

Efectos electrofisiológicos e histopatológicos de dosis bajas de radiación ionizante en la médula espinal de ratas

Electrophysiological and histological effects of low doses of ionizing radiation in the rat spinal cord

Serrano-Money Felipe Eduardo,* López-Alburquerque José Tomás,** Yajeya-Pérez Javier,*** Mangas-Martín Arturo****

* Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, Ciudad de México, Distrito Federal.

** Facultad de Medicina e Instituto de Neurociencias de Castilla y León, Universidad de Salamanca y Hospital Universitario de Salamanca, España.

*** Facultad de Medicina e Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Universidad de Salamanca, España.

**** Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Universidad de Salamanca, España.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La mielopatía post-irradiación es una consecuencia grave de la radioterapia.

OBJETIVO: Caracterizar los efectos de bajas dosis de radiación sobre la conducción nerviosa y evaluar las alteraciones histopatológicas en la región lumbosacra de la médula espinal de ratas de cuatro meses de edad.

MÉTODOS: Se irradió la región lumbosacra de 19 ratas Wistar de cuatro meses de edad con una dosis única de 22 Gy. Las posibles lesiones fueron evaluadas tras la irradiación por métodos neurofisiológicos y a los 12 meses por métodos neurofisiológicos e histopatológicos.

RESULTADOS: No se detectaron signos denervativos ni alteraciones en la conducción nerviosa periférica y/o central. Los estudios histopatológicos no detectaron pérdida de neuronas en astas anteriores ni desmielinización en las vías largas de la médula. El posible daño producido post-irradiación se puede monitorizar mediante técnicas neurofisiológicas atraumáticas como los potenciales evocados somatosensoriales.

CONCLUSIONES: Las dosis bajas de irradiación no son lesivas para la médula espinal ni para las raíces dorso-lumbares.

Palabras clave: España, médula espinal, México, mielopatía post-irradiación, potenciales evocados somatosensoriales, ratas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Post-irradiation myelopathy is a serious consequence of radiotherapy.

OBJECTIVE: To characterize the effects of low radiation doses on nerve conduction and assess the histopathological alterations in the lumbosacral region of the spinal cord of rats 4 months old.

METHODS: Nineteen Wistar rats were irradiated with a single dose of 22 Gy. After irradiation the possible lesions were assessed by neurophysiological methods and at twelve months by neurophysiological and histological procedures.

RESULTS: No denervation signs or peripheral and/or central nerve conduction abnormalities were observed. Histopathological studies detected no loss of neurons in anterior horns or long tract demyelination in the spinal cord. The possible post-irradiation damage can be monitored by atraumatic neurophysiological techniques such as somatosensory evoked potentials.

CONCLUSIONS: Low radiation doses are not harmful for the spinal cord or dorsolumbar roots.

Key words: Mexico, post-irradiation myelopathy, rats, somatosensory evoked potentials, Spain, spinal cord.

Correspondencia: Felipe Eduardo Serrano Money.
Vasco de Quiroga #15, Col. Sección XVI. Deleg. Tlalpan, C.P. 14000, México, D.F.
Correo electrónico: felipe.serranom@quetzal.innsz.mx fesemo21@yahoo.com.mx

Artículo recibido: Febrero 20, 2013.

Artículo aceptado: Abril 02, 2013.

INTRODUCCIÓN

La mielopatía post-irradiación (MR), consecuencia de radioterapia, puede comprometer gravemente la salud y calidad de vida de los pacientes. Los procesos celulares de las alteraciones no están claros y la MR puede ocurrir tardíamente. Secciones de la médula espinal están en los campos de radioterapia para tratamiento de procesos malignos en cuello, tórax, abdomen, pelvis y seminoma.¹⁻⁸ La latencia está entre 10 y 24 meses; la incidencia entre 0.8 y 10%.^{9,10} Se han descrito más de 500 casos.^{4,5} Hoy se presentan datos semejantes.⁶ Para el diagnóstico se consideran los síntomas clínicos,²⁻⁹ los estudios histopatológicos,^{1,11} y los estudios electrofisiológicos y de biología molecular.¹²⁻¹⁵

La dosis total determina la gravedad de las lesiones y la latencia.¹⁶⁻¹⁹ El tipo y el daño dependen del nivel de la médula espinal donde fue irradiada.^{16,20-22} La edad es un factor determinante: entre más joven, más susceptible.²³ El otro es el tamaño del campo de irradiación.²⁴ Con dosis únicas hasta de 28 Gy, puede haber recuperación.^{25,26}

La electrofisiología muestra más lenta la velocidad de conducción somatosensorial espinal que la normal según la dosis de radiación recibida, el nivel de la médula espinal y tipo de tumor. Las amplitudes distales y los potenciales sensoriales son normales. La latencia de la onda F se prolonga.^{12-14,27-29} Los individuos expuestos a altas dosis mostraron potenciales evocados somatosensoriales alterados.

