

Protección mediante nebivolol y *L*-NAME de la lesión por isquemia-reperfusión de la médula espinal

M. Seren¹, B. Budak¹, N. Turan², A.I. Parlar¹, F. Akar² y A.T. Ulus¹, Ankara, Turquía

El déficit neurológico postoperatorio es la complicación más devastadora después de la corrección de un aneurisma aórtico toracoabdominal. El objetivo del presente estudio fue investigar si el nebivolol tiene efectos protectores durante la isquemia o reperfusión y el mecanismo de protección más eficaz a través de la inhibición de la liberación de óxido nítrico (ON) con un inhibidor de la ON sintasa en un modelo experimental de lesión por isquemia/reperfusión de la médula espinal. La isquemia se indujo mediante oclusión de la aorta infrarrenal durante 30 min. Dividimos a 31 conejos en cinco grupos de acuerdo con el período de administración de nebivolol y/o *N*^G-nitro-*L*-arginina metil éster (*L*-NAME): grupo de control; grupo NI, nebivolol durante el período isquémico; grupo NR, nebivolol durante el período de reperfusión; grupo NILR, nebivolol durante el período isquémico y *L*-NAME durante el período de reperfusión; y grupo LINR, *L*-NAME durante el período isquémico y nebivolol durante el período de reperfusión. Se obtuvieron muestras de sangre en el período tanto de isquemia como de reperfusión para determinar los niveles de nitrito/nitrato. Después de una evaluación neurológica a las 24 h de la reperfusión, se determinaron los niveles de malondialdehído (MDA). El deterioro neurológico fue significativamente menor en el grupo LINR (puntuación de Tarlov $3,4 \pm 0,6$, $p < 0,05$). Los niveles de MDA fueron más bajos en animales tratados con nebivolol, pero el valor más bajo se alcanzó en el grupo NR, $35,6 \pm 2,7$ nmol/g ($p < 0,001$). Los niveles de nitritos disminuyeron significativamente en todos los animales tratados con nebivolol en el período de reperfusión, pero el valor más bajo se determinó en el grupo LINR (455 ± 137 comparado con 1.760 ± 522 nmol/ml, $p < 0,001$). El uso profiláctico de nebivolol redujo la lesión neurológica, y, combinado con *L*-NAME, produjo la mayor mejoría clínica atenuando el medio inflamatorio en el modelo experimental. La combinación de nebivolol y *L*-NAME parece ser una opción eficaz como protección de la médula espinal frente a la lesión por isquemia/reperfusión.

INTRODUCCIÓN

A pesar de los recientes avances en las técnicas operatorias, del control de la anestesia y cuidados postoperatorios, el riesgo de paraplejía se cierne sobre la cirugía del sector aórtico toracoabdominal desde sus comienzos, variando su incidencia del 2,9 al 32%^{1,2}.

Las complicaciones neurológicas asociadas a isquemia de la médula espinal se relacionan con la duración de la isquemia, la extensión y rotura del aneurisma, edad del paciente, existencia o no de aneurisma aórtico proximal, insuficiencia renal y lesión por isquemia/reperfusión^{2,3} (I/R). La prevención de la lesión I/R de la médula espinal requiere una estrategia multimodal que incluye el drenaje del líquido cefalorraquídeo, perfusión aórtica distal, enfriamiento raquídeo, hipotermia, monitorización de los potenciales evocados somatosensoriales y administración de fármacos⁴⁻¹⁴.

Se ha demostrado que el endotelio desempeña un papel clave en la lesión I/R¹⁵. La insuficiencia energética, la excitotoxicidad y el estrés oxidativo se han implicado en la patogenia de la lesión neurológica después de isquemia de la médula

DOI of original article: 10.1016/j.avsg.2007.12.024.

¹Department of Cardiovascular Surgery, Türkiye Yüksek İhtisas Hospital, Ankara, Turquía.

²Department of Pharmacology, Gazi University, Ankara, Turquía.

Correspondencia: A.Tulga Ulus, MD, Niğde sok., Ulus apt., 20/6, 06460, Dikmen, Ankara, Turquía. Correo electrónico: ulus@yahoo.com

Ann Vasc Surg 2008; 22: 425-431

DOI: 10.1016/j.avsp.2008.07.027

© Annals of Vascular Surgery Inc.

Publicado en la red: 8 de mayo de 2008

espinal¹⁶⁻¹⁸. Entre estos factores, la activación neutrófila y el estrés oxidativo darían lugar a la producción masiva de radicales libres del O₂, que a su vez aumentarían los procesos inflamatorios como la peroxidación lipídica y la lesión de proteínas y del ADN^{15,18-20}.

El nebivolol es un antagonista selectivo de los receptores beta₁ cuya molécula posee cuatro átomos de carbono asimétricos. Se ha demostrado que provoca una vasorrelajación a través de una vía dependiente del óxido nítrico (ON)/guanosín monofosfato cíclico (cGMP) en diversos lechos vasculares²¹⁻²⁴. Además de sus efectos inotrópicos negativos y vasodilatadores directos, se supone que el nebivolol contrarresta el estrés oxidativo²¹.

