

# Fenobarbital administrado sólo o en combinación con dapsona inhibe apoptosis y mejora la función motora después de una lesión traumática de la médula espinal en ratas

Araceli Díaz-Ruiz<sup>1</sup>, Marisela Méndez-Armenta<sup>2</sup>, Concepción Nava-Ruiz<sup>2</sup>, Carla Garduño<sup>1</sup>,  
Ivan Santander<sup>1</sup>, Amairani Ruiz<sup>1</sup>, Camilo Ríos<sup>1</sup>

## RESUMEN

La lesión traumática de médula espinal (LTME) es un problema de salud que afecta a la población en edad económicamente activa (20 a 45 años) para la cual no se tiene un tratamiento eficaz. En este estudio se ha demostrado que el fenobarbital (FB) y dapsona (DDS) tienen efecto neuroprotector en modelos de infarto cerebral y de excitotoxicidad. *Objetivo:* evaluar el efecto terapéutico de FB administrado sólo o en combinación con la DDS durante la etapa aguda de la LTME, cuantificando la actividad de la caspasa3 y la recuperación funcional motora. *Material y métodos:* se utilizaron ratas hembras de 250 g, con laminectomía o LTME, tratadas con FB o DDS solos o en combinación y sacrificadas a 72 hs después del procedimiento quirúrgico para medir la actividad de caspasa-3. Además, se evaluó la recuperación motora durante 2 meses. *Resultados:* Los valores de la actividad de caspasa-3 mostraron un incremento por efecto de la lesión que disminuyó cuando ambos fármacos fueron administrados sólo o en combinación. Asimismo, los animales tratados con FB sólo o en combinación con DDS tuvieron el mejor desempeño funcional siendo la terapia combinada la más eficaz mostrando un incremento del 135 % respecto al grupo control. *Conclusiones:* se pudo demostrar que ambos fármacos ofrecen beneficio terapéutico al disminuir la apoptosis y promover la recuperación funcional de los animales, por lo que, los hallazgos de este estudio puede tener valor como estrategia farmacológica eficaz en la práctica clínica.

**Palabras clave:** lesión traumática de la médula espinal, fenobarbital, dapsona, neuroprotección.

## Phenobarbital administered alone or in combination with dapsone inhibits apoptosis and improves motor function after spinal cord injury in rats

## ABSTRACT

Traumatic spinal cord injury (SCI) is a health problem that affects the working age population (20-45 years) and there is no effective treatment. Our group has demonstrated that phenobarbital (FB) and dapsone (DDS) have neuroprotective effects in models of stroke and excitotoxicity. *Objective:* to evaluate the therapeutic effect of FB administered alone or in combination with DDS during the acute stage after SCI by measuring the activity of Caspase-3 and motor functional recovery. *Material and methods:* female rats (250 g) were used, the groups were: laminectomy (control), SCI, treated with FB or DDS, alone or in combination, and all them sacrificed 72 h after surgery to measure the activity of caspase-3, motor recovery was evaluated for 2 months. *Results:* the values of caspase-3 activities showed an increase by effect of lesion and were diminished in all animals that received treatments administered alone or in combination. Likewise, animals treated with FB alone or in combination with DDS had the best functional performance, being the most effective the combined therapy with an increase of 135% over the

lesion group. *Conclusions:* the results obtained demonstrated that both drugs provide therapeutic benefits by reducing apoptosis and promoting functional recovery of the animals. Therefore, the findings of this study may have value as an effective pharmacological strategy in clinical practice.