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron 19 ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente cuatro meses de edad y de 230-250 g de peso. Todos los animales de experimentación se mantuvieron en condiciones normales de animalario convencional con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y proporcionándoles comida y agua ad libitum y con tratamiento de acuerdo con las normas establecidas para animales de laboratorio por la legislación española y europea. Se les evaluó su condición motora y su peso con una periodicidad de aproximadamente un mes. Se utilizaron cinco ratas de edad y peso similares como controles. A cada animal se le realizó, bajo anestesia, un estudio electrofisiológico inicial y a los 12 meses, que consistió en lo siguiente:

- 1) Electromiografía de los músculos en gemelos de ambas extremidades posteriores.
- 2) Conducción motora del nervio ciático y
- 3) Potenciales evocados somatosensoriales.

Se utilizaron cinco ratas de similar edad y peso como controles y 14 ratas fueron irradiadas.

Electrofisiología

- **Electromiografía.** Para el estudio electromiográfico se utilizaron electrodos coaxiales de aguja. Se insertaron en al menos tres puntos de los músculos gemelos de ambas extremidades posteriores. Se evaluó fundamentalmente la presencia de actividad espontánea: fibrilaciones, ondas

positivas, fasciculaciones, mioquimias o descargas repetitivas complejas. El registro se realizó utilizando una sensibilidad del electromiógrafo de 50 μ V/división, un tiempo de estudio de 100 ms y una banda de frecuencias entre 20 y 10000 Hz.

A. Conducción nerviosa motora: El estudio de conducción motora se realizó en el nervio ciático izquierdo de cada animal. Se estimuló el nervio a su salida de la pelvis en la raíz del miembro inferior con un electrodo monopolar de aguja situando el electrodo referencial 2 cm lateral (*Figura 1*).

La respuesta motora se recogió en gemelos con electrodo coaxial de aguja en músculos plantares (potencial de acción compuesto motor) mediante electrodos superficiales circulares de Ag/AgCl. El electrodo activo se colocó en la planta del pie y el referencial en el dorso. Se aplicó un gel conductor entre la piel y el electrodo y se fijaron con cinta adhesiva. La intensidad del estímulo se fue aumentando hasta la obtención de la respuesta de máxima amplitud. Las latencias de las respuestas se midieron desde el punto de estímulo a inicio del despegue del potencial desde la línea de base. La amplitud se midió de la línea de base-pico y pico-pico. También se evaluó la latencia de la respuesta F en los músculos plantares.

B. Potenciales evocados somatosensoriales (PES): Se realizaron estimulando de forma individualizada y secuencial el nervio plantar interno de ambas extremidades posteriores con un electrodo monopolar de aguja en la región medial de la planta del pie colocando el electrodo referencial en el dorso del mismo (*Figura 2*).



Figura 1. Técnica de registro de la conducción motora del nervio ciático. Los dos electrodos superiores son los estimuladores (activo el rojo y referencial el negro). El tercer electrodo (coaxial de aguja) está insertado en el músculo gemelo.

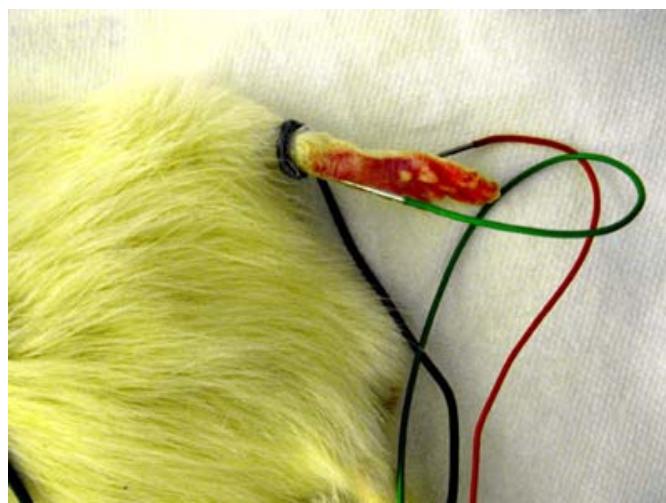


Figura 2. Técnica de estimulación nerviosa para medir los potenciales evocados somatosensoriales. El electrodo estimulador monopolar de aguja (verde) está insertado en la planta del pie sobre el nervio plantar interno y el electrodo referencial (rojo), en el dorso del pie. El tercer electrodo (negro) es la conexión a tierra.



Figura 3. Colocación de los electrodos cefálicos para el registro de los potenciales evocados somatosensoriales. El electrodo activo (verde) y referencial (rojo) se colocaron mediante pasta conductora sobre una superficie previamente rasurada y escarificada mediante un producto abrasivo y finalmente limpiada con alcohol.

La respuesta se recogió en córtex utilizando electrodos superficiales circulares de EEG. El electrodo activo se colocó en la línea interauricular y el referencial en el extremo de la nariz (*Figura 3*). Previamente se rasuró la cabeza y se limpió con una sustancia abrasiva y alcohol para reducir la impedancia de los electrodos ($<10 \Omega$), que se fijaron mediante pasta conductora. Se aplicaron 500 estímulos a una frecuencia de 5 Hz con una intensidad suficiente para producir una leve

contracción de los dedos del pie. El tiempo de estudio se estableció en 20 ms, la sensibilidad en $20 \mu\text{V}/\text{división}$ y la banda de frecuencia se acotó entre 20 y 1000 Hz. Todos los estudios se realizaron dos veces para confirmar la persistencia de los registros y los trazados resultantes de la promediación digital y se guardaron para su posterior análisis. Se estudió la morfología, latencia y amplitud de los potenciales precoces P1, N1 y P2.

