

TRABAJO FIN DE GRADO



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

**CORRELACIÓN ENTRE LA RESONANCIA
MAGNÉTICA DE IMÁGEN (RMI) Y LA
REGENERACIÓN HISTOLÓGICA DEL
NERVIO PERIFÉRICO**

Sonia de las Fuentes Galán

TUTOR: Manuel José Gayoso Rodríguez
COTUTORA: Sara Gayoso del Villar

ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
1.Histología del nervio periférico	3
2.Tipos de lesiones nerviosas	4
3.Fisiopatología de las lesiones nerviosas	5
4.Tratamientos de las lesiones nerviosas	7
5.Fundamentos de la resonancia magnética de imagen (RMI).....	7
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y MÉTODOS	10
RESULTADOS	11
1.Resultados histológicos	11
A. Nervio ileso o sano	11
B. Lesión por aplastamiento	11
C. Lesión por sección seguida de reparación quirúrgica	12
2.Resultados de resonancia magnética de imagen (RMI).....	13
A. Nervio ileso o sano	13
B. Lesión por aplastamiento	13
C. Lesión por sección seguida de reparación quirúrgica	14
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES.....	16
PALABRAS CLAVE.....	17
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
ANEXOS	20

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

Las lesiones de los nervios periféricos son un desafío constante por las potenciales secuelas funcionales a las que pueden dar lugar. Son lesiones complejas, que suelen suponer un reto en la práctica clínica, por lo que cualquier esfuerzo terapéutico para poder entender y mejorar los resultados de la reparación nerviosa representa un paso positivo dentro del abordaje general de esta afección. En este sentido, la investigación animal en la regeneración de los nervios periféricos, tanto a nivel histológico como de resonancia magnética de imagen (RMI) constituye un fiel modelo para avanzar en el conocimiento de la lesión.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realiza una revisión bibliográfica de la literatura existente sobre la regeneración nerviosa en modelos animales, en donde se haga una comparación de dicha regeneración a nivel histológico con la regeneración observada mediante resonancia magnética de imagen (RMI).

3. RESULTADOS

Los estudios revisados demuestran que existe una correlación entre la regeneración nerviosa observada a nivel histológico y la detectada por resonancia magnética de imagen (RMI).

Concretamente entre los parámetros estudiados se detecta una correlación negativa entre la carga de restos de mielina a nivel histológico y el aumento sostenido de los valores de T2 y de la potenciación de Gadofluorine en la RMI.

Por otro lado, los datos histológicos indican que los valores del parámetro conocido como anisotropía fraccional (AF) en las imágenes de tensor de difusión (DTI) de la RMI muestran una correlación positiva con el número total de axones regenerados.

4. CONCLUSIONES

La regeneración nerviosa periférica, es un hecho ampliamente demostrado a nivel histológico, sin embargo, lo interesante es saber si existe una correlación con los resultados de resonancia magnética de imagen (RMI), para poder potenciar el uso de esta técnica no invasiva en el estudio de la regeneración nerviosa. Tras el estudio realizado, se llega a la conclusión de que la RMI proporciona información microanatomica útil y de manera no invasiva, sobre el daño y la regeneración nerviosa, análoga a la determinada histológicamente, por lo que la RMI puede ser el futuro en la práctica clínica.

5. PALABRAS CLAVES

Regeneración nerviosa, Nervios periféricos, histología, morfometría, resonancia magnética de imagen (RMI), imagen del tensor de difusión (DTI)

INTRODUCCIÓN

1. HISTOLOGÍA DEL NERVIO PERIFÉRICO

a) Morfología de los nervios periféricos

El tejido nervioso periférico está compuesto por las neuronas que conducen las señales nerviosas y las células de sostén, conocidas como células de Schwann, que mantienen las neuronas en su lugar y limitan la diseminación de las señales. Los axones y las células de Schwann están rodeados por una cubierta de tejido conectivo denominada endoneuro, y por una pequeña cantidad de vasos sanguíneos llamados vasa nervorum que penetran en las vainas epineurales y perineurales hasta dividirse en un plexo capilar indefinido dentro del endoneuro. A su vez, los axones se agrupan en fascículos. El tejido conjuntivo que delimita cada fascículo se denomina perineuro. El nervio periférico es el resultado de la agrupación de varios fascículos bajo una cubierta de tejido conjuntivo denominada epineuro (Figura 1)^{1,2}.

b) Fibras mielínicas vs Fibras amielínicas

La conducción nerviosa en las fibras mielínicas se realiza a saltos, a diferencia de las amielínicas en donde es continua, ya que la mielina está interrumpida periódicamente por estrechamientos llamados nodos de Ranvier. Esta conducción saltatoria es mucho más rápida y requiere mucha menos energía que la propagación continua.

En este sentido, la velocidad de la conducción aumenta a medida que aumenta el calibre del axón, el espesor de la vaina de mielina producida por las células de Schwann y la distancia internodal. Continuando con el tema de la mielinización, la clasificación de Erlanger y Gasser, distingue fibras nerviosas tipo A, B y C según su contenido en mielina y la velocidad de la conducción. Las fibras tipo A, fuertemente mielinizadas, tienen una velocidad de conducción de hasta 20 m/s, las de tipo B, pobremente mielinizadas, transmiten los impulsos a una velocidad de hasta 15 m/s. Finalmente las de tipo C son amielínicas y de conducción lenta (hasta 2 m/s) ³.

