervioso periférico, puede semejar también el síndrome de enclaustramiento y, por ende, de muerte cerebral y es un síndrome que en un buen número de casos es reversible.<sup>12</sup> La hipotermia accidental, en niveles de 28 a 32 °C llega a producir parálisis pupilar y pérdida de los reflejos del tallo, esos casos, con buen manejo clínico, son susceptibles de ser reversibles.<sup>13</sup> En casos de intoxicación alcohólica por ingesta excesiva se debe hacer determinación de nivel de alcohol en sangre.<sup>14</sup>

Igualmente, en casos de sobredosis de sedantes y anestésicos, barbitúricos y antidepresivos tricíclicos, puede haber pérdida de los reflejos del tallo, y se requiere un examen exhaustivo de prue-

bas de laboratorio para tratar de determinar el agente sedante o bien esperar 48 horas para observar si los reflejos de tallo reaparecen.<sup>15</sup> Finalmente, en casos de trauma craneoencefálico, se debe tener precaución antes de hacer el diagnóstico de muerte encefálica y cuanto antes precisar las causas de la inconsciencia y pérdida de reflejos del tallo.<sup>16</sup>

## REQUERIMIENTOS ENERGÉTICOS DEL ENCÉFALO PARA EL MANTENIMIENTO FUNCIONAL

El encéfalo debe recibir el aporte apropiado, constante, de oxígeno y glucosa para satisfacer los requerimientos energéticos necesarios para el mantenimiento de la función cerebral.<sup>17</sup> Bajo condiciones normales, casi 90% de la energía necesaria para la transmisión de impulsos nerviosos y el mantenimiento de los gradientes iónicos, a través de la membrana neuronal, se obtienen de la oxidación de glucosa.

Dado que ni el oxígeno, ni la glucosa se almacenan en el tejido nervioso es entendible que éste sea susceptible de sufrir déficit de dichas moléculas. Sin embargo, existe diversidad de tolerancia al déficit de cualquiera de esas sustancias entre las diferentes partes que componen el sistema nervioso del ser humano; algunas áreas del encéfalo sobreviven solamente por algunos minutos si la concentración de oxígeno desciende de un nivel crítico; a esto se le denomina vulnerabilidad selectiva, un principio fascinante y preciso que denota el efecto dañino restringido únicamente a ciertas partes del encéfalo cuando éste es expuesto en forma global a un agente nocivo determinado.

La tendencia peculiar de las lesiones neuronales producidas por déficit de oxígeno a afectar, preferentemente, ciertas áreas del parénquima cerebral, condujo al desarrollo de la teoría de la patoclisis o de la vulnerabilidad selectiva tisular "topística", por los Vogt, en 1922.<sup>18</sup>

Las áreas encefálicas más susceptibles a sufrir daño por déficit de oxígeno y glucosa incluyen la capa piramidal del hipocampo, específicamente el sector CA1 (el llamado sector de Sommer en la epilepsia del lóbulo temporal), las capas 3, 4 y 5 de la neocorteza (necrosis laminar), principalmente en lóbulos occipitales y frontales, las neuronas de Purkinje y granulares del cerebelo, el globo pálido y la sustancia blanca subcortical, sobre todo las fibras en U, fibras córtico corticales; la topografía de la vulnerabilidad selectiva puede variar según la actividad funcional de las diferentes áreas del encéfalo, a mayor actividad funcional mayor susceptibilidad (para revisión del tema véase referencias 19 y 20).

Se ha establecido que la vulnerabilidad selectiva con muerte neuronal en la hipoxia por isquemia global se debe a la excitotoxicidad generada por la liberación de glutamato<sup>21</sup> en el líquido extracelular. La muerte encefálica global ocurre cuando el aporte de oxígeno y/o glucosa cae a nivel cero, como ocurre en el caso de paro cardíaco o episodios de hipotensión en exceso de un tiempo crítico. La causa más común es la falta de oxígeno, daño hipóxico/anóxico que puede deberse a cualquier variedad de obstrucción de las vías respiratorias o paro respiratorio; déficit de oxígeno en el aire como en la intoxicación por monóxido de carbono, o en accidentes anestésicos.<sup>17</sup>

Es conveniente definir los términos que se emplean en el contexto de la patogenia del daño cerebral:

Hipoxia. Denota la reducción en el aporte de oxígeno o en el uso del oxígeno a un nivel incapaz de sostener el metabolismo celular normal. La hipoxia se puede clasificar, por lo tanto, con base en la vía normal de aporte y de utilización de la molécula, en:

1. Hipoxia hipóxica (reducción del aporte de oxígeno).
2. Hipoxia anémica (reducción de hemoglobina y por ende del transporte de oxígeno).
3. Hipoxia histotóxica (incapacidad del tejido para captar y usar el oxígeno).<sup>19, 20, 22</sup>

El mecanismo implícito en la corriente de oxígeno desde la atmósfera a la mitocondria neuronal se puede comparar con una cascada en la que la presión del oxígeno del aire disminuye progresivamente, a su paso a los pulmones, a la sangre y al tejido nervioso. El contenido de oxígeno sanguíneo desciende a su paso por el cerebro de 19.6 mL/dL a 12.9 mL/dL, lo que indica que 6.7 mL de O<sub>2</sub>/dL se usan para satisfacer los requerimientos cerebrales de metabolismo oxidativo. El contenido de CO<sub>2</sub> venoso aumenta 6.6 mL/dL, lo que significa que el cociente respiratorio O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> es, prácticamente, la unidad.

En estudio experimental en primates, si el oxígeno arterial se reduce por debajo de 21 a 24 mm Hg, cuando menos ocho minutos, el metabolismo y la función tisular del SNC se ven afectadas gravemente, lo cual produce EEG isoelectrico y daño cerebral extenso. La presión de oxígeno en el aire inspirado se reduce al llegar a los alvéolos; en el siguiente paso el oxígeno va de la pared alveolar a la corriente sanguínea con otra reducción y de ahí al tejido por vía de los capilares.<sup>17</sup> La red capilar es variable, lo que depende de la riqueza metabólica del área. Por lo general, en el caso del sistema ner-

vioso, la red capilar es más densa en la sustancia gris, que requiere un aporte sanguíneo de 50 mL/100 g por minuto (el doble en el cerebro infantil), mientras que en la sustancia blanca es de 20 a 25 mL/100 g por minuto; sin embargo, hay excepciones, por ejemplo, la riqueza capilar de las pirámides bulbares (sustancia blanca) es mayor que en el fascículo cuneado.<sup>17, 23</sup>

Flujo sanguíneo cerebral (FSC). Depende de la presión de perfusión cerebral –PPC– (diferencia entre la presión arterial media y la presión intracraneal) y de la resistencia vascular cerebral; esta última asociada a la presión intracraneal (5 mm Hg), la viscosidad sanguínea y el tono del músculo liso de las paredes vasculares. Si la presión intracraneal aumenta a 44 mm Hg se afecta significativamente el flujo sanguíneo encefálico. La relación entre la PPC y el FSC depende de la autorregulación, en ésta participan la actividad tisular local, que a su vez determina el consumo de oxígeno y glucosa y el FSC que debe mantenerse entre 65 y 140 mm Hg de presión arterial.<sup>24</sup>

El control de la ventilación pulmonar es automático, se ejerce por la formación reticular en las vías descendentes bulbares a las motoneuronas alfa en los segmentos espinales C2-C4; aunque también existe la posibilidad de hacer movimientos respiratorios voluntarios por la vía córtico espinal, como cuando queremos hacer una inspiración forzada; si falla el mecanismo de ventilación pulmonar automático sólo queda el control voluntario, que resulta imposible mantenerlo todo el tiempo, ya que durante el sueño obviamente es imposible y de consecuencia fatal (la maldición de Ondina).<sup>25</sup>

En resumen, el correlato metabólico de la glucosa depende no solamente de la actividad neuronal, sino también de la actividad de la glía astrocitaria, de tal modo que la relación glía/neurona es importante.<sup>26, 27</sup>

### **ALTERACIONES NEUROPATOLÓGICAS CONCOMITANTES CON EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE MUERTE ENCEFÁLICA**

Como consecuencia de la detallada descripción clínica por Mollaret y cols., de 27 casos de coma depassé<sup>2,3</sup> y de dos casos de muerte encefálica que tuvieron necrosis extensa de las estructuras intracraneales,<sup>28</sup> de todas partes del mundo se precipitó una abundante serie de trabajos científicos sobre el tema, lo que constituyó una bibliografía extensa que fue publicada por los Institutos Nacionales de Salud, en 1972.<sup>29</sup>