Irradiación de los animales de experimentación

Se utilizaron fotones de un acelerador lineal de electrones modelo Primus de la compañía Siemens. Los fotones tienen una energía nominal de 6 MeV. Se empleó un haz de irradiación de 20×10 milímetros, calibrado para administrar una dosis de 22 Gy a 15 mm de profundidad en una sola sesión, estando la superficie del volumen a irradiar a 100 cm de distancia del foco del acelerador.

Como la médula está aproximadamente a 8 mm de profundidad y la dosis se deposita a 15 mm, se colocó sobre cada animal, 6 mm de sustancia equivalente a tejido. De esta forma, los 22 Gy se depositaron a 9 mm de profundidad en el animal. El área se ubicó a aproximadamente a 3.0 cm de distancia de la base de la cola y fue de 1.5 cm de largo por 1.0 cm de ancho (*Figura 4*). El tiempo de irradiación para cada animal fue de 14.15 minutos, es decir, 14 minutos y 9 segundos, con lo que la tasa de dosis fue de 1.55 Gy/min.

Histología

Todos los animales fueron anestesiados profundamente con Equitesina (2.4 mg/kg/vía intraperitoneal), heparinizados y perfundidos a través de la aorta con 50 mL de solución salina (9 g/l de NaCl) y, posteriormente, con 500 mL de paraformaldehído al 4% en tampón PBS (pH 7.2) (solución fijadora). Se extrajeron encéfalo y médula espinal de cada uno de los animales. Las técnicas histológicas se llevaron a cabo de acuerdo con lo descrito previamente en la literatura.³¹⁻³³ En este trabajo se utilizaron las técnicas inmunocitoquímicas para visualización de CGRP, sustancia P, L-glutamato y acetilcolina. Asimismo, se aplicaron técnicas con marcadores panleucocíticos (anti-CD45) que muestran las infiltraciones en la médula espinal a nivel torácico, lumbar y sacro.

Para la cartografía de las secciones tratadas se utilizó el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson.³⁴ Las microfotografías presentadas en este trabajo fueron obtenidas con una cámara digital Olympus DP50 acoplada a un microscopio Kyowa Unilux 12. Para una mejor visualización de los resultados se ajustó únicamente el brillo y contraste de las capturas. No se realizó ninguna otra manipulación de las imágenes. La confección de las figuras con microfotografías y los ajustes de brillo y contraste fueron realizados con Adobe Photoshop Elements 2.0.

Análisis estadístico

Se analizaron los datos estadísticamente de acuerdo con los procedimientos estipulados por las propias características de los datos y en función de lo que se pretendía estudiar, con

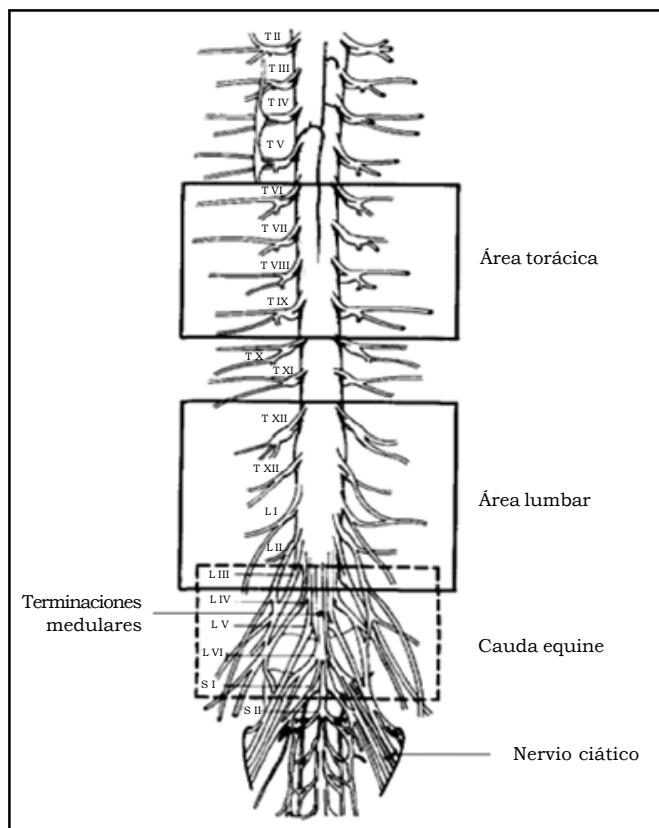


Figura 4. Diagrama de la médula espinal de la rata y raíces, mostrando las áreas diana de irradiación: torácica, lumbar y cauda equina. En este trabajo el área irradiada abarcó la parte baja lumbar, la sacra y un pequeño fragmento caudal. Adaptado de Greene (1968).³⁰

el programa SPSS® v.15.0 para Windows. Se determinó si había o no homogeneidad de varianzas. En el caso en el que sí se presentó, se utilizó la prueba de *t* de Student para muestras dependientes. En el caso en que no fue así, se utilizó la prueba de Wilcoxon.³⁵

