

Protección cerebral en el traumatismo craneoencefálico

Dr. Mario Suárez-Morales*

* Centro Médico ABC. México, D.F.

En los Estados Unidos cada año más de 1 millón de pacientes reciben evaluación y tratamiento por traumatismo craneoencefálico (TCE), de los cuales 70% son leves, 20% moderados y 5 a 10% fatales, arrojando un promedio de 153,288 muertes anualmente o 19.3 por 100,000 hab. Un estudio realizado en Dinamarca de 15 años de duración mostró que la mortalidad en niños después de TCE fue de 22%. Se calcula que hay 5.5 millones de pacientes sobrevivientes de TCE en los Estados Unidos con diversos grados de incapacidades físicas y que el costo total de gastos directos e indirectos por TCE es de 46 a 53 billones de dólares anuales.

Por lo anterior, el TCE se considera un problema de salud pública muy importante, al igual que desde el punto de vista social y económico por el gasto enorme que genera la atención de estos pacientes. Por lo tanto, los esfuerzos están encaminados, en primer lugar, a la prevención y posteriormente a la limitación del daño cerebral. Se han distinguido dos tipos de lesiones en TCE: La lesión primaria, causada por el trauma mismo y la secundaria, definida como el daño celular que no está evidenciado inmediatamente después del evento traumático pero que se desarrolla tardíamente y que es potencialmente tratable y prevenible. Este daño cerebral secundario puede generarse directamente como consecuencia de un número de cascadas tanto bioquímicas como inflamatorias y también indirectamente mediante la reducción del flujo sanguíneo cerebral, hipoxemia, hipertermia, hiperglicemia o estados de aumento del metabolismo cerebral. El daño celular secundario, desde el punto de vista temporal, se da en dos etapas: Inmediatamente después del trauma mecánico, las neuronas pueden morir por isquemia con disrupción de la membrana y alteraciones irreversibles metabólicas por excitotoxicidad. La segunda etapa de necrosis neuronal es responsabilidad de los mecanismos de apoptosis o muerte celular programada, la cual puede ser responsable hasta del 30% de la muerte neuronal total. Revisaremos someramente los mecanismos de cada una de ellas.

La primera etapa de daño neuronal proviene de una serie de fenómenos que tienen como principales causas la reducción del flujo sanguíneo cerebral, vasoconstricción cerebral, hipoxemia y estados de aumento del metabolismo cerebral, todo lo cual conduce a isquemia. Con la presencia de ésta, las reservas de fosfatos de alta energía se depletan en el primer minuto, las reservas de glucosa en 4 y las reservas de ATP en 5 a 7 minutos. La pérdida de reservas de energía lleva a la falla de bombas de Na, permitiendo la entrada a la célula de Na y Cl, salida de K y despolarización de la membrana. La entrada masiva de Na y K es acompañada por moléculas de agua, lo que produce edema celular. Con el aumento de la concentración de K extracelular hay apertura de los canales de Ca voltaje dependientes e incremento de la concentración de neurotransmisores excitatorios presinápticos. Este fenómeno es de gran importancia en la patogénesis del daño neuronal. Se trata principalmente de los aminoácidos dicarboxílicos glutamato y aspartato. Normalmente, el glutamato está almacenado en vesículas presinápticas y se libera cuando el axón presináptico es despolarizado mediante influjo de Ca. A continuación, el glutamato actúa sobre su receptor específico en la neurona postsináptica, incrementando su concentración en la hendidura intersináptica por un corto período de tiempo ya que inmediatamente se recaptura en las terminales nerviosas terminando su acción. Este fenómeno de recaptura se realiza con un gasto de energía. Hay tres receptores principales postsinápticos para los neurotransmisores dicarboxílicos: el N metil D aspartato (NMDA), α -amino 3 hidroxil 5 metil 4 isoxazole (AMPA) y el kainato. Los receptores NMDA están distribuidos ampliamente en todo el encéfalo, pero son más abundantes en las capas 3, 5, y 6 de la corteza cerebral, tálamo, núcleos estriados, región CA1 del hipocampo. Los receptores AMPA se localizan en las capas más profundas de la corteza cerebral, tálamo, cerebelo y en la capa piramidal del hipocampo, mientras que los receptores kainato se encuentran sólo en la región CA3 del hipocampo. Esto, como se