En la década de los 70 hubo una abundante producción científica del tema con contribuciones valiosas que permitieron dar precisión al concepto de muerte encefálica (véase revisión en ref. 7). La serie

más grande reportada fue de 73 casos en los que hubo necrosis cerebral en variada intensidad y extensión, desde necrosis laminar en la neocorteza hasta total destrucción del encéfalo, asociada al tiempo de supervivencia.<sup>30</sup>

En ese estudio se concluyó que, desde el punto de vista estrictamente neuropatológico, todos los pacientes, en el material patológico examinado, habían manifestado síndromes clínico y electroencefalográfico de muerte cerebral, y todos exhibieron necrosis extensa del cerebro y tallo cerebral, edema cerebral grave, cambios morfológicos del llamado "cerebro de respirador".<sup>31</sup> En otros subsecuentes, incluido el Estudio Colaborativo en los Estados Unidos, en 226 autopsias<sup>32</sup> hubo evidencia macro y microscópica de necrosis y edema intenso del cerebro y cerebelo, corteza cerebral congestiva y coloración gris oscura, por la supresión de la circulación cerebral. La isquemia del encéfalo constituye hallazgo característico en la muerte cerebral en 94% de los casos, infarto o edema del diencefalo en 85%, distorsión, compresión, e isquemia del tallo en 84%, tumefacción de la hipófisis con coloración grisácea y hemorragia focal, 49%, y en los casos de más de diez días de duración las amígdalas cerebelosas se desintegran en 80%, y es común hallar tejido cerebeloso macerado en el fondo de saco dural de la médula espinal. El estudio microscópico muestra ausencia o escasa reacción inflamatoria, red capilar congestiva con edema endotelial, y abundantes hematíes extravasados que conforman petequias múltiples, pycnosis de núcleos y citoplasma eosinófilo de la totalidad de las neuronas, necrosis total de la capa granular y de las células de Purkinje del cerebelo, necrosis de las células de la adenohipófisis.<sup>33,34</sup>

Se debe señalar que el aumento de la presión intracraneal secundaria a la tumefacción cerebral masiva se considera el posible mecanismo fisiopatológico determinante de la muerte encefálica, ya que se produce obstrucción de la circulación cerebral. Desde 1953 se había descrito este fenómeno fisiológico de obstrucción circulatoria encefálica en casos de aumento de la presión intracraneal.<sup>35,36</sup> Todos estos hallazgos neuropatológicos constituyen los criterios aceptados para *el diagnóstico de cerebro de respirador*.<sup>31,33</sup>

Aquellas células que perecen como consecuencia de daño tisular por hipoxia muestran cambios morfológicos que genéricamente se denominan necrosis, que difieren de las células que mueren por apoptosis (*vide infra*); la necrosis consiste de tumefacción intensa y, subsecuentemente, desnaturalización y coagulación de las proteínas citoplasmáticas, destrucción de los organelos celulares, y daño a la membrana, lo cual lleva a la muerte de la célula, que libera el contenido

intracelular, con capacidad para dañar el tejido adyacente y, potencialmente, generar inflamación. Necrosis o necrosis coagulativa constituye el tipo más común de muerte celular debida a estímulos exógenos, tales como isquemia o lesión química.<sup>17,37</sup>

Las lesiones neuronales secundarias a la hipoxia dependen de la magnitud y de la duración del evento hipóxico. Se han descrito tres variedades de daño neuronal directamente atribuidos a la hipoxia:

1. El fenómeno neuronal isquémico.
2. La muerte neuronal retardada.
3. El daño neuronal por excitotoxicidad.<sup>17</sup>

El fenómeno neuronal isquémico comienza con microvacuolización, seguida de cambio en el citoplasma con incrustaciones y homogeneización hasta la destrucción neuronal total. La muerte neuronal retardada también depende de la magnitud y de la duración de la hipoxia (o isquemia en su caso), el término de retardada se debe a que los estudios experimentales, y seguramente en el hombre, ocurren de manera similar, muestran que subsecuente al evento hipóxico las lesiones neuronales se agravan a medida que pasa el tiempo, desde dos días hasta cuatro y ocho días después, tal y como se ve en las neuronas de los sectores CA<sub>1</sub> y CA<sub>4</sub> del hipocampo.