**Key words:** spinal cord injury, phenobarbital, dapsone, neuroprotection.

La lesión traumática de la médula espinal (LTME) es un problema de salud asociado con una alta mortalidad, de severas consecuencias que llevan a la discapacidad con prolongados y costosos tratamientos de rehabilitación<sup>1</sup>. Después de la lesión primaria, dan inicio una serie de mecanismos autodestructivos denominada lesión secundaria, que llevan a la mayor cantidad de tejido dañado y extensión del daño. De forma temprana observamos falla energética por falta de oxígeno y glucosa<sup>2</sup>, la excitotoxicidad que se genera por el incremento en las concentraciones de glutamato en el espacio extracelular<sup>3</sup>, estrés oxidativo, que es el desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la baja capacidad antioxidante<sup>4</sup>, la respuesta inflamatoria con la llegada de polimorfos nucleares, macrófagos y activación de la microglía<sup>5</sup> y la muerte celular programada o apoptosis<sup>6</sup>. La apoptosis inicia por vía intrínseca asociada al incremento de calcio intracelular que altera el potencial de membrana interna mitocondrial, bajo estas condiciones se abre el poro de transición mitocondrial (MPTP por sus siglas en inglés) se libera el citocromo C con la subsecuente activación de las caspasas 9 y de la caspasa 3 (efectora)<sup>7</sup>. Numerosos estudios han demostrado que la apoptosis es un mecanismo de daño secundario que está presente en neuronas oligodendroglia y microglía después del daño, lo que lleva a un deterioro neurológico irreversible<sup>8</sup>. Con base en esta información, se ha propuesto que la regulación de las vías de activación de la apoptosis después de una LTME podría ser un importante blanco terapéutico neuroprotector. Uno de los tratamientos farmacológicos que puede ser una importante terapia es el fenobarbital (FB fármaco antiepiléptico más antiguo todavía en uso clínico), eficaz para controlar convulsiones<sup>9</sup> e incrementar la respuesta GABAérgica del sistema nervioso<sup>10</sup>. Actúa sobre el receptor GABA  $\lambda$  prolongando la apertura de canales de cloro llevando a la hiperpolarización de la membrana neuronal y bloqueando la entrada de  $Ca_2+$  en las terminaciones presinápticas, inhibiendo la liberación de neurotransmisores excitatorios como el glutamato. Otro fármaco neuroprotector con potencial terapéutico es la dapsona (4,4-diaminodifenilsulfona, DDS) ya que en estudios recientes se ha reportado su efecto anti-oxidante, anti-inflamatorio y anti-apoptótico cuando se administra en animales con isquemia y reperusión cerebral<sup>11,12</sup>, además ha demostrado que mejora el desempeño funcional motor e

incrementa la cantidad de tejido preservado en animales con isquemia cerebral permanente<sup>13</sup>. Por último se demostró que la DDS incrementa la función motora en ratas con LTME<sup>14</sup>. Tomando en consideración esta información el tratamiento cambiando de FB y DDS puede ser una estrategia terapéutica eficaz después de una LTME.

## OBJETIVO

Evaluar el efecto antiapoptótico y promotor de la recuperación funcional motora del fenobarbital administrado sólo o en combinación con dapsona cuantificando la actividad de la caspasa 3 como marcador bioquímico de muerte celular y el desempeño funcional al utilizar la escala de BBB, en un modelo de lesión traumática de la médula espinal en rata.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio, se siguieron los lineamientos establecidos a nivel internacional y nacional por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio".

### *Cirugía y cuidados posoperatorios*

Se utilizaron ratas hembras de la cepa *Wistar* adultas de 200 a 250 g de peso, asignadas a los grupos experimentales de manera aleatorizada. A los animales se les practicó una LTME o un procedimiento quirúrgico falso (laminectomía), con previa anestesia de pentobarbital sódico (50 mg/kg) administrado por vía intraperitoneal. Durante la cirugía la temperatura corporal se mantuvo a 37°C. Se les practicó una incisión en piel, se disecó el tejido conectivo y muscular para dejar expuestos los procesos espinosos, una vez realizado este procedimiento se retiró de manera cuidadosa la lámina torácica 9 para dejar expuesta la médula espinal.

*Recibido: 29 de mayo 2015. Aceptado: 16 de junio 2015.*

<sup>1</sup>Departamento de Neuroquímica. <sup>2</sup>Laboratorio de Patología Experimental, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía México, D.F., México. Correspondencia: Dra. Araceli Díaz-Ruiz, Departamento de Neuroquímica. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Ave. Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama 14260. México, D.F. E-mail: adiaz@innn.edu.mx.