Se ha descrito que el estrés oxidativo se asocia con el deterioro de la vasodilatación dependiente del endotelio causada por la pérdida de la bioactividad del ON en la pared del vaso^{25,26}. No obstante, en la actualidad sigue siendo motivo de debate el papel del ON en la lesión I/R. Podría actuar como un mediador de la lesión tisular al igual que como un potente vasodilatador endógeno²⁷. Además, en la actualidad se desconoce si el efecto protector observado del nebivolol durante el estrés oxidativo es consecuencia de una acción *scavenger* de eliminación directa de la molécula o está mediado por un mecanismo diferente. Por esta razón, investigamos si la administración intravenosa de nebivolol podría producir efectos protectores en un modelo experimental de lesión I/R de la médula espinal y el momento óptimo de su administración, además del mecanismo de protección, utilizando N^G-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), un inhibidor de la ON sintasa. Con el objetivo de evaluar la capacidad de nebivolol para prevenir la lesión I/R, valoramos las funciones motoras de las patas traseras y los efectos de la administración de nebivolol frente al estrés oxidativo mediante la determinación de malondialdehído (MDA) en homogeneizados de médula espinal para estimar la peroxidación lipídica.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los "Principios de los Cuidados de Animales de Laboratorio" y la "Guía de los Cuidados y Uso de Animales de Laboratorio" (NIH Publication 80-23, revisado en 1985) y aprobado por el comité de investigación de la Gazi University (9/11/2004, protocolo 04-036). Para el estudio se usaron 31 conejos blancos de Nueva Zelanda y el peso medio de los animales fue de 3,2 ± 0,4 kg. Los animales tenían libre acceso a una dieta estándar para conejos y a agua del grifo. Los animales se dividieron en cinco grupos de

acuerdo con el período de administración de nebivolol y/o L-NAME (isquemia o reperusión): grupo de control, sin medicación; grupo N1, nebivolol (10 mg/kg) administrado durante el período de isquemia; grupo NR, nebivolol (10 mg/kg) administrado durante el período de reperusión; grupo LINR, nebivolol (10 mg/kg) administrado durante el período de isquemia y L-NAME (3 mg/kg) administrado durante el período de reperusión; grupo LINR, L-NAME (3 mg/kg) administrado durante el período de isquemia y nebivolol (10 mg/kg) administrado durante el período de reperusión (fig. 1).

Procedimiento quirúrgico

Los animales recibieron ketamina (50 mg/kg) y xilacina (10 mg/kg) por vía intravenosa para la inducción anestésica y se permitió que respiraran espontáneamente sin ventilación mecánica. Durante el experimento se administraron dosis intravenosas adicionales de ketamina según las necesidades. La temperatura rectal se mantuvo a 30°C por medio de una lámpara de calor. Para garantizar una profundidad suficiente de la anestesia, se implantó un catéter de calibre 24 en la vena de la oreja para la administración de líquidos y fármacos. Se implantó un catéter arterial en el oído para monitorizar la presión arterial y obtener muestras de sangre. Durante toda la cirugía se administró suero fisiológico a una tasa de 5 ml/kg/h.

Después de una preparación quirúrgica estéril, se abrió el abdomen con un abordaje de laparotomía en la línea media y se expuso la aorta abdominal retroperitoneal. Se prestó especial atención para evitar una lesión del conducto linfático mesentérico que se asocia íntimamente con la aorta abdominal. Tras haber obtenido un control de la aorta abdominal con cinta de silicona, se administraron 50 UI/kg de heparina sódica por vía intravenosa y la aorta se clampó utilizando un clamp vascular atraumático aplicado inmediatamente distal al origen de la arteria renal izquierda y por encima de la bifurcación aórtica. Tras la oclusión de la aorta, el abdomen se cerró provisionalmente para evitar la pérdida excesiva de calor o de líquidos. La aplicación de una agresión isquémica durante 30 min se basó en los resultados de experimentos previos que han usado este modelo^{15,16,27}. Tras la retirada del clamp, se puso especial atención a la reperusión distal. El período de reperusión fue de 60 min para cada animal. Al completar el procedimiento, se retiraron todos los catéteres y las incisiones se cerraron con suturas. Se permitió a los animales que se restablecieran de la anestesia antes de devolverlos al área de alojamiento donde podían moverse libremente

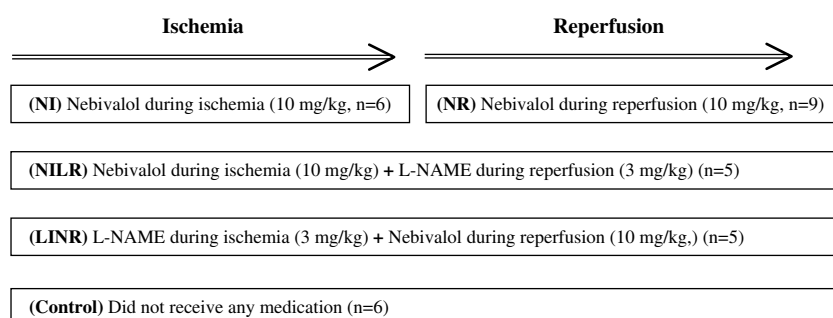


Fig. 1. Grupo de control y grupos de estudio.

en sus jaulas y se les proporcionó comida y agua a voluntad.