RESULTADOS

Electrofisiología

El estudio electromiográfico de los músculos gemelos de ambas extremidades inferiores de los animales no mostró ninguna actividad espontánea en reposo sugestiva de denervación aguda (fibrilaciones u ondas positivas), tanto en el estudio basal como en el estudio post-irradiación. Igualmente, al estimular el nervio ciático, se obtuvieron potenciales de acción motores en los músculos gemelos y en los plantares, antes y después de la irradiación. Se registró sistemáticamente la onda F en los músculos plantares (*Figura 5*). Las latencias medias ni la amplitud registradas en el músculo gemelo pre y post-irradiación mostraron diferencias significativas. La duración del potencial fue significativamente mayor en el estudio post-irradiación. No se observó una diferencia significativa entre los valores de las

latencias pre y post-irradiación de la duración del potencial compuesto motor ni en la amplitud obtenidos en los músculos plantares. Contrariamente, se observó una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre las latencias pre y post-irradiación de la onda F. Estas últimas fueron mayores (*Tablas 1 y 2*).

- **Potenciales evocados somatosensoriales (PES).** En todas las ratas estudiadas, tanto controles como irradiadas, se obtuvieron los PES y se pudo identificar el primer potencial positivo que se considera como la llegada del estímulo al córtex somatosensorial (*Figura 6*). La comparación de los valores obtenidos de latencia del primer potencial positivo del grupo de ratas irradiadas no mostró diferencias estadísticamente significativas con los obtenidos de las ratas control (*Tabla 3*).

Características anatómicas

El estudio comparativo de las médulas mediante las técnicas inmunocitoquímicas para la visualización de CGRP, sustancia P, L-glutamato y acetilcolina, así como marcadores pan-leucocíticos que muestran las infiltraciones en la médula a nivel torácico, lumbar y sacro al cabo de un año de haber irradiado los animales, no mostró ningún marcador que evidenciara diferencias entre los animales controles y los animales radiados. Se aprecia una ligera dilatación de los vasos en el grupo de animales irradiados (*Figura 7*).

DISCUSIÓN

Se puede evaluar mediante una técnica neurofisiológica atraumática (PES) con registro cerebral extracraneal, la vía somestésica medular, procedimiento no aplicado previamente en la investigación de la mielopatía post-irradiación en roedores.

La dosis aplicada a los animales de experimentación en este trabajo se determinó para minimizar la mortalidad y analizar los cambios en la médula espinal con dosis bajas de radiación suficientes para producir una mielopatía o radiculopatía. Hay pocos cambios incluso con dosis de 40 Gy.³⁶

Tras irradiación de la médula debajo de las vértebras L1/L2, la característica patológica principal es necrosis de las raíces nerviosas, a diferencia de las regiones cervicales y torácicas.²¹ La dosis de radiación fue aplicada correctamente a la médula de las ratas estudiadas; en la disección se apreció que ésta estaba a la distancia estimada.

Ratas irradiadas en la zona cérvico-torácica en segmentos de 1.0 hasta 6.0 cm no mostraron diferencias significativas en las dosis de tolerancia (ED_{50} 21-22 Gy).³⁶ La aparición de parálisis oscila entre 83 y 211 días tras una dosis única de 35 Gy. En algunas ratas no se apreciaron evidencias de daño medular en zonas irradiadas pero sí en raíces posteriores. Los investigadores señalaron que la radiculopatía y no la mielopatía era la responsable de los signos clínicos.²⁰ En dosis límitrofes, los roedores presentan largos períodos de latencia.¹⁸

El estudio electromiográfico en este trabajo no detectó actividad espontánea como fibrilaciones, ondas positivas,