Al finalizar la cirugía, los animales controles no lesionados se suturaron y el resto fueron sometidos a una lesión por contusión moderada utilizando un equipo desarrollado por la Universidad de New York (*New York University Spinal Cord Impactor*). La lesión se produjo dejando caer un cilindro metálico de 10 g de peso de una altura de 25 mm (25 g/cm), directamente sobre médula espinal. Inmediatamente después de la cirugía los animales recibieron cuidados posoperatorios en una cámara de cuidados intensivos para pequeñas especies (*Schoer Manufacturing CO, Kansas City, MO.*); así como un tratamiento farmacológico anti-inflamatorio y antibiótico con acetaminofen (5 ml / 2 L de H<sub>2</sub>O) y benzatina bencilpenicilina de 1,200,000 U; en dosis única (200 ml subcutáneo). Durante 7 días, se les manipuló vejiga y los intestinos para su vaciamiento cada 12 hs durante los primeros 3 días (etapa de *shock* medular) y cada 24 hs en los subsecuentes 4 días. Por último fueron colocados de manera individual en cajas de acrílico, diariamente se realizaron chequeos del estado de salud, para evitar la aparición de úlceras por decúbito, durante todo el estudio los animales se mantuvieron en ciclos de 12 hs luz/obscuridad y con libre acceso al agua y alimento.

#### Tratamiento farmacológico

Los animales con laminectomía (control) recibieron tratamiento con solución salina, FB, DDS o ambos por vía i.p, mientras que a los lesionados, se les administró solución salina por vía intraperitoneal (LTME/SS) o FB (LTME/FB) a una dosis de 30 mg/kg cada 24 hs iniciando el tratamiento a las 3 hs después del daño durante 72 hs de acuerdo con lo reportado por Sudha, *et al*<sup>15</sup>, asimismo, los animales con lesión y DDS (LTME/DDS) recibieron el tratamiento cada 24 hs por 3 días a una dosis de 12.5 mg/kg por vía i.p tomando en cuenta la dosis reportada por Díaz-Ruiz, *et al*<sup>14</sup>. Por último, las ratas del grupo LTME/FB+DDS recibieron terapia combinada, siguiendo el esquema de administración antes descrita para cada fármaco<sup>16</sup>.

#### Ensayo de actividad caspasa3

Los animales fueron sacrificados por decapitación (previa anestesia) a 72 hs después del daño por ser el pico máximo de actividad de caspasa3 de acuerdo con lo reportado por Ríos, *et al*<sup>17</sup>, para el ensayo se utilizó un *kit* fluorométrico comercializado por Calbiochem, siguiendo el método descrito por Díaz-Ruiz, *et al*<sup>11</sup>. Las muestras de tejido fueron homogenizadas en 50 µl de

*buffer* de lisis y posteriormente se incubaron en hielo por 10 min, después el homogenado fue centrifugado a 10000 rpm durante 10 min a 4°C. Al término de ese tiempo se adicionaron 50 µl del *buffer* de reacción (que contiene 10 mM DTT) a cada muestra y 5 µl del substrato a una concentración de 1 mM de IETD-AFC, se incubaron a 37 °C por dos horas. Las muestras fueron leídas en un lector de placas de ELISA por fluorescencia a una longitud de onda de 400 nm de excitación y 505 nm de emisión. Para determinar la concentración de proteína requerida para este ensayo (50 a 200 µg) se utilizó la técnica de Lowry. Por último se realizaron dos lecturas, la primera a la hora de iniciada la reacción y la segunda dos horas después, la actividad de las caspasas fue determinada restando el valor de la primera lectura a la segunda.