Evaluación neurológica

A las 24 h postoperatorias, se puntuó el estado neurológico de los animales mediante la evaluación de la función neurológica de la pata trasera usando el sistema de puntuación de Tarlov modificado²⁸. A cada animal se le asignó una puntuación de 0-5 del modo siguiente: 0, sin movimiento voluntario de la pata trasera; 1, movimiento perceptible de las articulaciones; 2, movimiento activo pero incapaz de sentarse sin ayuda; 3, capaz de sentarse pero incapaz de saltar; 4, salto débil; 5, restablecimiento completo de la función de la pata trasera. Las evaluaciones neurológicas de los grupos fueron efectuadas de forma ciega por un investigador ajeno al estudio.

Obtención de los datos

Las muestras de sangre arterial se obtuvieron a los 25 min en el período de isquemia y a los 5 min en el de reperfusion. Las muestras de sangre se conservaron a temperatura ambiente durante 30 min y se centrifugaron a una tasa de 3.000 ciclos/min durante 5 min; acto seguido, el plasma obtenido se introdujo en un tubo de Eppendorf y se almacenó a -40°C .

Después de la evaluación neurológica, los conejos se anestesiaron con pentobarbital sódico (50 mg/kg). Tras la obtención de una profundidad adecuada de la anestesia, se sacrificó a todos los animales y se obtuvieron muestras de médula ósea para la determinación de los niveles de MDA. Todas las determinaciones y cálculos se efectuaron de manera ciega, sin conocimiento de los grupos. Este modelo experimental se condujo de acuerdo con los estudios experimentales publicados sobre lesión de la médula ósea después de clampaje de la aorta^{15,27,29-31}.

Análisis de MDA en los tejidos

En las muestras de médula espinal la peroxidación lipídica se determinó mediante la concentración de

MDA. Los niveles de MDA en tejidos se determinaron mediante un método basado en la reacción con ácido tiobarbitúrico (ATB). Brevemente, las muestras se mezclaron con dos volúmenes de solución salina fría que contenía un 0,001% de hidroxitolueno butilado (BHT, 200 μl de una solución al 0,01% de BHT en metanol) y un 0,07% de sulfato de dodecilo sódico (SDS, 20 μl de SDS al 7%). Acto seguido, se añadió 1 ml de las muestras a 500 μl de 0,01 NH_2SO_4 y 500 μl de reactivo ATB (0,67% de ATB en un 50% de ácido acético) para precipitar las proteínas. Las muestras se calentaron en agua hirviendo durante 60 min. Después de su enfriamiento, se añadió un volumen igual (2 ml) de *n*-butanol a cada tubo de prueba y se mezcló. La muestra se centrifugó a 4.000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. La absorbencia de la capa orgánica en 1 ml se leyó a 535 nm (Versamax Microplate Reader; Molecular Devices, Eugene, OR). Las concentraciones de MDA se expresaron como nmoles por gramo de tejido de peso húmedo³².

Determinaciones de nitritos/nitratos

Las concentraciones plasmáticas de nitritos-nitratos se analizaron con un equipo de análisis de ON disponible comercialmente (Assay Designs, Ann Arbor, MI). El equipo permite la conversión enzimática de nitratos en nitritos por la enzima nitrato reductasa, seguido de la detección colorimétrica de nitritos como producto azoico teñido en la reacción de Griess. Investigamos la producción de ON total; los nitratos fueron reducidos a nitritos por el dinucleótido adenín nicotinamida reducido, en presencia de nitrato reductasa, leyéndose la densidad óptica a 540 nm¹⁶ (Molecular Devices Versamax Microplate Reader).

Análisis estadístico

Todos los valores se presentan como medias $\pm$ desviación estándar (DE). Las determinaciones se analizaron para la comparación mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. La diferencia entre

grupos desde un punto de vista de las puntuaciones de Tarlov se determinó mediante un análisis estadístico no paramétrico usando la prueba de Kruskal-Wallis. También se usó el análisis de la varianza para comparaciones múltiples entre grupos. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Evaluación de la función neurológica

Como se muestra en la [figura 2](#), las puntuaciones medias de Tarlov de los grupos NI ($1,8 \pm 0,7$), NR ($2,7 \pm 0,5$), y NILR ($1,2 \pm 0,7$) fueron más altas que las del grupo de control ($0,7 \pm 0,3$); pero esta diferencia no alcanzó significación estadística ($p > 0,05$). En el grupo LINR, 24 h después del procedimiento, la puntuación media de Tarlov ($3,4 \pm 0,6$) fue significativamente más alta que la de los otros grupos ($p < 0,05$).