2. TIPOS DE LESIONES NERVIOSAS

En 1943, Seddon definió tres niveles de lesión según su gravedad:

1. Neuroapraxia: una contusión edematiza el nervio y produce a lo sumo desmielinización focal, enlenteciendo transitoriamente la conducción de impulsos, pero no hay sección axonal ni del tejido conjuntivo.
2. Axonotmesis: lesión que secciona los axones más frágiles, pero se mantienen integra las envolturas de tejido conjuntivo.
3. Neurotmesis: interrupción tanto de los axones como de las envolturas de tejido conjuntivo ⁴.

En 1951, Sunderland introdujo una clasificación más detallada. En ella, los dos primeros grados son iguales que en la clasificación de Seddon, pero el tercero fue subdividido en tres grupos, tal y como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1: Comparativa de las clasificaciones de las lesiones nerviosas

Clasificación Seddon	Clasificación Sunderland	Patología	Pronóstico
Neuroapraxia	Grado I	Lesión mielínica o isquémica	Recuperación en semanas o pocos meses
Axonotmesis	Grado II	Pérdida axonal con tubos neuronales íntegros	Bueno, en función de las estructuras de soporte y la distancia al musculo
Neurotmesis	Grado III	Pérdida axonal con endoneuro lesionado, pero con perineuro y epineuro intactos	Bueno, en función de la distancia al musculo, aunque inferior a la anterior
	Grado IV	Pérdida axonal con endoneuro y perineuro lesionados, pero con epineuro intacto	Pobre con reinervación aberrante, por lo que puede necesitarse cirugía
	Grado V	Pérdida axonal con todos los tubos neurales lesionados	Sin probabilidad de recuperación espontanea, siendo necesario la cirugía

En 1988, Mackinnon y Dellon añadieron un nuevo grupo a la clasificación, el sexto grado, llamado lesión mixta o neuroma en continuidad, que combina diferentes tipos de lesiones en los distintos fascículos a lo largo del nervio.

3. FISIOPATOLOGÍA DE LAS LESIONES NERVIOSAS

Una lesión del nervio periférico, origina reacciones degenerativas a tres niveles:

- **Cambios en el cuerpo neuronal:** si la lesión es cercana al cuerpo neuronal, algunas neuronas pueden morir por pérdida de axoplasma. En las que sobreviven, se produce edema del cuerpo, desplazamiento del núcleo celular hacia la periferia y cromatolisis.

- **Cambios proximales a la lesión:** se produce una reacción fibrosa (neuroma) que trata de tapar ese cabo proximal para que no haya pérdidas de axoplasma neuronal y evitar la muerte de neuronas
- **Cambios distales a la lesión:** se produce la degeneración walleriana, que es la fragmentación de los axones que han quedado sin contacto con el cuerpo neuronal y de la mielina que es fagocitada por las células de Schwann y los macrófagos, vaciando así el contenido del tubo neural distal, en un tiempo de unos veintiún días. Todo este proceso termina con la formación de los cordones de Büngner, constituidos por células de Schwann ordenadas en columnas, los cuales quedan preparados para recibir el nuevo axón ⁵.

Además de la degeneración walleriana, Waller definió la regeneración walleriana, siendo desde el extremo proximal del nervio donde nacen nuevas ramas en longitud y diámetro, en dirección al extremo distal para crear nuevas conexiones sinápticas, restableciéndose así la continuidad de la fibra y su funcionalidad. A los días, los axones del foco de la lesión intentan regenerarse, lanzando unos brotes o filopodios que avanzan en busca de un tubo endoneural distal, a una velocidad de 1mm/d. Todo este proceso está influenciado por la composición molecular del ambiente, lo que se conoce como quimiotaxis, cuya existencia fue demostrada por Cajal. Existen también factores neurotróficos y promotores del crecimiento axonal, secretados por macrófagos y células de Schwann, que favorecen la regeneración. En este sentido, Dellon definió dos conceptos importantes, el neurotrofismo o capacidad de influir sobre la maduración de la fibra nerviosa, y el neurotropismo o capacidad de influir sobre la dirección de su crecimiento. Cuando el axón contacta con el órgano diana se debe reconstruir la sinapsis y recuperarse el órgano de sus cambios atróficos sufridos durante el periodo de denervación. Como las fibras musculares se atrofian y se dañan irreversiblemente hacia los 18 meses, habremos de tener en cuenta la longitud de la lesión y el tiempo transcurrido, para prever las posibilidades de recuperación⁶.

4. TRATAMIENTOS DE LAS LESIONES NERVIOSAS

Se opta por tratamiento conservador, mediante observación y ejercicios de rehabilitación en todas las neurapraxias y en la mayoría de las axonotmesis. Sin embargo, un pequeño porcentaje de axonotmesis no conseguirá recuperarse por sí sólo, debido a que si el traumatismo inicial produjo mucha inflamación, se forma en ocasiones tejido cicatricial que bloquea el acceso de los axones en proliferación al tejido conjuntivo distal, en este caso, el tratamiento consiste en extirpar quirúrgicamente este tejido cicatricial, mediante neulolisis. En los casos de lesiones de tipo neurotmesis, la ausencia de reinervación espontánea hace que la intervención quirúrgica sea imprescindible. La técnica de elección para realizar la reparación nerviosa dependerá de la distancia entre ambos cabos nerviosos, pudiendo ir desde la neurorrafia directa sin tensión, a la interposición de un injerto nervioso o la colocación de un tutor tipo injerto venoso o tubo de silicona. Afortunadamente en la mayoría de los casos es posible realizar la neurorrafia directa mediante sutura epiperineural, lo que ofrece los mejores resultados funcionales y el menor tiempo de recuperación. El objetivo de la sutura epiperineural es la restauración del patrón de inervación original, ya que suturando cabo a cabo los fascículos, se reduce la posibilidad de escape o distorsión de los axones nacientes. Esto implica llevar a cabo una correcta alineación axial de los fascículos por aposición directa ^{7,8}.