#### Determinación de proteínas por el método de Lowry

Las muestras fueron analizadas de acuerdo con el método de Lowry, *et al*<sup>18</sup>, para determinar su contenido de proteínas. Se diluyó cada muestra en una proporción 1:20 (50 µl del homogenado + 950 µl de agua), se tomaron 0.4 ml de la muestra diluida, se agregaron 2 ml de la siguiente solución: 49 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2 % mas 0.5 ml de CuSO<sub>4</sub> al 1%, 10 m después, se adicionó el reactivo de fenol en una relación 1:1 (0.2 ml por cada muestra) y se realizó la lectura 30 m después en un espectrofotómetro U.V visible a una longitud de onda de 550 nm en un equipo Perkin-Elmer.

#### Evaluación motora

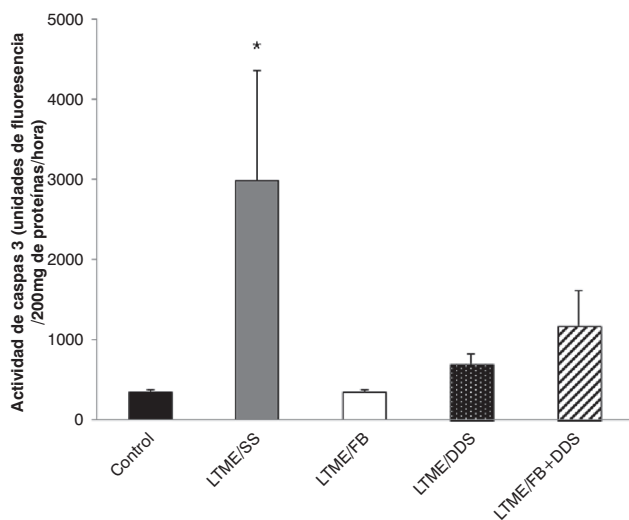
Los animales fueron evaluados al día siguiente de lesión para comprobar la ausencia de movimiento en miembros posteriores, y subsecuentemente se realizó la evaluación motora una vez por semana durante dos meses, utilizando la escala BBB (*Basso, Beattie y Bresnahan*)<sup>19</sup>. Esta escala consta de 22 grados de recuperación en la que se describe con detalle cada uno de los movimientos de las articulaciones de los miembros posteriores (cadera, rodilla y tobillo); así como coordinación entre extremidades anteriores y posteriores durante la marcha, cabe mencionar que previo a la evaluación los animales fueron habituados a la superficie en la cual fueron colocados para su evaluación, cada animal fue evaluado en sesiones de 5 min (como máximo) para evitar fatiga y confundir el desempeño motor. La evaluación fue realizada por tres observadores que desconocían la asignación de los tratamientos (evaluación en ciego).

Análisis estadístico

En todos los casos se realizó un análisis exploratorio de datos para determinar si los valores tenían una distribución normal se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov y homogeneidad de varianzas aplicando la prueba de Levene. Una vez determinado esto, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas Kruskal-Wallis seguida de la U de Mann Whitney para el análisis de la actividad de la Caspasa3 y prueba paramétricas análisis de varianza (ANDEVA) de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey. En todos los casos se tomó como diferencia significativa una  $p < 0.05$ . Paquete estadístico SPSS 17.0.

RESULTADOS

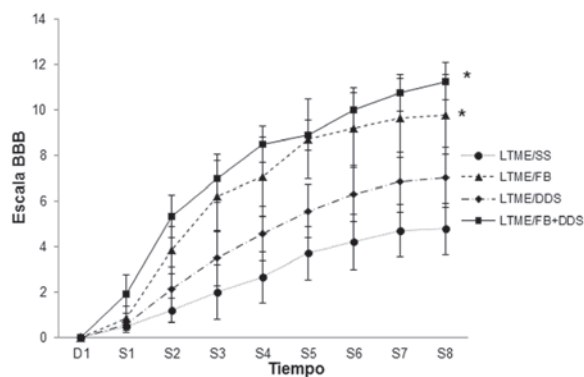
De la cuantificación de la actividad de Caspasa3 evaluada a 72 hs después del daño se muestran en la figura 1, los valores están expresados en unidades internacionales de fluorescencia por 200 µg de proteína por hora y representan el valor promedio ± el error estándar de 6 a 8 animales por grupo. Cabe mencionar que el valor promedio del grupo control (sólo con el procedimiento quirúrgico con laminectomía) corresponde a dos animales por grupo de vehículo (SS), de FB, de DDS, así como el grupo con tratamiento combinado ya que no se obser-