El daño neuronal por aminoácidos excitatorios se refiere, fundamentalmente, al que induce el neurotransmisor glutamato; se trata de muerte neuronal que ocurre, principalmente, secundaria a eventos isquémicos en los que se libera abundante cantidad de glutamato aunque también ocurre en eventos hipoglucémicos en cuyo caso la excitotoxina es el aspartato. En ambos casos la excitotoxicidad va asociada al influjo del ión Ca<sup>++</sup> que activa la proteína cinasa C y las proteasas; este fenómeno ha sido bien estudiado fisiológicamente en la potenciación a largo plazo, que aumenta la eficiencia de la sinapsis gracias a cambios morfológicos en las dendritas y espinas dendríticas; este cambio es muy similar al que induce la excitotoxicidad de lesión dendrítica y no daño al axón. Las dendritas aparecen tumefactas por la pérdida de iones y de la homeostasis acuosa. La acción excitotóxica del glutamato va asociada a la estimulación de receptores NMDA, de kainato, AMPA y metabotrópicos.<sup>38,39</sup>

Las lesiones neuronales que ocurren en los eventos hipóxicos también se distribuyen de acuerdo con la vulnerabilidad selectiva; las neuronas piramidales de la neocorteza, sobre todo, las de las capas constantemente activas, III y IV, son las mayormente afectadas y esto se manifiesta en el estudio neuropatológico como necrosis laminar, lo cual tam-

bién se ve en la paleocorteza, específicamente en el hipocampo, los sectores CA1 y CA4 y las neuronas granulares del giro dentado. Obviamente esta vulnerabilidad selectiva va asociada a la liberación de glutamato por la actividad neuronal. Las neuronas de Purkinje y las granulares del cerebelo, la *pars reticularis* de la sustancia negra y el globo pálido siguen en orden descendente en lo que se refiere a vulnerabilidad; además, hay también lesión extensa de las neuronas GABAérgicas de la corteza cerebral, el tálamo (núcleos reticulares) y el cuerpo estriado, aunque hasta ahora no hay una explicación clara de por qué ocurre, aunque se invoca la acción de receptores diferentes de los NMDA.<sup>18-20</sup>

## LESIONES GLIALES EN LOS EVENTOS HIPÓXICOS

Inmediatamente subsecuente a un evento hipóxico/isquémico se produce una reacción glial astrocitaria, principalmente en la periferia de la lesión; la gliosis tiende a ser progresiva, cuya intensidad depende del tiempo de duración de la muerte encefálica, y, finalmente, constituye la cicatriz de la lesión. La oligodendroglia reacciona con tumefacción aunque este cambio parece ser un artefacto dado que la desmielinización subsecuente se debe a la degeneración Walleriana distal de los axones de las neuronas destruidas. La microglia reacciona para formar macrófagos en una transformación progresiva para "limpiar" el área afectada.<sup>40</sup>

## APOPTOSIS<sup>41,42</sup>

La muerte celular programada se define por una secuencia de cambios morfológicos que, colectivamente, se les denomina apoptosis. La apoptosis fue descrita en 1972, es una palabra de origen griego que significa desprenderse, caer (como caen las hojas de un árbol), pero que en citología implica *fragmentación, muerte celular*. La apoptosis se halla bajo el control de un programa bien definido, crítico durante la vida embrionaria y la vida adulta para mantener el número y composición celular normal.

La apoptosis ocurre cuando una célula muere por la activación de un programa suicida controlado internamente. Es el desmantelamiento sutilmente orquestado de los componentes celulares diseñado para eliminar células innecesarias durante la embriogénesis y en varios fenómenos fisiológicos.

El fenómeno de apoptosis incluye enjutamiento, condensación y fragmentación con extrusión de toda la estructura celular en cuerpos apoptóticos. En una primera etapa ocurre *condensación de la cromatina en la periferia del núcleo*, lo que constituye el cambio más característico de la apoptosis, seguida de *enjutamiento y aumento de la densidad del cito-*

*plasma*, con organelos relativamente bien conservados; subsecuentemente aparece *vesiculación de la superficie celular* y, finalmente, *fragmentación* tanto del núcleo como del citoplasma para formar y extrudir los *cuerpos apoptóticos* compuestos de citoplasma, organelos y fragmentos del núcleo, recubiertos de membrana celular, los que eventualmente son fagocitados por otras células del parénquima o por macrófagos, en donde son degradados por los lisosomas. Esos cambios secuenciales, que terminan en la muerte celular por apoptosis y la fagocitosis de los fragmentos, ocurren rápidamente, sin evidencia de reacción inflamatoria, a diferencia de la necrosis, lo cual dificulta, a veces, la identificación histológica. Esos cambios morfológicos van asociados a modificaciones bioquímicas: el *clivaje proteico* en el que hay hidrólisis de las proteínas con activación de las caspasas (proteasas de cisteína) y endonucleasas, seguidos de *entrecruzamiento proteico* por activación de la transglutaminasa; a continuación ocurre la *fragmentación del ADN* en piezas de 50 a 300 kilo bases, y como etapa final el *reconocimiento fagocítico* por la expresión de fosfatidilserina en las capas externas de la membrana, a veces por trombospondina, alteraciones que permiten a los cuerpos apoptóticos ser reconocidos por los macrófagos.<sup>43,44,45</sup>