5. FUNDAMENTOS DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA DE IMAGEN (RMI)

La Resonancia Magnética de Imagen (RMI) es una rama de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), capaz de obtener imágenes sobre la anatomía y fisiopatología de distintos órganos y estructuras. Los escáneres de RMI constan de tres elementos fundamentales. Un imán que genera un campo magnético permanente, unas bobinas que se encuentran dentro del imán, donde se distinguen bobinas transmisoras que son las responsables de la transmisión de los pulsos de radiofrecuencia (RF) que excitan a los protones, y unas bobinas receptoras que recogen la señal emitida por los protones excitados, y finalmente un ordenador que procesa las señales de RF que reciben las bobinas receptoras y genera una imagen (Figura 2)⁹.

Para ello, la RMI utiliza los núcleos atómicos de hidrógeno. Los núcleos atómicos de Hidrógeno presentan un movimiento de rotación sobre sí mismo, denominado espín; y poseen una única carga, un protón positivo. Ambas cosas explican, que se comporten como un pequeño imán denominado momento magnético que permite generar señal de RMI. Las bobinas transmisoras envían un pulso electromagnético denominado pulso de radiofrecuencia (RF). Al aplicarse este campo magnético, los momentos magnéticos se reorientan pudiendo tomar sólo dos orientaciones específicas: en forma paralela o antiparalela a la dirección del campo aplicado. Los niveles de energía de los protones van a determinar si son paralelos o perpendiculares al campo. Los que tengan un bajo nivel de energía van a estar paralelos, mientras que los que tengan un alto nivel de energía estarán por tanto en una posición perpendicular al campo magnético. Cuando se inactiva el pulso de RF, los protones que han sido desplazados, es decir aquellos que han variado su orientación tras el pulso enviado por las bobinas transmisoras, se relajan y realinean; y la energía que se ha liberado a partir de ese momento en forma de señales de radiofrecuencia es detectada por las bobinas receptoras ⁹.

Esta serie de procesos físicos en los que los protones de Hidrógeno se excitan y luego al cesar la excitación, vuelven a su estado original, poseen unos tiempos de relajación que se denominan T1 y T2, que se pueden explicar gracias a dos parámetros importantes, los parámetros TR y TE, los cuales modifican la forma en la que se potencia la imagen. TR es el tiempo de repetición entre dos pulsos de RF e influye en la intensidad de potenciación en T1. TE es el tiempo que transcurre entre un pulso de RF y su eco resultante, influyendo en la intensidad de la potenciación en T2. Esto es la base de las técnicas de potenciación en T1 y T2:

- Potenciación en T1: Las secuencias de pulso que presentan un período corto entre los pulsos de RF (TR corto) generan una imagen potenciada en T1.
- Potenciación en T2: Si las secuencias de pulso muestran un TE largo, significa que entre el pulso de RF y el eco hay un gran espacio de tiempo, y se genera por tanto una imagen potenciada en T2 ⁹.

En algunos casos, la diferencia en los índices de relajación entre los tejidos normales y los enfermos es demasiado pequeña para ser detectada. Para solucionar esto, se usan agentes paramagnéticos de contraste, como el gadolinio, que tiene una fuerte afinidad por los tejidos nerviosos degenerados, y por lo tanto se ha aplicado con éxito para controlar la regeneración nerviosa. Esto es la base de la técnica de RMI conocida como Gadofluorine M-enhanced.

Por otro lado, el gran desarrollo de los métodos de RMI para incrementar el estudio de la enfermedad del sistema nervioso ha aumentado el número de modalidades disponibles para la evaluación de la patología del nervio periférico, una de ellas son las imágenes de tensor de difusión (DTI). La DTI es una técnica de RMI emergente que permite evaluar la integridad axonal, utilizando el movimiento térmico aleatorio de las moléculas de agua dentro de los tejidos a lo largo de diferentes ejes. Estas mediciones se ajustan en un elipsoide de difusión en 3D, denominado modelo de tensor, que permite la generación de varios parámetros de contraste. Entre estos parámetros, el más importante es la anisotropía fraccional (AF).

Para terminar, cabe destacar que la RMI tiene importantes ventajas sobre otros procedimientos de imagen ya que no usa radiaciones ionizantes, tiene gran resolución espacial, temporal y tisular, capacidad tridimensional y puede hacer estudios funcionales. Entre sus desventajas está que no puede utilizarse en pacientes con marcapasos cardíacos, y que algunas personas no toleran la RMI debido a claustrofobia, aunque existen máquinas de RMI abiertas que obvian este inconveniente; otras desventajas son el alto coste económico y la limitada disponibilidad, aunque poco a poco este inconveniente se está dejando de lado al abaratare la tecnología para ser más accesible.

OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo demostrar que existe una correlación entre la regeneración nerviosa del nervio periférico observada a nivel histológico y la establecida por RMI, para poder potenciar el uso de la RMI como medida no invasiva a nivel de la práctica clínica, en el estudio de las lesiones nerviosas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de una revisión narrativa de la bibliografía sobre la regeneración nerviosa en modelos animales, a nivel histológico y de resonancia magnética de imagen (RMI), para determinar una posible correlación entre ambas.