**Figura 1.** Resultados de actividad de caspasa-3 evaluada a 72 hs después del procedimiento quirúrgico, los resultados son el valor promedio ± E.E. de 6 a 8 animales por grupo y están expresados en unidades internacionales de fluorescencia por 200 µg de proteína por hora. Control: ratas sólo con laminectomía, LTME/SS: animales con lesión y tratadas con solución salina, LTME/FB: animales con lesión tratadas con fenobarbital, LTME/DDS: animales con lesión tratadas con dapsona, LTME/FB+DDS: animales con lesión tratadas con ambos fármacos. Prueba de Kruskal Wallis seguida de la U de Mann Whitney, \* $p < 0.05$  vs grupo control.

varon diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. El valor promedio de actividad basal en el grupo control fue de  $341.17 \pm 25.04$ , mientras que en los animales lesionados y tratados con solución salina (LTME/SS) fue de  $2982 \pm 1378.42$  desmotándose que dicha actividad se incrementa por efecto del daño; asimismo, los valores promedio en los animales lesionados y tratados con FB, DDS y la terapia combinada fue de  $344.25 \pm 24.00$ ,  $707.60 \pm 121.22$  y  $1178.67 \pm 433.88$  respectivamente, observándose que la reducción en la actividad de la Caspasa3 de todos los grupos experimentales fue estadísticamente significativa al ser comparados con el grupo con lesión y tratados sólo con solución salina. Kruskal-Wallis seguida de la U de Mann Whitney.

En la figura 2, se muestran resultados obtenidos de la evaluación de la recuperación funcional motora por medio de la escala BBB a 24 hs, 1, 2, 3, 4 y hasta 8 semanas después de la lesión. Los valores están expresados como el promedio ± error estándar de 8 a 10 animales por grupo. Como podemos observar las ratas con LTME tratadas con SS mostraron recuperación espontánea de  $4.79 \pm 1.12$  al final del estudio (8 semanas), por otro lado, los animales que recibieron tratamiento con FB mostraron una recuperación funcional de  $9.81 \pm 1.75$  lo que representa un incremento del 104.8% con respecto al grupo control ( $p < 0.05$ ). Mientras que las ratas con LTME tratadas con DDS obtuvieron un valor promedio de  $7.04 \pm 1.32$  lo que representa un incremento del 43.7 % con respecto al control (LTME/SS) diferencia que no fue



**Figura 2.** Resultados de la recuperación funcional motora de animales lesionados y evaluados durante 8 semanas con escala BBB. Los valores son el promedio ± E.E. de 8 a 10 animales por grupo. LTME/SS: ratas con lesión y tratadas con solución salina, LTME/FB: animales con lesión y fenobarbital a una dosis de 30mg/kg/24 hs, LTME/DDS: animales con lesión y administrados con dapsona a 12.5 mg/kg/24 hs durante 3 días, LTME/FB+DDS: ratas con lesión tratadas con ambos fármacos. Análisis de varianza (ANDEVA) de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey, \* $p < 0.05$  vs grupo LTME/SS.

estadísticamente significativa. Por último, los animales tratados con ambos fármacos mostraron un desempeño motor en promedio de  $11.28 \pm 0.83$  observándose la mejor recuperación motora que fue del 135.5 % al ser comparada con grupo control (tratado con solución salina). Análisis de varianza (ANDEVA) de medidas repetidas seguida de la prueba de Tukey.