verá más adelante, explica la vulnerabilidad especial de estas regiones a la isquemia. El glutamato puede actuar en cualquiera de los tres receptores mientras que el aspartato sólo actúa sobre el NMDA. Los tres receptores anteriormente mencionados forman parte fundamental de los canales de cationes y ejercen el control de su apertura. El kainato y AMPA forman parte de los canales de membrana que permiten el flujo de Na, mientras que el NMDA se encuentra acoplado a los receptores permeables tanto a Na como a Ca. Este último receptor es el más estudiado y conocido de los tres. Se sabe que el acoplamiento del glutamato a su sitio específico es facilitado por glicina y puede ser bloqueado por antagonistas competitivos. Además, en la luz del canal se encuentran receptores de magnesio y el zinc como elementos de seguridad para evitar su apertura no programada. Se ha teorizado que los iones de magnesio retienen agua y mediante este aumento de volumen en la luz del canal bloquean el canal del receptor NMDA. En el estado normal de reposo de membrana, el canal se encuentra cerrado y con la acción de un neurotransmisor se induce un flujo pequeño de iones. La despolarización resultante activa levemente al receptor NMDA y desplaza al Mg que bloquea el canal para posteriormente abrir completa y brevemente el canal permitiendo el influjo de Na y Ca al interior de la célula para posteriormente mediante las bombas de membrana volver a su estado de reposo. Durante la isquemia cerebral, cuando hay una falta de energía se produce un aumento de la liberación presináptica y disminución importante de la recaptura de los neurotransmisores, resultando en una concentración extracelular anormal, la que los convierte en neurotóxicos. Los cambios patológicos producidos por el glutamato con su presencia son de dos tipos: daño inmediato y muerte neuronal retardada. El daño inmediato se caracteriza por la apertura permanente de canales de Na con entrada caótica de Na y Cl y con ello de agua, con despolarización inmediata y permanente de la membrana celular, depleción de energía que trae como consecuencia edema celular, lisis de la membrana y muerte. En cuanto a la muerte neuronal retardada, la cual se hace aparente hasta las 24 h después de la lesión, está principalmente dada por el Ca. Una vez que se ha establecido la apertura constante e irregular de los receptores NMDA por la presencia de glutamato, el influjo a la célula del Ca es incontenible concentrándose al principio en el citoplasma. Activa a las fosfolipasas A1, A2 y C, las que hidrolizan los fosfolípidos en el interior de la mitocondria y de las membranas celulares para al final romperlas. Estas enzimas no requieren de oxígeno o de energía de tal suerte que pueden funcionar durante o después de la isquemia. A su vez la hidrólisis de los fosfolípidos de la membrana libera ácidos grasos libres, los cuales tienen propiedades detergentes y a su vez destruyen porciones lipídicas de las membranas. El más activo de los ácidos

grasos libres es el ácido araquidónico que a su vez puede ser metabolizado a radicales libres, prostaglandinas y leucotrienos, los cuales pueden producir aún mayor daño en la membrana celular y por lo tanto en la distribución de iones y como punto final la muerte celular.

Paralelamente a los fenómenos anteriormente descritos se desarrolla la apoptosis o segunda etapa de necrosis neuronal.

La apoptosis o muerte celular programada ha sido identificada desde los años 60 como el proceso de eliminación celular normal que acaba con las células infectadas, malignizadas o de mayor edad. Entre sus características se encuentra la fragmentación del DNA, la condensación de la cromatina, contracción celular y la formación de cuerpos apoptóticos, los cuales son barridos mediante la acción de los fagocitos. Su presencia en el proceso patológico celular después de TCE fue descubierta hace aproximadamente 10 años.

Ésta puede darse mediante dos vías: 1. Por la activación de la familia de proteasas de cisteína o caspasas y 2. Mediante la liberación de factores apoptóticos de la pared de la mitocondria o vía caspasa - independiente.

La apoptosis dependiente de caspasas incluye la participación de 14 variedades de caspasas. Éstas son sintetizadas como proenzimas y se activan en el momento que son fragmentadas. Las caspasas iniciadoras (8, 9 y 10) son activadas inicialmente para que posteriormente promuevan la acción de las caspasas 3, 6 y 7 o ejecutoras y que son las responsables de la desintegración del citoesqueleto, fragmentación del DNA e interrupción definitiva de los procesos de reparación celular y de DNA. A su vez, la apoptosis caspasa dependiente puede ocurrir por vía extrínseca o intrínseca.