Para tener una idea general sobre el proceso de regeneración nerviosa, se comienza revisando libros de Histología prestados por el departamento de biología celular, histología y farmacología de la Facultad de Medicina de Valladolid, incluyendo una tesis con mención de Doctor internacional, realizada con la colaboración de dicho departamento. A continuación, se realizaron las siguientes búsquedas bibliográficas:

- Publicaciones científicas en la base de datos Pubmed, empleando los siguientes términos: nervous regeneration, histology, magnetic resonance imaging, Peripheral nerves
- Se realiza una búsqueda bibliográfica general sobre guías y estudios, tomando como criterio la regeneración nerviosa a nivel de histología y resonancia magnética de imagen (RMI), usando el buscador de Medline y de Google Académico.

Con el objetivo de seleccionar aquellos estudios que fueran relevantes para nuestra revisión, se descartaron aquellos cuyo título o resumen no fuera acorde con el tema de interés. Después de llevar a cabo este primer filtro, se marcaron unos criterios de inclusión a nivel de histología y de resonancia magnética de imagen (RMI), para restringir nuestra búsqueda.

El enfoque de interés a nivel histológico, se centró en los estudios obtenidos con las técnicas de Microscopía de luz y Microscopía electrónica, que revisaran la utilidad de los siguientes parámetros para determinar el proceso de regeneración nerviosa periférica de un segmento nervioso:

- Cuantificación de la tinción de mielina
- Número de macrófagos activados
- Número de axones en regeneración

Por otro lado, los criterios de inclusión que se marcaron para seleccionar los estudios a nivel de resonancia magnética de imagen (RMI), fue que investigaran la Intensidad de la señal nerviosa (S1) y el tiempo de relajación, con las siguientes técnicas:

- Imágenes ponderadas en T1 y ponderadas en T2
- Gadofluorine M-enhanced MR
- La imagen del tensor de difusión (DTI)

Una vez seleccionados, los estudios válidos, se revisó su contenido en profundidad, incluyendo directa o indirectamente sus resultados, para así poder llegar a las conclusiones apropiadas.

RESULTADOS

HISTOLÓGICOS

Nervio ileso o normal

1. Microscopía de luz y microscopía electrónica

Los diferentes estudios revisados sobre la apariencia normal de un nervio periférico en microscopía de luz y microscopía electrónica muestran la distribución normal de axones mielinizados pequeños y grandes, así como la arquitectura normal de mielina, tal y como se observa en la Figura 3^{10,11}.

Lesión por aplastamiento

El aplastamiento es una lesión reversible, compatible generalmente con un neuroapraxia u axonotmesis.

1. Microscopía de luz y microscopía electrónica

Los diferentes estudios revisados sobre la apariencia de un nervio periférico lesionado por aplastamiento en microscopía de luz y microscopía electrónica muestran las imágenes típicas que se pueden ver en la Figura 4^{10,11}. Por otro

lado, la imagen típica del proceso de regeneración de la lesión nerviosa por aplastamiento se puede observar en la Figura 5^{10,11}.

Lesión por sección seguida de reparación quirúrgica

La sección de un nervio es sinónimo de neurotmesis, por lo que requiere una reparación quirúrgica para que la regeneración nerviosa sea posible. Tras revisar los estudios publicados diferenciamos dos grupos de regeneración según esté mejorada con diversas técnicas, como por ejemplo, la inyección de lipopolisacárido agonista del receptor 4 tipo toll (LPS), frente a una regeneración nerviosa no mejorada, llegando a las siguientes conclusiones.

1. Microscopía de luz

- La cuantificación de la tinción de mielina con azul rápido de Luxol (LFB), tras medir el área proporcional del tejido ocupado por el etiquetado dentro de toda el área de la sección transversal usando un microscopio equipado con un sistema de análisis de imágenes digitales, asocia la regeneración nerviosa con una eliminación rápida de los restos de mielina y con una mayor cuantificación de la mielina teñida durante el proceso de recuperación (Gráfico 1)¹².
- La tinción de inmunofluorescencia y posterior observación mediante un microscopio de escaneo láser confocal, determina los siguientes marcadores de la regeneración nerviosa:
 - Elevado reclutamiento de macrófagos durante la degeneración nerviosa. Para ello, las secciones nerviosas deben ser incubadas con anticuerpos primarios contra el grupo de diferenciación 68 (CD68) para detectar los macrófagos activados (Gráfico 2)¹².
 - Mayor número de axones en regeneración, lo que se detecta por una mayor expresión de SPPR1A que es una proteína rica en prolina 1A que detecta axones en regeneración (Gráfico 3)¹².

2. Microscopía electrónica

Los diferentes estudios revisados sobre la apariencia de un nervio periférico lesionado por sección completa en microscopía electrónica muestran la imagen típica que se puede observar en la Figura 6^{13,14}.

RESONANCIA MAGNÉTICA DE IMAGEN (RMI)

Nervio ileso o normal

1. Imágenes de tensor de difusión (DTI)

Las imágenes de tensor de difusión (DTI), son una técnica basada en resonancia magnética, que proporciona contraste de imagen para los tractos nerviosos y se puede aplicar en serie en el mismo sujeto con el potencial de controlar el contenido de fibra nerviosa. Tras revisar los estudios existentes, sobre DTI y tractografía de nervios periféricos no lesionados, se determinó que los nervios periféricos normales pueden delinearse a partir de los tejidos circundantes, tal y como se muestra en la Figura 7^{13,14}.