## DISCUSIÓN

En el presente se observó un incremento en la actividad de la Caspasa3 cuando se evalúa 72 hs después del daño. Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente por Takagi, *et al*<sup>20</sup>, los autores evaluaron la participación de las caspasas después de una LTME por contusión en ratones, los resultados mostraron un aumento de la actividad de la caspasa8 y de la caspasa3 después del daño, de igual forma Knotblach, *et al*<sup>21</sup> demostraron, que la expresión de las caspasas 8, 9 y 3 se incrementan a las 72 hs después de la lesión, asimismo, Ling, *et al*<sup>22</sup>, observaron una pérdida significativa de neuronas y de células gliales a 24 y 48 hs después de la LTME reportando que este daño se debe al incremento en la actividad de la caspasa3. Recién, en un estudio realizado por nuestro grupo observó un incremento en la actividad de caspasa3 de las 24 y hasta las 72 hs después la lesión<sup>17</sup>. Es importante señalar que diferentes eventos pueden contribuir al aumento en la actividad de las caspasas después de la lesión, por ejemplo la excitotoxicidad que da inicio como consecuencia de la hipoxia (por el daño a los vasos sanguíneos) que lleva a la liberación de grandes cantidades de glutamato aumentando concentraciones de  $Ca^{2+}$  intracelular por medio de la activación de sus receptores (GluK1-GluK5), NMDA y AMPA / KA<sup>23</sup>, dicho aumento es la señal bioquímica para la apertura del poro de transición mitocondrial (MPTP) que da inicio al procesos apoptótico a través de la liberación de citocromo C y Smac / DIABLO (activador mitocondrias derivadas de las Caspasas) que después interactúa con Apaf-1 (factor activador de proteasa apoptosis-1) para promover la activación de la Caspasa9 que es un activador de la caspasa3 (ejecutora)<sup>24</sup>. Otro evento asociado con apoptosis es estrés oxidativo como lo demuestra el estudio realizado por Bao y Liu<sup>25</sup>, en el cual observaron un aumento de la actividad de las caspasas como consecuencia de daño oxidativo. Por último, la respuesta inflamatoria que se desencadena después de la lesión también puede llevar al inicio de la cascada apoptótica<sup>26</sup>, se sabe que los macrófagos que se activan después de una LTME sintetizan diversas citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-23,

CCL5, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  que actúan como quimiotrayentes de células polimorfos nucleares, las cuales expresan la enzima mieloperoxidasa que convierte el peróxido de hidrógeno en ácido hipocloroso una molécula altamente tóxica y muy reactiva; así durante la respuesta inflamatoria se sintetizan grandes cantidades de óxido nítrico por la activación de la sintasa del óxido nítrico inducible que utiliza arginina como sustrato, estos eventos alterando el balance redox de la célula llevándola a un estado de estrés oxidativo que altera las biomoléculas<sup>27</sup>. Otro de los hallazgos de este estudio fue el efecto anti-apoptótico y promotor de la recuperación funcional observado en los animales tratados con FB sólo o en combinación con la DDS, El mecanismo por el cual el FB ejerce este efecto puede estar asociado a su capacidad anti-excitotóxica al favorecer la respuesta GABAérgica y/o por su efecto neuroprotector reportado Díaz-Ruiz, *et al*<sup>16</sup> en un modelo de daño producido por la administración de ácido kaínico en ratas, en este estudio los autores evaluaron el efecto neuroprotector y anticonvulsivo del FB administrado sólo o en combinación con DDS en ratas, los resultados demostraron que dicho tratamiento disminuye el déficit neurológico y muerte neuronal en el CA-3 del hipocampo. De igual forma se comprobó su beneficio terapéutico en un modelo de convulsiones con hipoxia en roedores neonatos, los resultados mostraron reducción en el número de convulsiones y menor daño en el tejido cerebral<sup>28</sup>, además Sutula, *et al*<sup>29</sup> observaron el mismo efecto en ratas adultas sometidas a un modelo de toxicidad inducido con ácido kaínico administrado por vía intraventricular, los resultados evidenciaron menor daño en las células granulares del giro dentado; así como, en fibras musgosas del hipocampo. Otro estudio que apoya su efecto neuroprotector es el reportado por Rekling<sup>30</sup> en el cual se observó que el tratamiento disminuye la muerte celular inducida por privación de oxígeno y glucosa en rebanadas de hipocampo. Con respecto a los mecanismos a través de los cuales la DDS puede ejercer efecto anti-apoptótico y mejorar el déficit neurológico pueden estar asociados a su efecto anti-oxidante al inhibir la lipoperoxidación después de una LTME<sup>14</sup>; así como, por su efectos anti-inflamatorio al reducir la actividad de la enzima mieloperoxidasa presente en los neutrófilos y en la microglia de ratas con isquemia cerebral con reperusión y en modelos de LTME de acuerdo con los estudios de Díaz-Ruiz, *et al* de 2008 y 2011 respectivamente<sup>11,14</sup>, o por su efecto anti-éxitotóxico probado por Rodríguez, *et al*<sup>31</sup> en modelos de daño provocado por la administración del ácido kaínico, un agonista de los receptores AMPA/kainato o ácido quinolínic, un agonista