Niveles de MDA

Los niveles de MDA de los grupos tratados con neбиволol fueron significativamente más bajos que los de los no tratados (grupo NI $83,6 \pm 13,9$ nmol/g, grupo NILR $100,1 \pm 30,2$ nmol/g, grupo LINR $81,1 \pm 20,5$ nmol/g comparado con grupo de control $218,5 \pm 45,7$ nmol/g; $p < 0,05$), lo que indicó una disminución del estrés oxidativo en presencia del antagonista beta₁. El nivel más bajo de MDA se obtuvo en el grupo NR, $35,6 \pm 2,7$ nmol/g; y este valor fue significativamente más bajo que el del grupo de control ($p < 0,001$). En la [figura 3](#) se muestran los niveles de MDA en los grupos.

Niveles de nitritos/nitratos

Los valores de nitritos y nitratos que se determinaron durante los períodos de isquemia y reperfusión se ilustran en las [figuras 4 y 5](#). En el período de isquemia, comparado con el grupo de control, no se observó una alteración significativa desde un punto de vista de los niveles de nitritos entre grupos de estudio ($p > 0,05$). No obstante, en el período de reperfusión, los niveles de nitritos fueron significativamente más bajos en los grupos tratados con neбиволol comparado con el no tratado (grupo NR $666,93 \pm 93$ nmol/ml, grupo NILR 831 ± 184 nmol/ml, grupo NI 1.176 ± 288 nmol/ml comparado con grupo de control 1.760 ± 522 nmol/ml; $p < 0,05$) y el valor más bajo se obtuvo en el grupo LINR (455 ± 137 , $p < 0,001$).

DISCUSIÓN

La cirugía de la aorta descendente y toracoabdominal (ATA) se ha asociado con paraparesia o paraplejía postoperatoria^{15,33}. La incidencia de isquemia de la médula espinal y de complicaciones neurológicas ulteriores se asocia íntimamente con la duración y gravedad de la isquemia, al igual que con la lesión de reperfusión^{1,18}. La última década ha sido testigo de una explosión del número de ayudas quirúrgicas disponibles para la protección de la médula espinal durante la corrección de la aorta descendente y de la ATA², pero esta terrible complicación todavía no se ha eliminado²⁷. Por esta razón, en la lesión por isquemia/reperfusión de la médula espinal, investigamos las propiedades protectoras potenciales del neбиволol que se ha estudiado recientemente como preparado antioxidante eficaz^{21,34-36} y el momento óptimo de su administración, además del mecanismo de protección, utilizando L-NAME.

De hecho, la incidencia simultánea de isquemia y reperfusión es una reacción en cadena basada en el mismo acontecimiento (consumo de oxígeno y reoxigenación) pero causa diferentes resultados lesivos. El estrés oxidativo y la generación consiguiente de radicales libres del oxígeno se ha implicado significativamente en la patogenia de la lesión neurológica tras isquemia de la médula espinal¹⁷⁻²⁰. Los radicales inestables son potentes iniciadores de la degradación de proteínas y de la peroxidación lipídica que desemboca en una disfunción de la membrana celular y, en último término, en la muerte celular³⁷⁻³⁹. Se ha descrito que la peroxidación lipídica mediada por los radicales libres del oxígeno es un proceso que se autoperpetúa y puede propagarse al tejido neuronal circundante, provocando un colapso adicional de la microcirculación y una lesión irreversible de la mielina y los axones¹⁸. La respuesta inflamatoria, con la producción de citocinas por la microglía y los neutrófilos activados, también contribuye a la generación de estos radicales^{38,40,41}. Además, tras la isquemia de la médula espinal, la liberación del transmisor excitotóxico glutamato y la activación de los receptores N-metil-D-aspartato provoca un flujo excesivo de Ca⁺⁺ y desencadena una cadena de reacciones que se traducen en la muerte neuronal⁴⁰. La liberación exagerada de mediadores inflamatorios, la activación de la fosfolipasa A₂, y el sistema del ácido araquidónico, activación del complemento, acumulación quimiotáctica de neutrófilos y granulocitos, los efectos de las diferentes moléculas de adhesión, y las características sofisticadas del ON hacen que la IR sea más compleja y complicada de entender.