Lesión por aplastamiento

1. Imágenes de tensor de difusión (DTI)

Tras revisar los estudios, en los que se examina el uso de DTI de alta resolución ex vivo para la formación de imágenes de la regeneración nerviosa de los nervios periféricos lesionados por aplastamiento, se llegó a la conclusión de que los valores de FA son más bajos en los segmentos nerviosos aplastados que en los no lesionados, pero esta señal se restablece hacia la normalidad en los segmentos nerviosos en regeneración, como se muestra en la Figura 8^{13,14}.

Además, los estudios que correlacionan los datos histológicos con las imágenes de tensor de difusión (TDI), determinan que existe una correlación positiva significativa entre el valor de la anisotropía fraccional (AF) y el número total de axones mielinizados, como se muestra en el Gráfico 4^{13,14}.

Lesión por sección seguida de reparación quirúrgica

1. Imágenes de tensor de difusión (DTI)

Tras la revisión de los estudios en los que se examina el uso de DTI de alta resolución para formar imágenes tras una sección completa del nervio periférico, se observó que en los nervios transeccionados la orientación del tracto fibroso no está bien alineada y desaparecen distalmente a la lesión (Figura 9). Además, se evidencia que los valores de anisotropía fraccional (AF) son significativamente más bajos en los segmentos nerviosos completamente denervados en comparación con el nervio periférico normal (Gráfico 5)^{13,14}.

2. Gadofluorina M-potenciada T1WI:

Tras revisar los diferentes estudios de resonancia magnética de imagen (RMI) que usaron técnicas de Gadofluorina M-RM, para determinar los parámetros que se correlacionan con la regeneración nerviosa, se encontró que el acumulo de gadofluorina M se asocia con el proceso de degeneración, mientras que su disminución marca la regeneración (Figura 10)¹².

3. Imágenes ponderadas en T2:

Se revisaron diferentes estudios sobre técnicas de RMI ponderadas en T2, para determinar los parámetros que se correlacionan con la regeneración nerviosa, obteniéndose los siguientes resultados:

- El aumento de la intensidad de la señal nerviosa (SI) se asocia con el proceso de degeneración nerviosa, mientras que su descenso se asocia con la regeneración
- Los marcadores de una adecuada regeneración son la detección de tiempos de relajación en T2 prolongados durante la fase degenerativa, así como un retorno rápido a nivel basal (Figura 11)^{12,15}.

La clave por lo tanto, es un rápido retorno al nivel basal, de los diferentes parámetros estudiados. Este retorno es más rápido en los grupos tratados con LPS ya que tienen una regeneración mejorada. Además, en general los valores de T2 muestran un retorno más rápido al nivel basal que la mejora con gadofluorina, como se muestra en Gráfico 6¹².

DISCUSION

La necesidad de medidas diagnósticas objetivas y no invasivas de la regeneración axonal en los nervios periféricos es cada vez mayor. En este sentido, los modelos experimentales de animal, han permitido estudiar la regeneración nerviosa, tanto a nivel histológico como a nivel de imagen mediante resonancia magnética de imagen (RMI), buscando una posible correlación entre ambos resultados, mediante el estudio de diferentes parámetros, valorando la correlación que existe entre ellos.

La histología revela que cuanto menor carga de restos de mielina haya en el nervio distal durante la fase degenerativa, el aumento sostenido de los valores de T2 en la RMI es mayor. Probablemente la causa que explica esta correlación entre parámetros histológicos y de resonancia magnética de imagen (RMI), es el aumento del contenido de agua extracelular que se asocia con un espacio extracelular relativamente más grande dejado por el aclaramiento de restos de mielina precedente.

Por otro lado, los estudios muestran que la Gadofluorine M, puede entrar en los nervios a través de una barrera sangre-nervio alterada e interactuar con proteínas locales de la matriz extracelular, quedando localmente atrapados en las fibras nerviosas degenerativas. La causa probable de que también exista una correlación negativa entre la carga de restos de mielina y el aumento sostenido de la potenciación de Gadofluorine, es un aumento del volumen extracelular en los tejidos nerviosos degenerados, permitiendo que la gadofluorina se una a la matriz extracelular.

Otra manera más interesante de verlo, es que un aumento sostenido en los valores de T2 o la potenciación pronunciada de gadofluorina en el nervio degenerativo indica un mejor efecto de eliminación de restos de mielina, y por lo tanto una mejor recuperación nerviosa, sin necesidad de realizar ninguna técnica invasiva diagnóstica¹⁶.

A nivel de las Imágenes de tensor de difusión (DTI), los datos histológicos indican que los valores del parámetro conocido como anisotropía fraccional (AF) muestran una correlación positiva con el número total de axones regenerados.

CONCLUSIONES

Los estudios histológicos pueden proporcionar resultados definitivos de la regeneración en modelos animales. Concretamente, los parámetros histológicos marcadores de regeneración nerviosa adecuada, son un mayor reclutamiento de macrófagos y una eliminación más rápida de los restos de mielina en la etapa degenerativa, con una posterior regeneración axonal más prominente y proliferación de células de Schwann en la etapa regenerativa.

Por otro lado, los patrones que predicen la regeneración nerviosa mediante RMI, son el un aumento sostenido de la potenciación de gadofluorina y los tiempos de relajación de T2 en la fase degenerativa, seguido de un regreso a los valores de T2 basales o una disminución en la potenciación de gadofluorina; siendo el tiempo de relajación T2 más sensible que la imagen con gadofluorina M-RM para detectar dicha regeneración nerviosa. Además, estos patrones son más intensos si la reparación nerviosa es mejorada, con la inyección de cualquier sustancia que promueva la regeneración. De manera, que en los casos de reparación nerviosa mejorada se obtiene un aumento de gadofluorina más pronunciado y valores T2 más prolongados durante la fase degenerativa, así como una depuración más rápida de los residuos de mielina observada a nivel histológico, y posteriormente una regeneración axonal más pronunciada, que en las regeneraciones nerviosas no mejoradas.