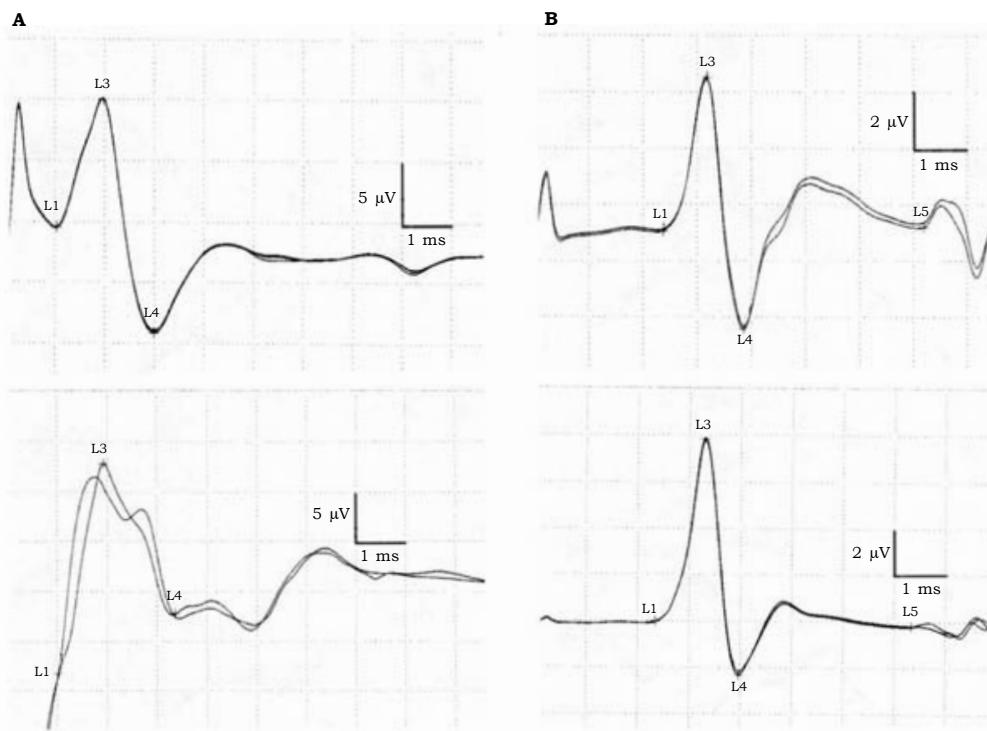


Figura 5. **A)** Potencial de acción motor obtenido en gemelo tras la estimulación del nervio ciático en una de las ratas, antes (arriba) y después (abajo) de la irradiación. No se observan diferencias significativas en la latencia, duración y amplitud de los potenciales. **B)** Potencial de acción compuesto motor de los músculos plantares tras la estimulación del nervio ciático, antes (arriba) y después (abajo) de la irradiación. Latencia, amplitud y duración son similares en ambos registros. A la derecha del registro (L5) aparece la onda F.

Tabla 1. Valores obtenidos de latencia, duración y amplitud del potencial evocado motor obtenido en el músculo gemelo de las ratas pre (**A**) y post-irradiación (**B**). Se muestran las latencias de la onda F.

Latencia (ms)	Duración (ms)		Amplitud (μV)		Onda F (ms)				
	A	B	A	B	A	B			
1.1 ± 0.20	1.22 ± 0.54	1.83 ± 0.67	2.38 ± 0.44*	11.03 ± 8.29	16.23 ± 9.74	19.97 ± 10.54	17.79 ± 6.75	6.01 ± 0.81	7.21 ± 2.80

Todos los valores se expresan en medias y desviaciones estándar. El asterisco (*) señala las diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 2. Valores obtenidos de latencia, duración y amplitud del potencial evocado motor obtenido en músculos plantares de las ratas pre (**A**) y post-irradiación (**B**). Se muestran las latencias de la onda F.

Latencia (ms)	Duración (ms)		Amplitud (μV)		Onda F (ms)				
	A	B	A	B	A	B			
2.32 ± 0.20	2.18 ± 0.44	1.98 ± 0.71	1.80 ± 0.78	4.18 ± 1.92	3.53 ± 2.02	6.05 ± 1.95	6.05 ± 3.56	7.66 ± 0.37	6.93 ± 0.54*

Todos los valores se expresan en medias y desviaciones estándar. El asterisco (*) señala las diferencias significativas ($p < 0.05$).

descargas repetitivas complejas o fasciculaciones, que aparecen en las lesiones de las motoneuronas del asta anterior y/o las raíces anteriores. Probablemente ocurrió una reinervación posterior. Los procesos electromiográficos reinervativos crónicos no pueden estudiarse en ratas u otros animales anestesiados pues para evaluar la morfología, amplitud y duración de los potenciales de unidad motora, se requiere de colaboración del sujeto. Las alteraciones neurógenas encontradas en humanos fueron fibrilaciones, ondas positivas,

fasciculaciones, mioquimias, descargas repetitivas complejas y potenciales de unidad motora aumentados en amplitud y duración, resultado de un proceso de denervación/reinervación crónica. La conducción motora y sensorial era normal.⁷ Se observó un alargamiento de la latencia de la onda F, probable alteración de la conducción en los segmentos proximales nerviosos de las raíces anteriores.¹⁴ No se encontraron estudios electrofisiológicos en ratas sometidas a radiación de la médula espinal.

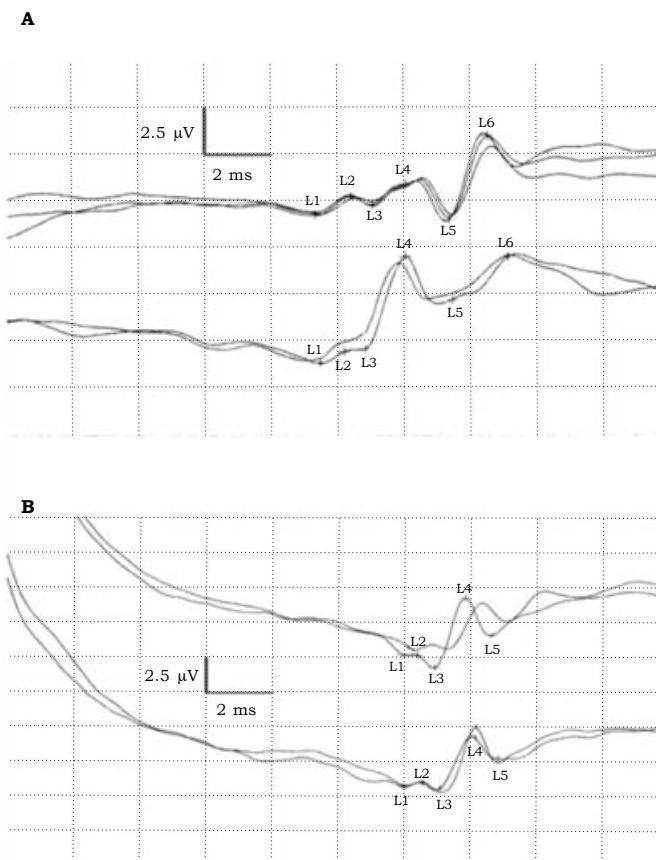


Figura 6. **A)** Potencial evocado somatosensorial en una rata post-irradiación. El registro superior corresponde a la estimulación del nervio plantar interno de la pata derecha y el inferior a la pata izquierda. **B)** Similar registro en una rata control, cuya morfología típica está constituida por dos componentes positivos iniciales de baja amplitud (L1 y L3) seguido de un tercer componente negativo (L4) de mayor amplitud. (ms: milisegundos; μ V: microvoltios).