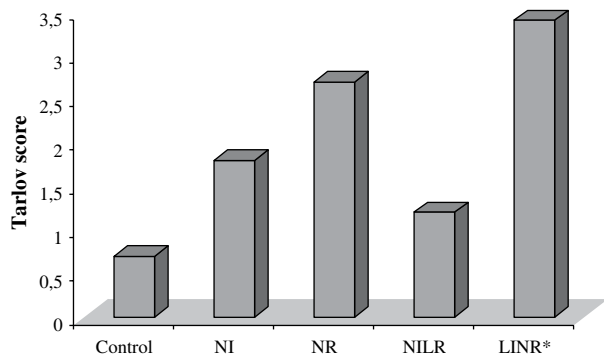


Fig. 2. Puntuaciones medias de Tarlov (* $p < 0,05$). LINR: L-NAME durante el período isquémico y nebulivolol durante el período de reperusión; NI: nebulivolol durante el período isquémico; NILR: nebulivolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión; NR: nebulivolol durante el período de reperusión; grupo NILR, nebulivolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión.

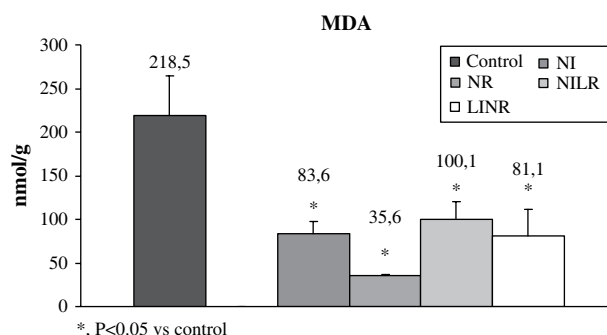


Fig. 3. Niveles de MDA de los grupos. * $p < 0,05$ comparado con el grupo de control. LINR: L-NAME durante el período isquémico y nebulivolol durante el período de reperusión; MDA: niveles de malondialdehído; NI: nebulivolol durante el período isquémico; NILR: nebulivolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión; NR: nebulivolol durante el período de reperusión; grupo NILR, nebulivolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión.

Los efectos del ON sobre el tejido neuronal son controvertidos: se ha propuesto que esta molécula produce una acción doble⁴² (neurotóxica y neuroprotectora). En diversos estudios se ha señalado que la neurotoxicidad se relaciona con la formación de peroxinitritos⁴² y la excitotoxicidad inducida por glutamato^{41,42}. Pero otros estudios han demostrado la presencia de protección mediada por ON en el tejido neuronal⁴²⁻⁴⁴. El ON, que, en sí mismo, es un radical libre, mantiene el tono vascular y se comporta como un potente antioxidante inhibiendo la peroxidación lipídica y previniendo la adhesión/agregación de plaquetas y leucocitos^{27,35,43,45}. Los

peroxinitritos son moléculas que manifiestan efectos lesivos sobre las membranas celulares, enzimas mitocondriales y proteínas contráctiles. En el presente estudio, determinamos los niveles de nitritos/nitratos, que reflejan la faceta de radicales libres del ON. No hubo diferencias entre grupos desde un punto de vista de los niveles de nitritos en el período isquémico, pero estos fueron significativamente más bajos en los grupos tratados con nebulivolol comparado con el grupo de control, en particular en el grupo LINR. En este grupo, en el período isquémico observamos un incremento significativo de los niveles de nitratos.

Gidday et al⁴⁶ documentaron que el ON, que se origina a partir de la ON sintasa endotelial, es necesario para la mediación de la neuroprotección inducida por el preacondicionamiento isquémico frente a la lesión I/R en la isquemia cerebral. Además, se ha demostrado que la S-nitrosilación relacionada con ON se traduce en una disminución de la actividad del receptor de N-metil-D-aspartato y de la actividad de la caspasa, lo que por tanto confiere neuroprotección frente a las agresiones excitotóxicas^{42,47}.

El nebulivolol, un fármaco beta₁ selectivo lipofílico, con propiedades vasodilatadores directas, aumenta la biodisponibilidad del ON y da lugar a la disminución del estrés nitrooxidativo en el endotelio vascular²¹. El mecanismo de la vasodilatación se atribuye a la estimulación de la ON sintasa dependiente del endotelio, un efecto que puede inhibir el L-NAME^{48,49}. También se ha descrito que el nebulivolol inhibe el desacoplamiento de la ON sintasa y produce efectos antioxidantes sistémicos^{50,51}. La acción *scavenger* directa del fármaco en los radicales libres se atribuye a la inhibición de la actividad oxidasa de NAD(P)H²¹, una reducción dosisdependiente de los niveles de hidroperóxidos lipídicos a través de mecanismos de donación de protones y estabilización de electrones³⁴.