A nivel de la técnica de Imagen de Tensor de difusión (DTI), se muestra que el aumento de la anisotropía fraccional se asocia con la regeneración nerviosa observada por histología. De manera, que la reducción en AF se puede observar a nivel distal de los nervios periféricos degenerados, por lesión por aplastamiento o sección. En casos de transección completa del nervio, sin reparación, estos procesos son irreversibles y conducen a una degeneración completa y permanente. En casos menos severos, como una lesión por aplastamiento, la degeneración inicial es seguida por la regeneración, que se caracteriza por un aumento de la anisotropía fraccional a medida que los axones se regeneran.

Tras estudiar los diferentes métodos de Resonancia Magnética de Imagen (RMI) comentados para determinar si sus cambios se correlacionan con los cambios en la microestructura del nervio periférico a nivel histológico, los tiempos de relajación T2 han demostrado que tienen el mayor potencial para esta aplicación.

Aunque la evaluación histológica sigue siendo el mejor método para caracterizar las lesiones; requiere un tiempo considerable y se debe realizar después de la muerte. Por ello, los parámetros histológicos no son adecuados para estudios de cribado en la práctica clínica, al ser una técnica invasiva. Dado que numerosos estudios han demostrado la correlación existente entre los ya comentados parámetros histológicos, con los patrones típicos de regeneración nerviosa en la resonancia magnética de imagen (RMI), el interés por esta técnica ha crecido exponencialmente, lográndose un gran progreso de la misma, y son muchos los estudios que abren nuevas perspectivas en la evaluación de trastornos del sistema nervioso periférico, con el uso RMI para evaluaciones in vivo en la práctica clínica

PALABRAS CLAVE

Regeneración nerviosa, Nervios periféricos, histología, morfometría, resonancia magnética de imagen (RMI), imagen del tensor de difusión (DTI)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Camargo LH, Sarmiento L, Caldas M. Morfometría del nervio ciático de la rata adulta normal. *Biomédica*. 2001; 21 (1): 307-9.
2. Prada Cañizares A, Monteagudo de la Rosa M. Sistema nervioso periférico. En: Ríos Blanco JJ, director. *Manual de traumatología y Cirugía Ortopédica*. 10 Edición. Madrid: CTO; 2018.
3. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principios de neurociencia. Vol 4, Citología de las neuronas. Madrid: McGraw-Hill; 2001. 67-87p.
4. García Medrano B. Regeneración de las lesiones críticas del nervio periférico con factores de crecimiento [Estudio experimental]. Valladolid: Tesis con mención de doctor internacional; 2013.
5. Campbell W. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol*. 2008; 119(9):1951-65.
6. Dent, M. Daño y reparación del sistema nervioso. *Ciencia Ergo Sum*. 2003, 10 (1).
7. González Gay OT, Almaguer Melián W, Gómez Fernández L, Minou Báez Martín M, Bergado Rosado JA. Un método experimental para lesionar un nervio periférico y evaluar conductualmente la recuperación y el efecto de tratamientos restaurativos. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2011; 30 (2).
8. Geuna S, Tos P, Battiston B. Preface: Essays on peripheral nerve repair and regeneration. *Int Rev Neurobiol*. 2009; 87 (1):21-22.
9. Molina Domínguez B. Resonancia magnética de imagen para el diagnóstico de deficiencias oculares. Sevilla: Trabajo de fin de grado; 2017.
10. Valentine HL, Does MD, Marshall V, Tonkin EG, Valentine M. Multicomponent T2 analysis of dithiocarbamate-mediated peripheral nerve demyelination. *Neurotoxicology*. 2007; 28(3):645-54.
11. Bilego Neto AP, Silveira FB, Rodrigues da Silva GA, Sanada LS, Fazan VP. Reproducibility in nerve morphometry: comparison between methods and among observers. *Biomed Res Int*. 2013; 13 (1):682-849.

12. Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014; 35(8):1608-14.
13. Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. *Exp Neurol.* 2010; 223(1):238-44.
14. Boyer RB, Kelm ND, Riley DC, Sexton KW, Pollins AC, Shack RB, Dortch RD, Nanney LB, Does MD, Thayer WP. 4.7-T diffusion tensor imaging of acute traumatic peripheral nerve injury. *Neurosurg Focus.* 2015; 39(3).
15. Webb S, Munro CA, Midha R, Stanisiz GJ. Is multicomponent T2 a good measure of myelin content in peripheral nerve. *Magn Reson Med.* 2003; 49(4):638-45.
16. Ahlawat S, Belzberg AJ, Fayad LM. Utility of Magnetic Resonance Imaging for Predicting Severity of Sciatic Nerve Injury. *J Comput Assist Tomogr.* 2018; 10 (1).