### MECANISMOS MOLECULARES QUE REGULAN LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA

La apoptosis constituye el punto final de una cascada de eventos moleculares, dependientes de energía, iniciada por algunos estímulos, que consisten de cuatro componentes bien definidos, pero que se traslapan unos con otros:

1. Vías de señalamiento que inician la apoptosis.
2. Control e integración, en los cuales las moléculas intracelulares de regulación positivas o negativas inhiben, estimulan o detienen la apoptosis.
3. Fase de ejecución común que constituye el programa de muerte real, lo que se logra por medio de la familia caspasa de proteasas.
4. Remoción de las células muertas por medio de la fagocitosis.<sup>41,42</sup>

Los estímulos apoptóticos generan señales que pueden ser transmitidas a través de la membrana celular, o bien, dirigidas directamente a blancos intracelulares. Las señales pueden ser positivas o negativas para la apoptosis; p. ej.: algunas hormonas, factores de crecimiento y citocinas suprimen la cascada de eventos que llevan a la muerte celular,

esto es, son estímulos de supervivencia normales; por el contrario, la falta de esos estímulos constituye falla de la supresión de programas de muerte celular y se desencadena la apoptosis.

El efecto de agentes fisicoquímicos, tales como calor, radiaciones, xenobióticos, hipoxia y otros como infecciones virales, glucocorticoides asociados a receptores nucleares, que actúan como señalamientos intracelulares pueden también causar apoptosis.

El control y la integración se lleva a cabo por proteínas específicas que conectan las señales de muerte a la ejecución del programa para que éste se lleve a cabo o que aborten las señales potencialmente letales; lo que clínicamente es de suma importancia, ya que se determina la vida o la muerte de las comunidades celulares que participan en procesos biológicos, p.ej. la respuesta inmune o el cáncer<sup>43-45</sup>. Dos mecanismos participan, proteínas de adaptación específicas como en el modelo de Fas-Fas ligando, y muerte de células blanco por linfocitos T citotóxicos, en este último participan las proteínas Bcl-2<sup>46,47</sup> que desempeñan un papel importante, ubicuo en la regulación apoptótica de la función mitocondrial.

Las mitocondrias se pueden afectar de dos modos: cambio de la permeabilidad con formación de poros y tumefacción en la membrana interna de la mitocondria, aumento de la permeabilidad de la membrana externa que desencadena la apoptosis al liberar citocromo *c* en el citosol; el citocromo *c* se halla entre ambas membranas, se integra como componente soluble de la vía respiratoria. El citocromo *c* tiene una función reguladora dado que se libera antes de los cambios morfológicos de la apoptosis.

La permeabilidad de la mitocondria es regulada por varias proteínas, las más importantes pertenecen a la familia Bcl-2, homólogo mamífero del gene antiapoptótico *ced -9* en el *C. elegans*, que se halla en la membrana externa mitocondrial, retículo endoplásmico y en la envoltura nuclear; cuyas funciones son reguladas por otros miembros de misma familia –Bax, Bad que facilitan la apoptosis o Bcl-XL que la inhibe. El Bcl-2 suprime la apoptosis al impedir la permeabilidad mitocondrial, lo cual se halla en función de la proporción que exista entre los proapoptóticos y antiapoptóticos de la familia Bcl-2. En algunas células el Bcl-2 puede suprimir la apoptosis si actúa como *proteína de anclaje* que retiene proteínas del citosol y las secuestra en la membrana mitocondrial, por ejemplo, el *factor activador proteasa proapoptótica (Apaf-1)*, homólogo mamífero del gene *ced-4* del nemátodo. Si las señales de muerte liberan el citocromo *c* de la mitocondria, éste se une al *Apaf-1* y lo activa, se

desencadena una *caspasa iniciadora* (caspasa 9) que lleva a poner en acción los eventos proteolíticos que matan a la célula. El Bcl-2 impide la apoptosis al secuestrar al *Apaf-1*, lo que impide que se lleve a cabo esa secuencia de eventos que llevaría a la fase de ejecución, la cascada proteolítica en la que participan proteasas de la familia de las *caspasas*. Las caspasas son homólogos mamíferos del gene *ced-3* en el *C. elegans*; las más de diez conocidas caspasas se dividen en iniciadoras y ejecutoras, entre las iniciadoras se halla la caspasa 9 que se une la *Apaf-1* y la caspasa 8 que se activa por su interacción con el ligando Fas. Fas.<sup>48-51</sup>