La vía extrínseca incluye la participación de receptores de superficie de membrana presentes en muchas células entre las que se incluyen las neuronas. El acoplamiento del factor tumoral de necrosis con los receptores de superficie celulares correspondientes induce que este receptor active a las caspasas 8 y 10. Posteriormente es fragmentada la caspasa 3, momento en el que el proceso es irreversible.

La vía intrínseca es iniciada por estrés en los organelos celulares los cuales incluyen la mitocondria y el retículo endoplásmico. Esta es iniciada mediante la liberación mitocondrial de citocromo C inducido por la despolarización de la membrana de la mitocondria y la formación de poros transicionales de permeabilidad mitocondrial. El citocromo C liberado al citoplasma interactúa con el factor apoptótico liberador de proteasa (Apaf -1), ATP y procaspasa 9 para formar un complejo denominado apoptosoma, el cual es capaz de activar a la caspasa 3 y hacer irreversible el proceso. Otra familia de enzimas que también contribuyen a la muerte celular después de TCE son las calpains, las cuales son proteasas calcio dependientes y tienen varios objetivos a atacar incluyendo elementos del citoesqueleto. La activación de éstas ocurre después del TCE y es sincrónico con la activación de

las caspasa 3. Se ha demostrado que los inhibidores de la calpaina reducen el daño neuronal después de TCE.

La apoptosis caspasa – independiente es capaz de inducir la apoptosis sin la participación de las caspasas y por lo tanto, no es afectada por inhibidores de las caspasas. Tiene su origen en varias proteínas mitocondriales, entre las que se encuentra el factor de inducción de apoptosis (AIF), la cual es una flavoproteína que se libera como consecuencia de la despolarización de la membrana de la mitocondria. Una vez liberado el AIF se introduce en el núcleo celular y produce una fragmentación del DNA a gran escala. Este tipo de apoptosis mediada por AIF ocurre en neuronas bajo condiciones de stress oxidativo, TCE e isquemia cerebral. Otras proteínas mitocondriales capaces de iniciar y promover la apoptosis son la endonucleasa G y SMAC/diablo.

Tanto la apoptosis caspasa – dependiente como independiente son reguladas a su vez por la presencia de la familia de las proteínas Bcl-2, (con alrededor de 25 variedades) y cuyo nombre deriva de la proteína fundadora, el protooncogén *Bcl-2* (*B-cell lymphoma 2*), segundo miembro de un grupo de proteínas inicialmente descrito en estudios de la translocación recíproca entre los cromosomas 14 y 18 observada en linfomas foliculares. Esta familia de Bcl-2 se encuentra en la mitocondria y regula la permeabilidad de la membrana exterior de la mitocondria y la formación de poros. De acuerdo a su papel en la apoptosis, unas de estas proteínas son proapoptóticas y otras antiapoptóticas. Entre las proapoptóticas se encuentran Bax, Bid, Bad que facilitan la liberación de citocromo C y endonucleasa G de la mitocondria. En contraposición con las anteriores existen miembros antiapoptóticos como Bcl2, Bcl -xl, gadd45 y Mcl-11 que inhiben la formación de poros mitocondriales. La sensibilidad de las células al estímulo apoptótico puede depender del balance de proteínas pro y antiapoptóticas Bcl2. Cuando hay una mayor cantidad de proteínas proapoptóticas en el citoplasma en donde actúan como sensores de daño celular y de estrés y una vez que se produce la lesión, éstas migran a la superficie de la mitocondria que promueven la formación de poros. En el caso de predominio de concentración de proteínas proapoptóticas se bloquea la función normal de las proteínas antiapoptóticas, lo que irremediablemente se manifiesta con la formación de poros en la mitocondria. Cuando se encuentra un balance de concentración a favor de las proteínas antiapoptóticas en la mitocondria, la formación de poros en la mitocondria será menor y tenderá a ser más resistente al proceso de muerte celular programada.

PROTECCIÓN CEREBRAL EN TCE

Varias son las vías de investigación que se han seguido buscando, la manera de proporcionar protección cerebral

después de TCE. Expondremos algunas de estas propuestas y sus diferentes grados de éxito y aplicación en el escenario clínico.