ANEXOS

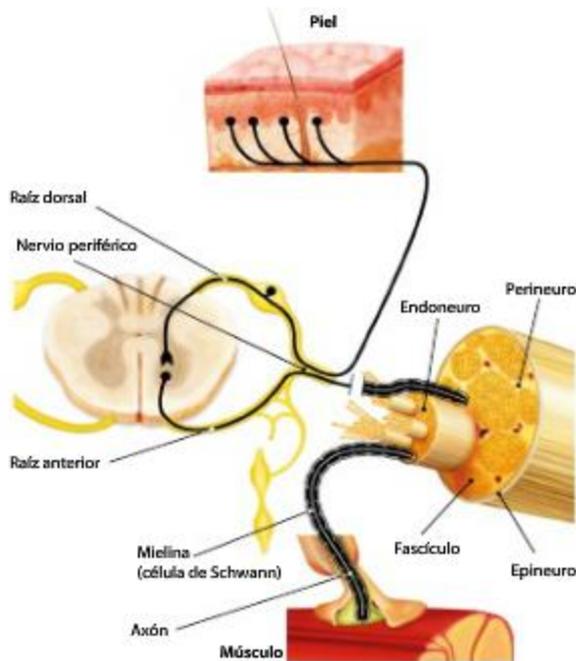


Figura 1: Estructura del nervio periférico. (Prada Cañizares Alfonso, Monteagudo de la Rosa Manuel. Sistema nervioso periférico. En: Ríos Blanco Juan José, director. Manual de traumatología y Cirugía Ortopédica. 10 Edición. Madrid: CTO; 2018.)

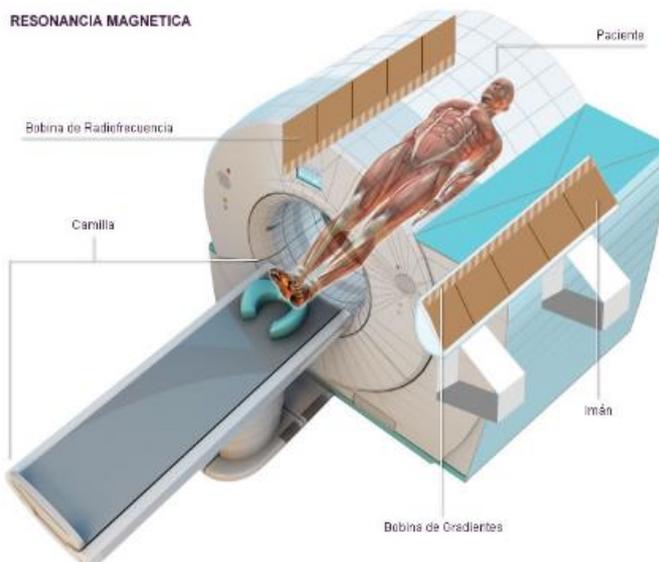


Figura 2: Componentes que constituyen el escáner de MRI. (Molina Domínguez Beatriz. Resonancia magnética de imagen para el diagnóstico de deficiencias oculares. Sevilla: Trabajo de fin de grado; 2017).

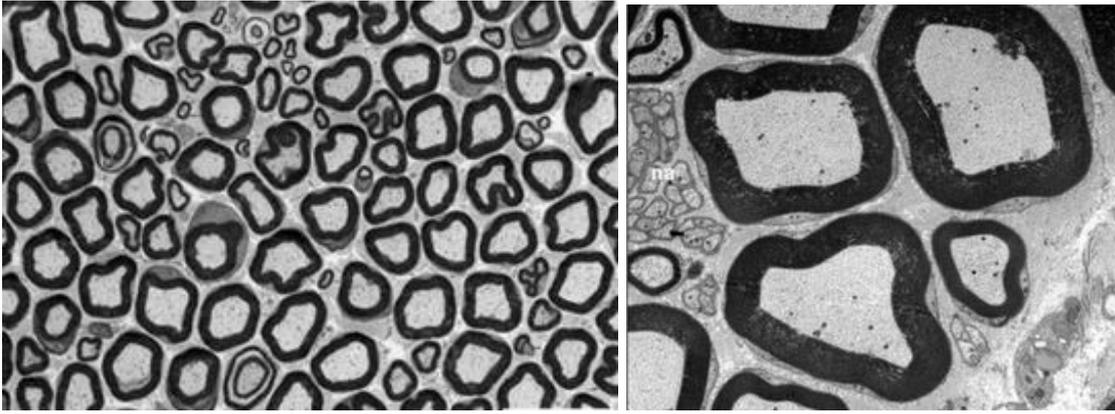


Figura 3: Morfología de las secciones transversales del nervio ciático normal en microscopía de luz teñidas con azul de toluidina (A) y microscopía electrónica (B) que representan la distribución normal de axones mielinizados pequeños y grandes así como la arquitectura normal de mielina. En la figura 2B, se muestran axones mielinizados grandes y pequeños y axones no mielinizados. Los axones mielinizados están rodeados por mielina compacta, citoplasma de células de Schwann y lámina basal. Varios pequeños grupos de axones no mielinizados (na) están presentes en el borde izquierdo con cada grupo de axones rodeados por la lámina basal de una célula de Schwann no mielinizante. (Valentine HL, Does MD, Marshall V, Tonkin EG, Valentine WM. Multicomponent T2 analysis of dithiocarbamate-mediated peripheral nerve demyelination. *Neurotoxicology*. 2007; 28(3):645-54)