Los genes involucrados en el control de la muerte celular programada codifican proteínas con tres funciones bien definidas: proteínas "asesinas" necesarias para iniciar el proceso de la apoptosis; proteínas para "destruir" encargadas de la digestión del DNA durante la muerte celular; proteínas para el "englobamiento" requeridas por otras células para la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos.<sup>41,42,51</sup>

Estos conocimientos se han logrado por medio de estudios genéticos en las células somáticas del nemátodo *Caenorhabditis elegans*; que han llevado a la identificación de los genes específicos *ced* (siglas en inglés de muerte de *C. elegans*) y sus contrapartes en mamíferos, que pueden iniciar o inhibir la muerte celular. De las 947 células no gonadales que se generan durante el desarrollo de la forma hermafrodita adulta, 131 células se someten a la muerte celular programada. Se ha identificado una variedad de genes que codifican proteínas que desempeñan un papel esencial en el control de la muerte celular programada. Por ejemplo, ésta no ocurre en gusanos cuyos genes *ced-3* o *ced-4* posean mutaciones no funcionales, lo cual da por resultado que sobrevivan las 131 células "condenadas".<sup>41,42,51</sup>

## COROLARIO

De todo lo anterior varios aspectos importantes relacionados con la muerte encefálica vienen a la palestra de la discusión, sobre todo que el tema de la muerte encefálica ha salido del criterio puramente médico al criterio y consideración del público general.

En un buen número de países se ha establecido por ley proceder a pruebas confirmatorias de la muerte cerebral. Las más importantes incluyen la angiografía, el EEG, la ultrasonografía transcraneal y la prueba de centello nuclear. Prueba de gran importancia es la angiografía cerebral para documentar la ausencia de llenado del árbol arterial, tanto el carotídeo cuyo flujo se detiene en la porción petrosa como el vértebro-basilar a nivel de foramen mágnun. El estudio EEG, una de las pruebas con mayor validez en el diagnóstico de muerte cerebral, debe hacerse cuando menos 30

minutos en un aparato de 16 o 18 canales, calibrado a sensibilidad de 2mV por milímetro.

La ultrasonografía transcraneal Doppler posee sensibilidad de 91 a 99% y especificidad de 100%, la cual aplicada a las arterias cerebral media y vertebral puede mostrar la ausencia de flujos diastólico y reverberante, pequeña deflexión sistólica. El SPECT nuclear con tecnecio (Tc 99m hexametazima) que muestre ausencia de la captación del isótopo trazador y que sea congruente con los hallazgos de la angiografía.<sup>9,52,53</sup>

De primordial consideración se halla lo referente al trasplante de órganos, sobre todo si se toma en cuenta el avance tecnológico y la demanda de órganos para trasplante en la actualidad. Por lo general se recomienda que en la elección de donadores los mejores son aquellos pacientes que desarrollan muerte cerebral cuyos órganos poseen, potencialmente, superior funcionalidad, sobre todo en lo que se refiere al trasplante de riñón; en cambio, aquéllos que mueren subsecuentes a paro cardíaco tienen menor potencialidad funcional de los órganos que van a ser trasplantados.

El tema que sigue siendo de controversia hasta el momento actual es el de la toma de decisiones, sobre en qué momento se deben retirar los sistemas de apoyo al paciente. Varios casos, cuya descripción detallada ha sido ampliamente publicada en los medios de información, dan una idea de las complicaciones médicas, éticas, religiosas y legales a las que se enfrenta el médico que debe convencer a una familia que el paciente ha llegado a la etapa de destrucción cerebral y que debe declarársele muerto legalmente. ¿Cómo convencer a una familia que el paciente ha muerto si aún conserva contracción miocárdica y respiración apoyada por medios mecánicos? Primero que nada se debe tener la certeza de que el diagnóstico de muerte cerebral se ha hecho en forma precisa. No olvidar que hay diferencia entre muerte encefálica y estado vegetativo persistente. "Muerte encefálica implica total destrucción del encéfalo, con ausencia total de respuestas voluntarias y reflejas", pérdida de actividad cortical y de tallo cerebral, en expresión clínica no hay respuesta a estímulos, pérdida del ritmo respiratorio, de los reflejos cefálicos y del tallo. En el estado vegetativo persistente aunque igualmente las funciones cerebrales están perdidas, se mantienen ciertas funciones vitales, tales como los ritmos respiratorio y cardíaco, temperatura y regulación de la presión arterial.<sup>10,33,54</sup>