de los receptores NMDA para glutamato. Todas estas evidencias apoyan los resultados del presente trabajo, asociando los distintos blancos terapéuticos con la eficacia anti-apoptótica y promotora de la recuperación funcional del tratamiento administrado sólo o combinado de FB y DDS.

### CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que la administración de fenobarbital y dapsona solos o en combinación en etapa aguda de la lesión, disminuye la actividad de caspasa3 ejecutora e incrementa el desempeño funcional motor en los animales al ser comparados con el grupo control, mostrando mejor eficacia terapéutica en la terapia combinada. Con estos hallazgos proponemos que dicho tratamiento puede ser útil como tratamiento de pacientes con lesión traumática de la médula espinal, ya que ambos fármacos han demostrado ser seguros y eficaces.

### REFERENCIAS

- Lee BB, Cripps RA, Fitzharris M, Wing PC. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate. *Spinal Cord* 2014; 52(2):110-6.
- Torres S, Salgado-Ceballos H, Guizar-Sahagún G, Torres JL. Deleterious versus neuroprotective effect of metabolic inhibition after traumatic spinal cord injury. *Spinal Cord* 2009; 47(10):745-50.
- Park E, Velumian AA, Fehlings MG. The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *J Neurotrauma* 2004; 21(6):754-74.
- Díaz-Ruiz A, Ríos C, Duarte I, Correa D, Guizar-Sahagún G, Grijalva I, et al. Lipid peroxidation inhibition in spinal cord injury: cyclosporin-A vs methylprednisolone. *Neuroreport* 2000; 11(8):1765-7.
- Titsworth WL, Liu NK, Xu XM. Role of secretory phospholipase A<sub>2</sub> in CNS inflammation: implications in traumatic spinal cord injury. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2008; 7(3):254-69.
- Springer JE. Apoptotic cell death following traumatic injury to the central nervous system. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35(1):94-105.
- Precht TA, Phelps RA, Linseman DA, Butts BD, Le SS, Laessig TA, et al. The permeability transition pore triggers Bax translocation to mitochondria during neuronal apoptosis. *Cell Death Differ* 2005; 12(3):255-65.
- Yip PK, Malaspina A. Spinal cord trauma and the molecular point of no return. *Mol Neurodegener* 2012; 8(7):6.
- Trinka E. What is the relative value of the standard anticonvulsants: Phenytoin and fosphenytoin, phenobarbital, valproate, and levetiracetam? *Epilepsia* 2009; 50 Suppl 12:40-3.
- Wallace AE, Kline AE, Montañez S, Hernandez TD. Impact of the novel anti-convulsant vigabatrin on functional recovery following brain lesion. *Restor Neurol Neurosci* 1999; 14(1): 35-45.
- Díaz-Ruiz A, Zavala C, Montes S, Ortiz-Plata A, Salgado-Ceballos H. Antioxidant, antiinflammatory and antiapoptotic effects of dapsona in a model of brain ischemia/reperfusion in rats. *J Neurosci Res* 2008; 86(15):3410-9.
- Wozel G, Blasum C. Dapsone in dermatology and beyond. *Arch Dermatol Res* 2014; 306(2):103-24.
- Ríos C, Nader-Kawachi J, Rodríguez-Payán AJ, Nava-Ruiz C. Neuroprotective effect of dapsona in an occlusive model of focal ischemia in rats. *Brain Res* 2004; 999(2):212-5.