Tabla 3. Valores obtenidos de latencia y amplitud de los PES en las ratas controles (**A**) e irradiadas (**B**).

Latencia (P1) (ms)		Amplitud (P1-N1) (μ V)	
A	B	A	B
10.66 \pm 0.95	11.22 \pm 0.70	0.18 \pm 0.11	0.41 \pm 0.39

Todos los valores se expresan en medias y desviaciones estándar.

En humanos se ha observado un leve descenso de la velocidad de conducción por la pérdida de los axones de mayor diámetro y un retraso de la latencia de la onda F.¹³ La latencia de la onda F en los músculos plantares de las ratas del estudio, fue menor después de la radiación, lo que es difícil de explicar, pues la onda F se obtiene mediante un estímulo antidiátróxico de la motoneurona y explora los segmentos proximales del nervio, incluidas las raíces anteriores; de estar desmielinizadas, se esperaría un aumento de la latencia. No se encontraron

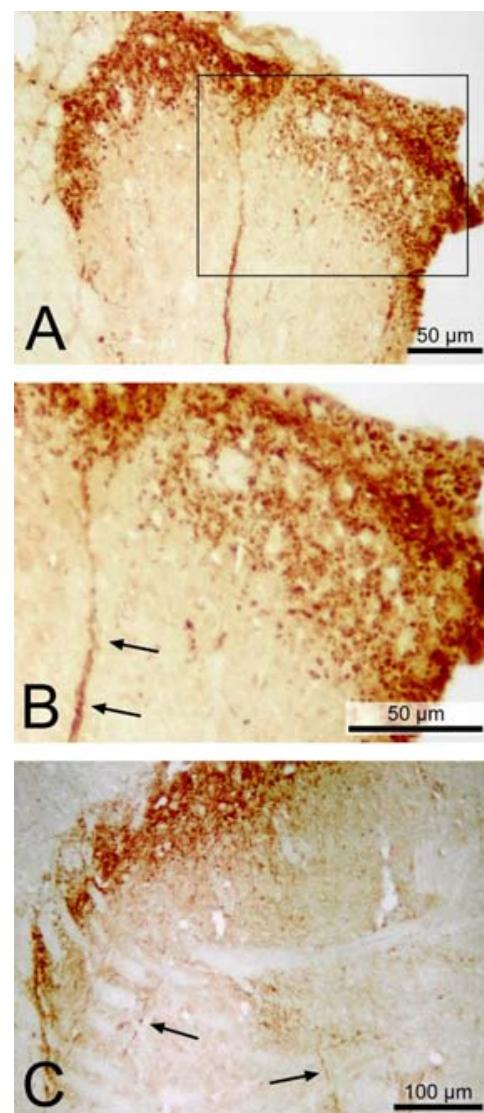


Figura 7. Imágenes representativas de la inmunorreactividad observada en animales no radiados (**A** y **B**) y radiados (**C**). La estructura general de la médula espinal a nivel lumbar se mantiene en ambos animales. Capturas realizadas tras la aplicación de una técnica inmunoquímica para la visualización de CGRP. **A:** CGRP en el asta dorsal. **B:** aumento de la región delimitada por un recuadro en **A**. **C:** inmunorreactividad encontrada con CGRP en animales radiados. La distribución es similar; las flechas en **B** y **C** indican fibras inmunorreactivas.

referencias que evalúen la latencia de la onda F en ratas sometidas a radiación.

En todas las ratas estudiadas pudieron registrarse PES con la técnica de electrodos superficiales. No se observaron diferencias significativas entre el grupo control y post-irradiación. La morfología de los PES obtenida con esta técnica es similar a la referida con electrodos intracraneales (epidurales) estimulando el nervio ciático.³⁷ Se obtuvieron registros parecidos en las diferentes especies: ratas, gatos,