- Anestésicos. Entre las propiedades de protección cerebral atribuibles a los anestésicos se encuentran la disminución de la liberación de glutamato, son antagonistas de receptores de glutamato, a la vez que se ha probado que aumentan los niveles de proteínas antiapoptóticas como BCL2. El propofol tiene además propiedades de barredor de radicales libres de oxígeno. Estas propiedades reductoras de daño cerebral son modestas y se han hecho patentes sobre todo en condiciones de isquemia parcial y transitoria.
- Cannabinoides. El dexamabinol es un cannabinoide no psicotrópico. Entre sus cualidades neuroprotectoras se encuentran la de ser un antagonista competitivo de la receptores NMDA, barredor de radicales de oxígeno e inhibidor de la producción del factor de necrosis tumoral. Estudios preclínicos habían mostrado eficacia en TCE con una ventana terapéutica de 6 h. Un estudio fase I demostró que el dexamabinol es seguro a dosis de hasta 200 mg. Maas y cols con estos datos lo sometieron a un estudio fase III multicéntrico e internacional en donde se incluyeron 846 pacientes con TCE severo y se asignaron ya sea a un grupo que recibió 150 mg de dexamabinol o a otro grupo que recibió placebo cuantificando su respuesta en la escala de resultados de Glasgow extendida a los 6 meses encontrando que 215 (50%) de los pacientes en el grupo de dexamabinol y 214 (51%) tuvieron un desenlace desfavorable, no habiendo por lo tanto diferencia entre los grupos, concluyendo que si bien el dexamabinol es seguro, no es eficaz como neuroprotector en el TCE.
- Progesterona. Desde hace algunos años se ha despertado el interés por las propiedades protectoras cerebrales de la progesterona. Los estudios en animales de laboratorio sugieren que es modulador eficaz de la excitotoxicidad, preserva la integridad de la barrera hematoencefálica, reduce el edema cerebral, minimiza la cascada de inflamación de las citocinas, decrementa la apoptosis e inclusive mejora la recuperación de lesiones tanto cerebrales, corticales como de médula espinal. Es un medicamento que ofrece un buen número de ventajas sobre otros tratamientos experimentales de TCE, debido a que es liposoluble y por lo tanto cruza rápidamente la barrera hematoencefálica y alcanza un equilibrio en el plasma a solo una hora de su administración, se puede administrar fácilmente por vía intravenosa periférica, es barato y fácilmente accesible. Con estos datos Wright y cols hicieron un estudio fase II, al azar, doble ciego y controlado con placebo en un centro de trauma urbano. Se enrolaron 100 pacientes con TCE, los que llegaron

hasta 11 horas después del trauma y con escala de coma de Glasgow de 4 a 12. En una relación de 4:1 se les destinó a recibir progesterona intravenosa o placebo. El resultado neurológico final se calificó a los 30 días de su ingreso. Se encontró que los eventos adversos serios fueron similares en ambos grupos, exceptuando que los pacientes con progesterona tuvieron menor mortalidad a los 30 días que los controles. Además, en el caso de TCE moderado los pacientes que recibieron progesterona tuvieron una recuperación mejor y más rápida que aquellos que no les fue administrada. Las investigaciones al respecto continúan.

- **Magnesio.** Con los antecedentes de estudios en animales, en donde se observó que el magnesio era capaz de bloquear los receptores NMDA, Temkin y cols lanzan un estudio para cuantificar su acción sobre los pacientes con TCE. A 499 pacientes, mayores de 14 años con TCE de moderado a severo, se les dividió y asignó a uno de tres grupos: dos de ellos recibieron magnesio intravenoso en las primeras 8 h y durante 5 días, uno a dosis que fueran suficientes para llegar a una concentración sérica de 1.0 a 1.85 mmol/L de magnesio y otro para alcanzar una concentración sérica de 1.25 a 2.5 mmol/L. Al tercer grupo se le dio placebo. En los resultados, los autores reportan que el magnesio no tuvo un efecto positivo significativo sobre la calificación a los 6 meses. Aquellos pacientes con alta dosis de magnesio obtuvieron una calificación de 55 vs 52 con el placebo. Aquellos pacientes asignados a la dosis baja de magnesio tuvieron inclusive una calificación menor (48) que los pacientes sometidos a recibir placebo. Se concluye que la infusión continua de magnesio por 5 días en pacientes con TCE no fue neuroprotectora y que inclusive tuvo un efecto negativo a 6 meses.
- **Hipotermia.** Las investigaciones orientadas a demostrar la acción protectora de la hipotermia sobre el cerebro tienen alrededor de 60 años. En 1950 Bigelow y cols reportaron que con hipotermia de 20 °C en perros extendía el tiempo seguro de isquemia de unos cuantos minutos a 15 minutos. Esta tendencia de investigación estaba dirigida a la cirugía cardíaca en espera de poder lograr poner al paciente en asistolia sin daño neuronal, lo que se pudo realizar con el empleo de la bomba de perfusión extracorpórea. En los 60 se trató de introducir la hipotermia profunda para la reparación de aneurismas complejos, pero los resultados fueron poco satisfactorios, por lo que se abandonó su uso. En 1987 Busto y cols reportaron que una pequeña diferencia de temperatura cerebral era altamente efectiva como protectora durante isquemia global, mucho más que cualquier fármaco con estos fines. Este hallazgo fue en ese momento nuevo e inclusive sorprendente pues históricamente siempre se había buscado hipotermia < 30 °C. Pocos años después Clifton y cols en