## REFERENCIAS

1. *Uniform Determination of Death Act, 12 Uniform Laws Annotated (U.L.A.) 589 (West 1993 and West Supp. 1997) (Quoted by Wijdicks, Ref. 9)*

2. Mollaret P, Goulon M. Le coma dépasse. (Memoire preliminaire) *Revue Neurologique* 1959; 101: 3-15
3. Mollaret P, Bertrand I, Mollaret H. Coma dépasse et nécroses nerveuses centrales massives. *Revue Neurologique* 1959; 101: 116-39.
4. A definition of irreversible coma: report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to examine the definition of brain death. *JAMA* 1968; 205: 337-40.
5. Conference of Royal Colleges and Faculties of the United Kingdom: diagnosis of brain death. *Lancet* 1976; 2: 1069-70.
6. Mohandas A, Chou SN. Brain death: a clinical and pathological study. *J Neurosurg* 1971; 35: 211-8.
7. Black PMcL. Brain death. *NEJM* (First of two parts) 1978; 299: 338-44. (second of two parts) 299: 393-401.
8. Guidelines for the determination of death: report of the Medical Consultants on the Diagnosis of Death to the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. *JAMA* 1981; 246: 2184-6.
9. Wijdevicks EFM. The diagnosis of brain death. *NEJM* 2001; 344: 1215-46.
10. Wijdevicks EFM. Determining brain death in adults. *Neurology* 1995; 45: 1003-11.
11. Patterson JR, Grabis M. Locked-in syndrome: a review of 139 cases. *Stroke* 1986; 17: 758-64.
12. Kotsoris H, et al. Total locked-in state resembling brain death in polyneuropathy. *Ann Neurol* 1984; 16: 150 (abstract).
13. Danzl DE, Pozos RS. Accidental hypothermia. *NEJM* 1994; 331: 1756-60.
14. Gilbert M, et al. Resuscitation from accidental hypothermia of 13.7 °C with circulatory arrest. *Lancet* 2000; 355: 375-6.
15. Yang KL, Dantzer DR. Reversible brain death: a manifestation of amitriptyline overdose. *Chest* 1991; 99: 1037-8.
16. Graham DI, et al. Trauma. In: DI Graham, PL Lantos (Eds.). *Greenfield's Neuropathology*. 7th Ed. Vol. I, Chapt. 14. Arnold, London: 2002, p. 823-98.
17. Auer RN, Sutherland GR. Hypoxia and related conditions. In: DI Graham, PL Lantos (Eds.). *Greenfield's Neuropathology*. 7th Edition. Vol. I. Chapt 5. Arnold, London: 2002; p. 233-80.
18. Vogt C, Vogt O. Erkrankungen der Grosshirnrinde im Lichte der Topistik, Pathoklise, und Pathoarchitektonik. *J Psychol Neurol* 1922; 28: 1-171 (Citado en Ref. 17).
19. Escobar A, Nieto D. Anoxia cerebral. Consideraciones sobre la patogenia y la topografia de las lesiones. *Neurol Neurocir Psiquiat (México)* 1963; 4: 57-63.
20. Escobar A, Sáenz-Arroyo L. Degeneración de la capa granular del cerebelo. Estudio de dos casos. *Bol Inst Estud Méd Biol Méx* 1960; 18: 105-22.
21. Benveniste H, et al. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; 43: 1369-74.
22. Plum F, Posner JB, Hain RF. Delayed neurological deterioration after anoxia. *Arch Int Med* 1962; 110: 56-63.
23. Craigie EH. On the relative vascularity of various parts of the central nervous system of the albino rat. *J Comp Neurol* 1920; 31: 429-64.
24. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 10th Ed. Chapt 61. Philadelphia: Saunders; 2000, p. 709-15 (Cerebral blood flow; the cerebro spinal fluid; and brain metabolism).
25. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 10th Ed. Chapt. 37. Philadelphia: Saunders; 2000, p. 432-43 (Pulmonary ventilation).
26. Purpura V, et al. Glutamate-mediated astrocyte-neuron signaling. *Nature* 1994; 369: 744-7.
27. MacVicar VA, et al. GABA activated Cl<sup>-</sup> channels in astrocytes of hippocampal slices. *J Neurosci* 1989; 9: 3577-83.
28. Bertrand I, et al. Nécroses massives du système nerveux central dans une survie artificielle. *Revue Neurologique* 1959; 101: 101-15.
29. Smith AJK, Penry JK. Brain death: a bibliography with key-word and author indexes. (DHEW Publication No. [NIH] 73-347). Washington, D.C. Government Printing Office, 1972.
30. Smith AJK, Walker AE. Cerebral blood flow and brain metabolism as indicators of cerebral death: a review. *Johns Hopkins Med J* 1973; 133: 107-19.
31. Kjeldsberg CR. Respirator brain. In: J Minckler (Ed.). *Pathology of the Nervous System*. Vol. 3. Chapt. 211. New York: McGraw-Hill; 1972, p. 2952-961.
32. An appraisal of the criteria of cerebral death: a summary statement: a collaborative study. *JAMA* 1976; 237: 982-6.
33. Walker AE, et al. The neuropathological findings in irreversible coma: a critique of the "respirator brain". *J Neuropathol Exper Neurol* 1975; 34: 295-323.
34. Adams RD, Jéquier M. The brain death syndrome: hypoxemic panencephalopathy. *Schweiz Med Wochenschr* 1969; 99: 65-73.
35. Riishede J, Ethelberg S. Angiographic changes in sudden and severe herniation of brain stem through tentorial incisure: report of five cases. *Arch Neurol Psychiat* 1953; 70: 399-409.
36. Bradac GB, Simon RS. Angiography in brain death. *Neuroradiology* 1974; 7: 25. In: American EEG Society. Guideline three: minimum technical standards for EEG recording in suspected cerebral death. *J Clin Neurophysiol* 1994; 11: 10-3.
37. Auer RN, et al. The temporal evolution of hypoglycemic brain damage. I. Light and electron microscopic findings in the rat cerebral cortex. *Acta Neuropathol (Berl)* 1985; 67: 13-24.
38. Olney JW. Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus *J Neuropath Exper Neurol* 1971; 30: 75-90.
39. Nakanishi S. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science* 1992; 258: 597-603.
40. Graeber MB, et al. Cellular pathology of the central nervous system. In: Graham DI, Lantos PL (Eds.). *Greenfield's Neuropathology*, 7th Ed. Chapt. 3. London: Arnold; p. 123-91.
41. Lodish H, et al. Cell birth, lineage, and death. In: Lodish H, et al. *Molecular Cell Biology*. 5th Ed. Chapt. 22. New York: Freeman; 2004, p. 899-934.
42. Pollard TD, Earnshaw WC. Programmed cell death. In: Pollard TD, Earnshaw WC. *Cell Biology*. Chapt 49. Philadelphia: Saunders; 2002, p. 767-82.



43. Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: alive and well in the new millennium. *Trends Cell Biol* 2001; 11: 526-34.
44. Wyllie AH, et al. The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251-5.
45. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 355-65.
46. Antonsson B, Martinou JC. The Bcl-2 protein family. *Exp Cell Res* 2000; 256: 50-7.
47. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell* 1999; 96: 245-54.
48. Cheng EH, et al. BCL-2, BCLX(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- BAK- mediated mitochondrial apoptosis. *Mol Cell* 2001; 8: 705-11.
49. Earnshaw WC, et al. Mammalian caspases: Structure, activation, substrates and functions during apoptosis. *Ann Rev Biochem* 1999; 68: 383-424.
50. Penninger JM, Kroemer G. Mitochondria, AIF and caspases – rivaling for cell death execution. *Nature Cell Biol* 2003; 5: 97-9.
51. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th Ed. Philadelphia: Saunders; 1999, p. 1-29 (*Cellular pathology I: Cell injury and cell death*).
52. Perry GW, et al. The role of transcranial Doppler in confirming brain death: sensitivity, specificity and suggestions for performance and interpretation. *Neurology* 1990; 40: 300-3.
53. Bonetti MG, et al. 99m Tc Hm-PAO brain perfusion SPECT in brain death. *Neuroradiology* 1995; 37: 365-9.
54. Walker AE, Mollinari GF. Criteria of cerebral death. *Trans Amer Neurol Assoc* 1975; 100: 29-35.