İlhan et al⁴⁸ investigaron los efectos de nebulivolol sobre la lesión I/R de la médula espinal y documentaron un mejor resultado neurológico reflejado por la puntuación de Tarlov y la disminución de los niveles de MDA y mieloperoxidasa en los animales tratados con el fármaco. Los resultados del presente estudio coinciden con sus hallazgos porque los niveles de MDA (indicativos de peroxidación lipídica y estrés oxidativo en la mielina de la médula espinal) de todos los grupos de estudio fueron significativamente más bajos que en el grupo de control y la significación fue más pronunciada para el grupo NR, manifestando una participación en la lesión neuronal (radicales libres del oxígeno). Así mismo, en los animales intervenidos las

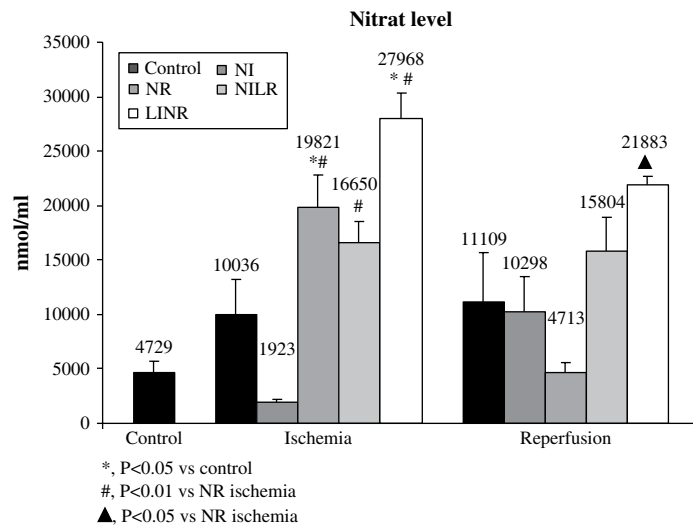


Fig. 4. Niveles de nitratos en los grupos. ^a $p < 0,05$ comparado con el grupo de control, ^b $p < 0,01$ comparado con grupo NR, isquemia, ^c $p < 0,05$ comparado con NR, isquemia. LINR: L-NAME durante el período isquémico y nebilolol durante el período de reperusión; NI: nebilolol durante el período isquémico; NILR: nebilolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión; NR: nebilolol durante el período de reperusión; grupo NILR, nebilolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión.

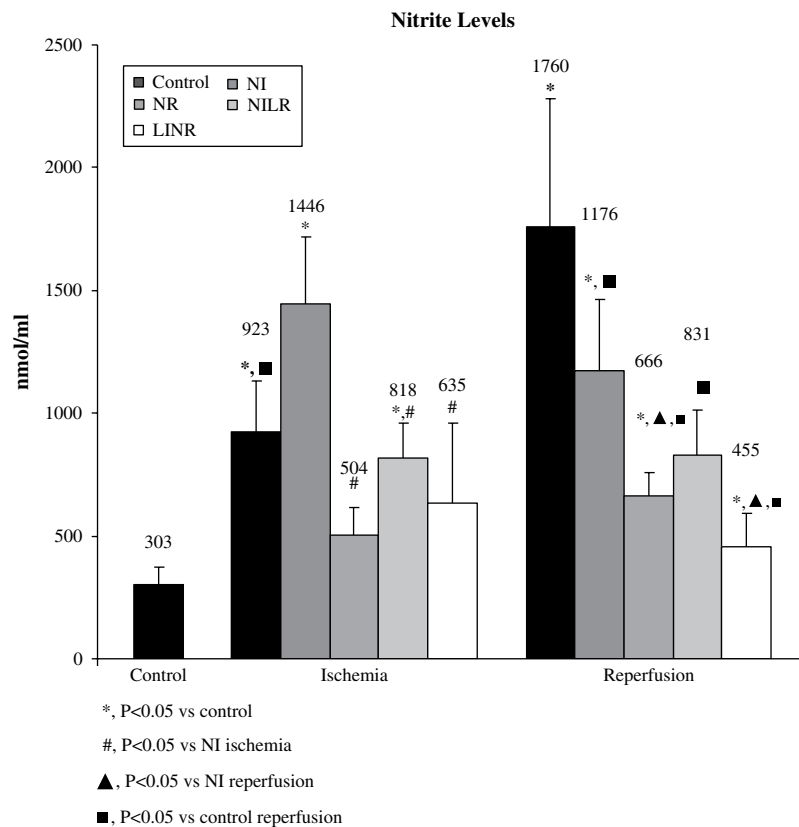


Fig. 5. Niveles de nitritos en los grupos. ^a $p < 0,05$ comparado con el grupo de control, ^b $p < 0,05$ comparado con grupo NI, isquemia, ^c $p < 0,05$ comparado con NI, reperusión, ^d $p < 0,05$ comparado con grupo control, reperusión. LINR: L-NAME durante el período isquémico y nebilolol durante el período de reperusión; NI: nebilolol durante el período isquémico; NILR: nebilolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión; NR: nebilolol durante el período de reperusión; grupo NILR, nebilolol durante el período isquémico y L-NAME durante el período de reperusión.

puntuaciones de Tarlov fueron más altas que en el grupo de control aunque sólo las del grupo LINR alcanzaron significación estadística.