1991, reportaron una mejoría sustancial y consistente utilizando hipotermia de entre 30 y 35 °C en roedores sometidos a trauma. Los estudios posteriores establecieron que una hipotermia de 32 °C aplicada entre 8 y 10 horas después del TCE y mantenidas por 24 a 48 h no promovía ninguna toxicidad relativa a la hipotermia. Basado en lo anterior, se inicia un estudio multicéntrico en 1994. Se incluyeron 392 pacientes de 16 a 65 años de edad, con calificación de Glasgow de 8 o menor secundaria a TCE grave. El grupo control recibió tratamiento tradicional a temperatura de 37 °C, mientras que el grupo de hipotermia lo recibió a 33 °C. La hipotermia fue iniciada a las 4.1 ± 1.2 h después del evento traumático mediante enfriamiento de superficie. La temperatura blanco de 33 °C se alcanzó a las 8.4 ± 3.0 horas y se mantuvo por 48 horas. La recuperación de la temperatura en estos pacientes se llevó al cabo mediante calentamiento gradual en 18 h. El estudio termina en el año 2000 y entre los resultados a los 6 meses fue pobre (definido como dependencia física, estado vegetativo o muerte) en 57% de los pacientes en ambos grupos con una mortalidad de 28% en el grupo hipotérmico y 27% en el normotérmico, no habiendo diferencia entre grupos, y se concluyó inicialmente que la hipotermia era inefectiva como protectora cerebral en TCE. Sin embargo, se notó un cambio en la incidencia de la elevación de la presión intracraneana, ya que en el grupo hipotérmico fue menor que en el normotérmico. Mediante el análisis de subgrupos se encontró también que los resultados adversos en el grupo de hipotermia se asoció a edad mayor de 45 años y los mejores resultados se obtuvieron en pacientes en quienes, llegando hipotérmicos al área de urgencias, se les mantuvo de esa manera. Esta hipotermia inicial se asoció a meses de invierno, ingesta de alcohol, pequeña superficie corporal y administración de soluciones frías intravenosas. La protección conferida por la hipotermia puede deberse a dos factores principales: disminución de la hipertensión intracraneana y a la limitación de cascadas bioquímicas deletéreas iniciadas después del TCE, culpables de la lesión secundaria cerebral. En 1993 se llevó a cabo por Shiozaki T y cols un trabajo interesante en el cual en 16 pacientes con hipertensión intracraneana refractaria se trataron con hipotermia de 34 °C, después de que las medidas tradicionales fallaron y se compararon con 17 pacientes similares bajo barbitúricos. La tasa de mortalidad fue menor en el grupo hipotérmico, probablemente secundario a que la hipertensión intracraneana y la presión de perfusión cerebral fueron mejoradas ambas. En cuanto a los mecanismos a nivel metabólico protectores de la hipotermia se ha establecido que son multifactoriales y se pueden citar al menos: Reducción de la tasa metabólica cerebral, mejoría del flujo sanguíneo cerebral,