monos, humanos, sugiriendo la existencia de los mismos generadores de los PES.³⁸ Hurlbert, *et al.*³⁹ obtuvieron un primer potencial positivo de baja amplitud denominado P9, en 18 ratas (latencia media de 9.1 ± 0.7 ms [rango 7.1-10.8 ms]), correspondiente al potencial P1 del grupo control del presente estudio. El retraso es porque el estímulo se aplicó distalmente en los nervios plantares, a diferencia de en el nervio ciático del estudio de Hurlbert, *et al.* Los potenciales de corta latencia dependen de las propiedades físicas y temporales del estímulo, los componentes de larga latencia, con mayor amplitud y distribución bilateral tienen un substrato anatómico incierto y se afectan por el estado psicofísico del sujeto, es decir, por la anestesia. Existe gran variabilidad de los componentes de los PES con latencias superiores a 30 ms.^{12,13} El tiempo de análisis de los PES en este estudio se acotó en los primeros 20 ms. Los potenciales precoces, conducidos por las fibras de grueso calibre del nervio y cordones posteriores de la médula, no se afectan por la anestesia. La alteración de la amplitud o la ausencia de un componente puede significar indistintamente una alteración o bloqueo de la conducción o bien, una pérdida axonal o neuronal de la estructura generadora del potencial;¹³ los potenciales tardíos están más influidos por la intensidad del estímulo. En este trabajo se aplicó una intensidad estimada con referencia a la movilidad de los dedos de la pata, por la incertidumbre sobre la cercanía del electrodo estimulador del nervio plantar. Si se aplicara la misma intensidad del estímulo, la intensidad real sería menor en los casos en los que el electrodo se encontrara más alejado del nervio. No hay referencias sobre PES en ratas irradiadas.

La conducción espinal y la onda F de los PES en adultos que recibieron radioterapia en la médula torácica mostraron retraso; existe correlación entre la dosis recibida y la alteración de los PES.²⁶ En este estudio hubo un discreto aumento de la latencia del primer componente positivo (P1) de los PES en las ratas irradiadas frente a los controles; estudiando un mayor número de ratas y utilizando una dosis mayor, podrían presentarse diferencias significativas. Éstas son las limitaciones más importantes del trabajo a considerar en estudios próximos.

Probablemente las ratas sufrieron una lesión transitoria con recuperación posterior sin repercusión en la vía somestésica, como se observa con dosis únicas bajas de radiación en ratones,²⁵ aunque se han detectado cambios con dosis de 5-10 Gy.⁴⁰ Bijl, *et al.*²² observaron una migración crítica de 2-3 mm de células del tejido no-irradiado al irradiado en procesos regenerativos, evitando la necrosis de la sustancia blanca³⁷ e impidiendo apreciar las manifestaciones clínicas. No haber encontrado evidencias anatopatológicas pudiera deberse a este mismo hecho.³⁸

CONCLUSIONES

En el modelo experimental propuesto de MR de ratas de cuatro meses sometidas a dosis únicas bajas de radiación en la región lumbosacra de la médula espinal, no se observaron alteraciones neurofisiológicas ni histopatológicas detectables en nervios periféricos de las extremidades posteriores a 12

meses tras la irradiación. Se corroboró la utilidad de determinación de los PES para evaluar las condiciones de la médula espinal de ratas irradiadas.

AGRADECIMIENTOS

Una especial mención y reconocimiento para el Dr. Enrique de Sena del Hospital Universitario de Salamanca por su valiosa colaboración en la etapa de irradiación de los animales de experimentación y todo lo referente al aspecto radiológico.

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

No existen potenciales conflictos de interés para ninguno de los autores, en este tema particular.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

El financiamiento fue proporcionado por el Instituto de Neurociencias de Castilla y León de la Universidad de Salamanca. No existen potenciales conflictos de intereses qué declarar.

REFERENCIAS

1. Okada S, Okeda R. Pathology of radiation myelopathy. *Neuropathology* 2001; 21: 247-65.
2. Schultheiss TE, Stephens LC. Invited review: Permanent radiation myelopathy. *Br J Radiol* 1992; 65: 737-53.
3. Grünewald RA, Chroni E, Panayotopoulos CP. Late onset radiation induced motor neuron syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 741-2.
4. van der Sluis RW, Wolfe GI, Nations SP, Bryan WW, Krampitz DE, Kissel JT, Barohn RJ. Post-radiation lower motor neuron syndrome. *J Clin Neuromusc Dis* 2000; 2: 10-17.
5. Bauduceau O, Souleau B, Le-Moulec S, Houlgate A, Bernard O. Radiotérapie des séminomes testiculaires de stade I étude rétrospective et revue de la littérature. *Cancer/Radiothérapie* 2003; 7: 386-94.
6. Brydø M, Storsteinc A, Dahlb O. Transient neurological adverse effects following low dose radiation therapy for early stage testicular seminoma. *Radiotherapy and Oncology* 2007; 82: 137-44.
7. Mathis S, Dumas P, Neau JP, Gil R. La neuropathie motrice pure, une complication rare de la radiothérapie: trois observations et une revue de la littérature. *Rev Méd Interne* 2007; 28: 377-87.
8. Knap M, Bentzen S, Overgaard J. Late neurological complications after irradiation of malignant tumors of the testis. *Acta Oncologica* 2007; 46: 497-503.
9. Schultheiss TE, Higgins EM, El-Mahidi AM. The latent period in clinical radiation myelopathy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984; 10: 1109-15.
10. Palmer J. Radiation myelopathy. *Brain* 1972; 95: 109-22.