La médula espinal es muy vulnerable a la privación de oxígeno; por esta razón, durante la cirugía es esencial el mantenimiento del flujo sanguíneo a la médula espinal para preservar su integridad y funciones. La interrupción del flujo sanguíneo

hasta esta estructura activa los procesos moleculares que preparan la pared vascular para la amplificación de la respuesta inflamatoria, que puede dar lugar rápidamente a una lesión tisular al restablecerse el flujo sanguíneo. En el presente estudio demostramos los efectos beneficiosos del nebilolol y de L-NAME en combinación sobre una lesión I/R de la médula espinal. Aunque la administración de

L-NAME en el período isquémico y de neбиволол en el período de reperfusión produjo los mejores resultados, es decir, la mayor puntuación de Tarlov, el cociente más bajo nitritos/nitratos y unos valores bajos de MDA suponen una limitación del presente estudio ya que estos resultados deberían haberse confirmado con determinaciones de la mieloperoxidasa y una evaluación histopatológica. Sería útil aplicar diferentes fármacos en los diferentes períodos de la lesión I/R ya que representan las diferentes características con y sin oxígeno. Es preciso destacar que éstos son datos experimentales en un modelo de conejo y, por esta razón, los resultados tan sólo son especulativos. En el futuro, la administración conjunta de neбиволол y *L*-NAME frente a la lesión por isquemia/reperfusión parece ser una opción eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

- Wada T, Yao H, Miyamoto T, et al. Prevention and detection of spinal cord injury during thoracic and thoracoabdominal aortic repairs. *Ann Thorac Surg* 2001;72:80-85.
- Safi HJ, Miller CC, 3rd, Huynh TT, et al. Distal aortic perfusion and cerebrospinal fluid drainage for thoracoabdominal and descending thoracic aortic repair: ten years of organ protection. *Ann Surg* 2003;238:372-381.
- Acher CW, Wynn MM, Archibald J. Naloxen and spinal fluid drainage as adjuncts in the surgical treatment of thoracoabdominal aortic aneurysm. *Surgery* 1990;108:755-762.
- Guerit JM, Verhelst R, Rubay J, et al. Multilevel somatosensory evoked potentials (SEPs) for spinal cord monitoring in descending thoracic and thoracoabdominal aortic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996;10:93-104.
- Reuter DG, Tacker WAJ, Badylak SF, Voorhess WD. Correlation of motor-evoked potential response to ischemic spinal cord damage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:262-272.
- Cambria R, Davison J, Zannetti S, et al. Clinical experience with epidural cooling for spinal cord protection during thoracic and thoracoabdominal aneurysm repair. *J Vasc Surg* 1997;25:241-243.
- Coselli JS, LeMaire SA. Left heart bypass reduces paraplegia rates after thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Ann Thorac Surg* 1999;67:1931-1934.
- Griep RB, Ergin MA, Galla JD, et al. Minimizing spinal cord injury during repair of descending thoracic and thoracoabdominal aneurysms: the Mount Sinai approach. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1998;10:25-28.
- Hollier LH, Money SR, Naslund TC, et al. Risk of spinal cord dysfunction in patients undergoing thoracoabdominal aortic replacement. *Am J Surg* 1992;164:210-213.
- Schepens MA, Defauw JJ, Hamerlijnck RP, et al. Use of left heart bypass in the surgical repair of thoracoabdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg* 1995;9:327-338.
- Kouchoukos NT, Daily BB, Rokkas CK, et al. Hypothermic bypass and circulatory arrest for operations on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Ann Thorac Surg* 1995;60:67-76.
- Acher CW, Wynn MM, Hoch JR, et al. Combined use of cerebral spinal fluid drainage and naloxone reduces the risk of paraplegia in thoracoabdominal aneurysm repair. *J Vasc Surg* 1994;19:236-246.
- Coselli JS, Conklin LD, LeMaire SA. Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: review and update of current strategies. *Ann Thorac Surg* 2002;74:S1881-S1884. S1892-S1898.
- Coselli JS, Lemaire SA, Koksoy C, et al. Cerebrospinal fluid drainage reduces paraplegia after thoracoabdominal aortic aneurysm repair: results of a randomized clinical trial. *J Vasc Surg* 2002;35:631-639.
- Kaplan S, Bisleri G, Morgan JA, et al. Resveratrol, a natural red wine polyphenol, reduces ischemia-reperfusion-induced spinal cord injury. *Ann Thorac Surg* 2005;80:2242-2249.
- Kiziltepe U, Turan NN, Han U, et al. Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg* 2004;40:138-145.
- Boyle EM, Jr, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: ischemia-reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1868-1875.
- Ueno T, Furukawa K, Katayama Y, et al. Spinal cord protection: development of a paraplegia-preventive solution. *Ann Thorac Surg* 1994;58:116-120.
- Kirsch JR, Helfaer MA, Lange DG, Traystman RJ. Evidence for free radical mechanisms of brain injury resulting from ischemia/reperfusion-induced events. *J Neurotrauma* 1992;9(Suppl. 1):S157-S163.
- Agee JM, Flanagan T, Blackburne LH, et al. Reducing postischemic paraplegia using conjugated superoxide dismutase. *Ann Thorac Surg* 1991;51:911-915.
- de Groot AA, Mathy MJ, van Zwieten PA, Peters SL. Antioxidant activity of neбиволол in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;43:148-153.
- Cockcroft JR, Chowieniczky PJ, Brett SE, et al. Neбиволол vasodilates human forearm vasculature: evidence for an L-arginine/NO-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;274:1067-1071.
- Gao YS, Nagao T, Bond RA, et al. Neбиволол induces endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17:964-969.
- Kakoki M, Hirata Y, Hayakawa H, et al. Effects of vasodilatory beta-adrenoceptor antagonists on endothelium-derived nitric oxide release in rat kidney. *Hypertension* 1999;33(1 Pt 2):467-471.
- Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. *Clin Cardiol* 1997;20(Suppl. 2):II-11-7.
- Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hypoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1986;250(5 Pt 2):H822-H827.
- Ulus AT, Turan NN, Seren M, et al. In which period of injury is resveratrol treatment effective: ischemia or reperfusion? *Ann Vasc Surg* 2007;21:360-366.
- Katircioglu SF, Ulus AT, Gokce P, Surucu S. Iloprost protects the spinal cord during aortic cross-clamping in a canine model. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2000;41:89-93.
- Kaplan S, Ulus AT, Tutun U, et al. Effect of Mg₂SO₄ usage on spinal cord ischemia-reperfusion injury: electron microscopic and functional evaluation. *Eur Surg Res* 2004;36:20-25.
- Elbers PW, de Haan P, Vanicky I, et al. Effect of temporary visceral ischemia on spinal cord ischemic damage in the rabbit. *Ann Thorac Surg* 2006;81:910-917.
- Ulus AT, Saritas A, Yamak B, et al. ATP-MgCl₂ utilization for spinal cord protection during experimental thoracic aortic occlusion. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1999;40:495-499.
- Uzul H, Cakir E, Cobanoglu U, et al. The effects of tyrphostine Ag556 on experimental spinal cord ischemia reperfusion injury. *Surg Neurol* 2004;61:45-54.

33. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, et al. Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *J Vasc Surg* 1993;17:357-370.
34. Mason RP, Kubant R, Jacob RF, et al. Effect of nebivolol on endothelial nitric oxide and peroxynitrite release in hypertensive animals: role of antioxidant activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006;48:862-869.
35. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993;72:403-412.
36. Mason RP, Kalinowski L, Jacob RF, et al. Nebivolol reduces nitroxidative stress and restores nitric oxide bioavailability in endothelium of black Americans. *Circulation* 2005;112:3795-3801 (Erratum in: *Circulation* 2006;113:e712).
37. Kobara M, Tatsumi T, Takeda M, et al. The dual effects of nitric oxide synthase inhibitors on ischemia reperfusion injury in rat hearts. *Basic Res Cardiol* 2003;98:319-328.
38. İlhan A, Koltuksuz U, Ozen S, et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16:458-463.
39. Kuroda S, Siesjö BK. Reperfusion damage following focal ischemia: pathophysiology and therapeutic windows. *Clin Neurosci* 1997;4:199-212.
40. Garcia JH, Liu KF, Yoshida Y, et al. Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat). *Am J Pathol* 1994;144:188-199.
41. Dawson VL, Dawson TM, London ED, et al. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6368-6371.
42. Lipton SA. Neuronal protection and destruction by NO. *Cell Death Differ* 1999;6:943-951.
43. Centeno JM, Orti M, Salom JB, et al. Nitric oxide is involved in anoxic preconditioning neuroprotection in rat hippocampal slices. *Brain Res* 1999;836:62-69.
44. Matsumoto M, Iida Y, Wakamatsu H, et al. The effects of N(G)-nitro-L-arginine-methyl ester on neurologic and histopathologic outcome after transient spinal cord ischemia in rabbits. *Anesth Analg* 1999;89:696-702.
45. Demopoulos HB, Flamm ES, et al. The free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492:91-119.
46. Gidday JM, Shah AR, Maceren RG, et al. Nitric oxide mediates cerebral ischemic tolerance in a neonatal rat model of hypoxic preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:331-340.
47. Manzoni O, Bockaert J. Nitric oxide synthase activity endogenously modulates NMDA receptors. *J Neurochem* 1993;61:368-370.
48. İlhan A, Yılmaz HR, Armutcu F, et al. The protective effect of nebivolol on ischemia/reperfusion injury in rabbit spinal cord. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004;28:1153-1160.
49. Bowman AJ, Chen CP, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:199-204.
50. Mollnau H, Schulz E, Daiber A, et al. Nebivolol prevents vascular NOS III uncoupling in experimental hyperlipidemia and inhibits NADPH oxidase activity in inflammatory cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:615-621.
51. Troost R, Schwedhelm E, Rojczyk S, et al. Nebivolol decreases systemic oxidative stress in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2000;50:377-379.