reducción del umbral crítico de oxigenación celular, bloqueo parcial de los mecanismos de excitotoxicidad, antagonismo del calcio, preservación de la síntesis de proteínas, decremento de la formación de edema cerebral, modulación de la respuesta inflamatoria e intervención sobre los mecanismos de apoptosis celular. Al respecto de este último punto, se ha dedicado una gran cantidad de investigación tendiendo a descubrir los efectos de la hipotermia sobre la apoptosis. Eberspacher y cols, en un estudio en modelo de rata, encuentran que después de isquemia cerebral parcial por 30 minutos y comparando un grupo normotérmico contra uno hipotérmico (34 °C) se produce una disminución considerable en la cantidad de la proteína Bax (proapoptótica) en sujetos hipotérmicos vs normotérmicos (85 vs 260%). En otra investigación Xu y cols, en un elegante estudio en neuronas cultivadas en las que se provocó apoptosis mediante la privación de medio de cultivo, destinaron un grupo de neuronas sometidas a hipotermia (33 °C) y otro a normotermia (37 °C) y al cabo de 48 h encontraron diferencias en varios pasos de la cascada apoptótica: La actividad de las caspasas 3, 8 y 9 se vio significativamente aumentada en el grupo normotérmico y a su vez claramente disminuida en el grupo hipotérmico, al igual que la traslocación del citocromo C y en la cantidad de activación de los receptores de membrana del factor de necrosis tumoral.

Los autores concluyen que el descenso en la temperatura inhibe la apoptosis tempranamente, posiblemente a su inicio y antes de la activación de la cascada de las caspasas.

Con este cúmulo de evidencia, se han proyectado varias investigaciones, entre la que destaca la National Acute Brain Injury Study: Hypothermia II (NABIS:H IIR), encabezada nuevamente por Clifton y comenzada en noviembre de 2005. Se trata de un estudio prospectivo, multicéntrico y al azar cuyo objetivo es determinar si en pacientes que lleguen a urgencias con hipotermia de 35 °C y que posteriormente se les aplique hipotermia moderada de 33 °C por 48 h, alcanzada ésta antes de 4 h después de TCE se mejora el resultado final. Incluye pacientes solamente de 16 a 45 años. El estudio está programado para terminar en enero de 2011. Existe en general un optimismo bien fundamentando de que los resultados de esta investigación sean positivos.

Como se puede ver, la investigación con el fin de encontrar un medio de neuroprotección para pacientes con TCE adecuado, eficaz y accesible, continúa constantemente a nivel mundial y va dando fruto lentamente. Sin embargo, actualmente la mejor medida es la cultura de la prevención y una agudeza clínica para poder dar a nuestros pacientes, mediante nuestro manejo transanestésico, una mejor posibilidad de ser lo más parecidos a las personas que eran antes del TCE, tanto para ellos como para sus familiares.

REFERENCIAS

1. Bayir H, Clark R, Konachek PM. Promising strategies to minimize secondary brain Injury after head trauma. *Crit Care Med* 2003;31:S112-117.
2. Zhang X, Chen Y, Jenkins LW, Kochanek PM, Clark R. Bench-to-bedside review: Apoptosis/programmed cell death triggered by traumatic brain injury. *Critical Care* 2005;9:66-75.
3. Head B, Patel P. Anesthetics and brain protection. *Current opinion in anaesthesiology* 2007;20:395-399.
4. Maas AI, Murray G, Henney H, Kassem N, Legrand V, Mangelus M, Muizelaar JP, Stocchetti N, Knoller N. Efficacy and safety of dexanabol in severe traumatic brain injury; results of a phase II randomized, placebo-controlled, clinical trial. *Lancet Neurol* 2006;5:38-45.
5. Wright DW, Kellerman AL, Hetzberg VS, Clark PL, Frankel M, Goldstein FC, Salomone JP, Dent LL, Harris OA. ProTECT: a randomized clinical trial of progesterone for acute traumatic brain injury. *Ann Emerg Med* 2007;49:391-402.
6. Temkin NR, Anderson GD, Winn HR, Ellenbogen RG, Britz GW, Schuster J, Lucas T, Newell DW, Mansfield PN, Machamer JE, Barber J, Dikmen SS. Magnesium sulfate for neuroprotection after traumatic brain injury; a randomized controlled trial. *Lancet Neurol* 2007;6:29-38.
7. Clifton GL, Miller E, Choi SC et al. Lack of effect of induction of hypothermia after acute brain injury. *N England J Med* 2001;344:556-563.
8. Ramani R. Hypothermia for brain protection and resuscitation. *Current opinion in anaesthesiology*. 2006;19:487-91.
9. Eberspacher E, Werner C, Engelhard K, Pape M, Gelb A, Hutzler P, Henke J, Kochs E. The effect of hypothermia on the expression of apoptosis-regulating protein BAX after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *J Neurosurg Anesthesiol* 2003;15:200-8.
10. Xu L, Yenari M, Steingerg GK, Giffard RG. Mild Hypothermia reduces apoptosis of mouse neurons *in vitro* early in the cascade. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;21-28.

www.medigraphic.com