- Díaz-Ruiz A, Salgado-Ceballos H, Montes S, Guizar-Sahagún G. Delayed administration of dapsona protects from tissue damage and improves recovery after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2011; 89(3):373-80.
- Sudha S, Lakshmana MK, Pradhan N. Phenobarbital in the anticonvulsant dose range does not impair learning and memory or alter brain AChE activity or monoamine levels. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54(3):633-8.
- Díaz-Ruiz A, Mendez-Armenta M, Galván-Arzate S, Manjarrez J, Nava-Ruiz C. Antioxidant, anticonvulsive and neuroprotective effects of dapsona and phenobarbital against kainic acid-induced damage in rats. *Neurochem Res* 2013; 38(9):1819-27.
- Ríos C, Orozco-Suarez S, Salgado-Ceballos H, Mendez-Armenta M. Anti-Apoptotic Effects of Dapsone After Spinal Cord Injury in Rats. *Neurochem Res* 2015; 40(6):1243-51.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1):265-75.
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device vs transection. *Exp Neurol* 1996; 139: 244-56.
- Takagi T, Takayasu M, Mizuno M, Yoshimoto M, Yoshida J. Caspase activation in neuronal and glial apoptosis following spinal cord injury in mice. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2003; 43(1):20-9.
- Knoblauch SM, Huang X, VanGelder J, Calva-Cerqueira D, Faden AI. Selective caspase activation may contribute to neurological dysfunction after experimental spinal cord trauma. *J Neurosci Res* 2005; 80(3):369-80.
- Ling X, Bao F, Qian H, Liu D. The temporal and spatial profiles of cell loss following experimental spinal cord injury: effect of antioxidant therapy on cell death and functional recovery. *BMC Neurosci* 2013; 18:14:146.
- Beattie MS, Hermann GE, Rogers RC, Bresnahan JC. Cell death in models of spinal cord injury. *Prog Brain Res* 2002;137:37-47.
- Baumgartner HK, Gerasimenko JV, Thorne C, Ferdek P. Calcium elevation in mitochondria is the main Ca<sup>2+</sup> requirement for mitochondrial permeability transition pore (mPTP) opening. *J Biol Chem* 2009; 284(31):20796-803.
- Bao F, Liu D. Hydroxyl radicals generated in the rat spinal cord at the level produced by impact injury induce cell death by necrosis and apoptosis: protection by a metalloporphyrin. *Neuroscience* 2004; 126(2):285-95.
- Ren Y, Young W. Managing inflammation after spinal cord injury through manipulation of macrophage function. *Neural Plast* 2013; 945034.
- Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(12):953-64.
- Barks JD, Liu YQ, Shangguan Y, Silverstein FS. Phenobarbital augments hypothermic neuroprotection. *Pediatr Res* 2010; 67(5):532-7.
- Sutula T, Cavazos J, Golarai G. Alteration of long-lasting structural and functional effects of kainic acid in the hippocampus by brief treatment with phenobarbital. *J Neurosci* 1992; 12: 4173-87.
- Rekling C. Neuroprotective effects of anticonvulsants in rat

- hippocampal slice cultures exposed to oxygen/glucose deprivation, *Neurosci Lett* 2003; 335: 167-70.
31. Rodríguez E, Méndez-Armenta M, Villeda-Hernández J, Galván-Arzate S. Dapsone prevents morphological lesions and lipid peroxidation induced by quinolinic acid in rat corpus striatum. *Toxicology* 1999; 139 (1-2):111-8.

---

ARTÍCULO SIN CONFLICTO  
DE INTERÉS

---