11. Ruifrok AC, Stephens LC, van der Kogel AJ. Radiation response of the rat cervical spinal cord after irradiation at different ages: Tolerance, latency and pathology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29: 73-9.
12. Dorfman L, Donaldson S, Gupta P, Bosley T. Electrophysiological evidence of subclinical injury to the posterior columns of the human spinal cord after therapeutic radiation. *Cancer* 1982; 50: 2815-19.
13. Snooks SJ, Swash M. Motor conduction velocity in the human spinal cord: slowed conduction in multiple sclerosis and radiation myelopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1985; 48: 1135-9.
14. de Scisciolo G, Bartelli M, Magrini S, Biti GP, Guidi L, Pinto F. Long-term nervous system damage from radiation of the spinal cord: an electrophysiological study. *J Neurol* 1990; 238: 9-15.
15. Atkinson S, Li, Yu-Qing, Wong S. Changes in oligodendrocytes and myelin gene expression after radiation in the rodent spinal cord. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2003; 57: 1093-1100.
16. van Luijk P, Bijl HP, †Konings AWT, van der Kogel AJ, Schippers JM. Data on dose-volume effects in the rat spinal cord do not support existing NTCP models. *Int J Radiation Oncology, Biol Phys* 2005; 61: 892-900.
17. Kirpatrick JP, van der Kogel AJ, Schultheiss TE. Radiation dose-volume effects in the spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76: Supplement S42-S49.
18. Geraci JP, Mariano MS. Relationship between dose and the latent period for radiation myelopathy in rats. *Radiat Res* 1994; 140: 340-46.
19. Phillipens M, Pop LAM, Visser, AMW, Schellekens S, van der Kogel AJ. Dose-volume effects in rat thoracolumbar spinal cord: an evaluation of NTCP models. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 578-90.
20. Bradley WG, Fewings JD, Cumming WJK, Harrison RM, Faulds AJ. Delayed myeloradiculopathy produced by spinal X-radiation in the rat. *J Neurol Sci* 1977; 31: 63-82.
21. Phillipens MEP, Pop LAM, Visser AG, van der Kogel AJ. Dose-volume effects in rat thoracolumbar spinal cord: The effects on non-uniform dose distribution. *Int J Radiation Oncol Biol Phys* 2007; 1: 204-13.
22. Bijl HP, van Luijk P, Coppes R, Schippers J, Konings A, van der Kogel AJ. Regional differences in radiosensitivity across the rat cervical spinal cord. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2005; 61: 543-51.
23. Yu-Qing Li, Shun Wong C. Radiation-induced apoptosis in the neonatal and adult rat spinal cord. *Radiation Research* 2000; 154: 268-76.
24. Hopewell W, Morris AD, Dixon-Brown A. The influence of field size on the late tolerance of the rat spinal cord to single doses of X rays. *Brit J Radiol* 1987; 60: 1099-108.
25. Schultheiss TE, Stephens LC, Kian-Ang K, Price RE, Peters LJ. Volume effect in rhesus monkey spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29: 67-72.
26. Lo YC, McBride W, Withers HR. The effect of single doses of radiation on mouse spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22: 57-63.
27. Lecky BRF, Murray NMF, Berry RJ. Transient radiation myelopathy: spinal somatosensory evoked responses following incidental cord exposure during radiotherapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1980; 43: 747-50.
28. López-Alburquerque T. Potenciales evocados somatosensoriales. En: Gutiérrez-Rivas E, Jiménez MD, Pardo J, Romero M (eds.). *Manual de electromiografía clínica*. 2a. Ed. Ergon Ed; 2008, p. 179-89.
29. Fehlings M, Tator C, Linden D, Piper I. Motor and somatosensory evoked potentials recorded from the rat. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1988; 69: 65-78.
30. Greene EC. Anatomy of the rat. New York, N.Y: Hafner eds.; 1968.
31. Mangas A, Coveñas R, Bodet D, Geffard M, Aguilar A, Yajeya J. Immunocytochemical visualization of D-Glutamate in the rat brain. *Neuroscience* 2007; 144: 654-64.
32. Mangas A, Coveñas R, Bodet D, Duleu S, Marcos P, Geffard M. Vitamins in the monkey brain: an immunocytochemical study. *J Chem Neuroanat* 2009; 38: 1-8.
33. Coveñas R, Mangas A, Bodet D, Duleu S, Marcos P, Geffard M. Vitamin C in the monkey brain. En: CM Jackson eds. *Vitamin C: Nutrition, Side Effects and Supplements*. Hauppauge, NY: Nova Publishers 2011.
34. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney, Australia: Academic Press, 1982.
35. Castilla-Serna L, Cravio-Muñoz J. *Estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud*. 1a. Ed. México, D.F.: Ed. Trillas; 1991.
36. van der Kogel AJ. The nervous system: Radiobiology and experimental pathology. In: Scherer E, Strefler Ch, Trott KR (eds.). *Medical Radiology. Radiopathology of Organs and Tissues*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 1991, p. 191-212.
37. Fehlings M, Tator C, Linden D, Piper I. Motor and somatosensory evoked potentials recorded from the rat. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1988; 69: 65-78.
38. Oguzhanoglu A, Kurt T. Findings of somatosensory evoked potentials to stimulation of the ciatic nerve in two different rat strains. *Exp Anim* 2001; 50: 361-4.
39. Hurlbert J, Koyanagi I, Tator C. Sensory evoked potentials for selective monitoring of the rat spinal cord: a cerebellar evoked potential to assess ventral cord integrity. *J Neurotrauma* 1993; 10: 181-200.
40. Mastaglia FL, McDonald WI, Watson JV, Yogendran K. Effect of X-radiation on the spinal cord: An experimental study of the morphological changes in central nerve fibers. *Brain* 1976; 99: 101-22.