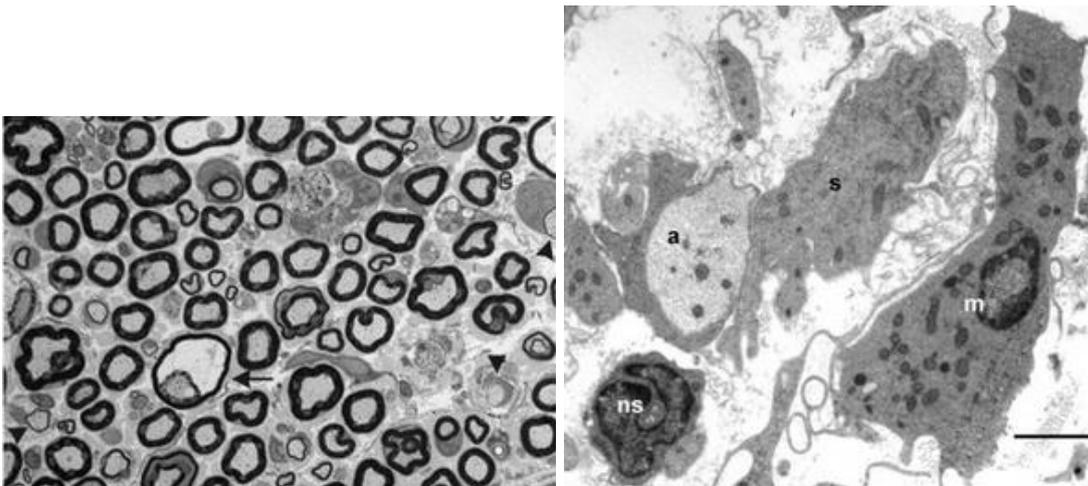


Figura 4: Morfología de las secciones transversales del nervio ciático lesionado por aplastamiento en microscopía de luz teñidas con azul de toluidina (A) y en microscopía electrónica (B). La figura A muestra la presencia de axones desmielinizados y con adelgazamiento mielínico (puntas de flecha) y edema intramielínico (flechas). La disminución de la densidad del axón como resultado de la degeneración axonal secundaria también fue evidente. La figura B muestra un axón desmielinizado (a) rodeado por los procesos de una célula (s) de Schwann asociada que posee una lámina basal. También están presentes un axón no mielinizado y su célula de Schwann asociada (ns) que ha sido seccionada a través de su núcleo. Una gran célula nucleada alargada (m) con pseudópodos y sin lámina basal es consistente con un macrófago activado. (Valentine HL, Does MD, Marshall V, Tonkin EG, Valentine WM. Multicomponent T2 analysis of dithiocarbamate-mediated peripheral nerve demyelination. *Neurotoxicology*. 2007; 28(3):645-54)

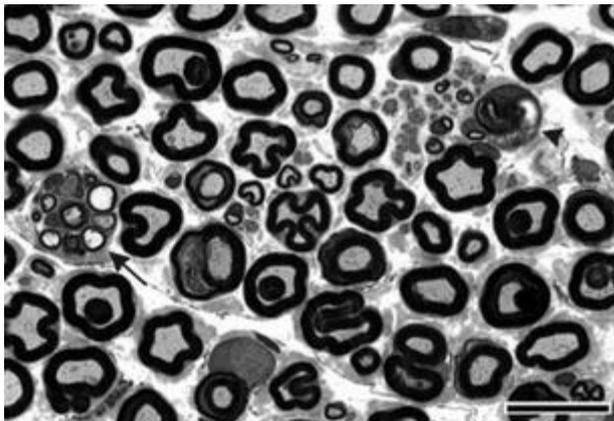


Figura 5: Morfología de las secciones transversales del nervio ciático regenerando tras una lesión por aplastamiento. Se presenta un axón degenerado (cabeza de flecha) con brotación axonal (flecha) que demuestra la regeneración axonal. (Valentine HL, Does MD, Marshall V, Tonkin EG, Valentine WM. Multicomponent T2 analysis of dithiocarbamate-mediated peripheral nerve demyelination. *Neurotoxicology*. 2007; 28(3):645-54)

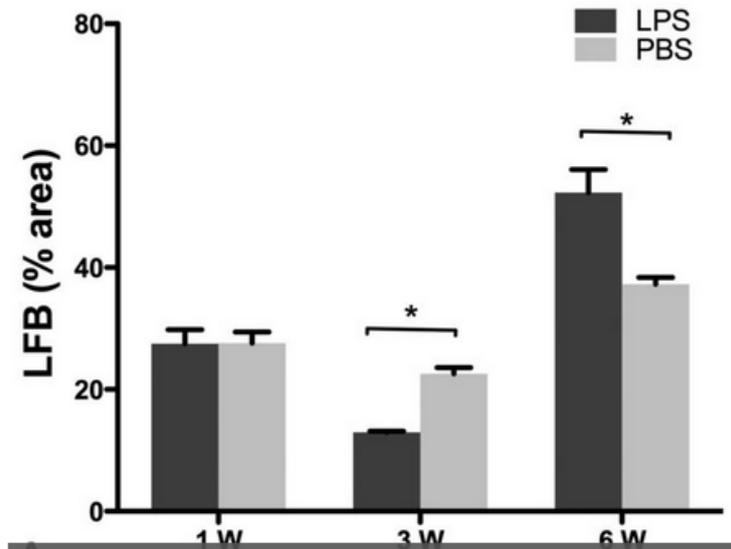


Grafico 1: Cuantificación de mielina teñida con LFB medida por segmento nervioso, a la semana, tres semanas y 6 semanas postcirugía, en el grupo tratado con LPS y tratado con PBS. A la semana post-cirugía, se muestra una hinchazón de mielina similar en los nervios tratados con LPS y en los tratados con PBS. A las tres semanas post-cirugía, la reparación nerviosa de los nervios a los que se les inyectó LPS presenta una eliminación más rápida de restos de mielina, marcador de adecuada regeneración nerviosa. Finalmente, a las seis semanas post-cirugía, hubo remielinización más prominente en el grupo LPS que en el grupo PBS, coincidiendo con la etapa de reparación. (Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. AJNR Am J Neuroradiol. 2014; 35(8):1608-14)

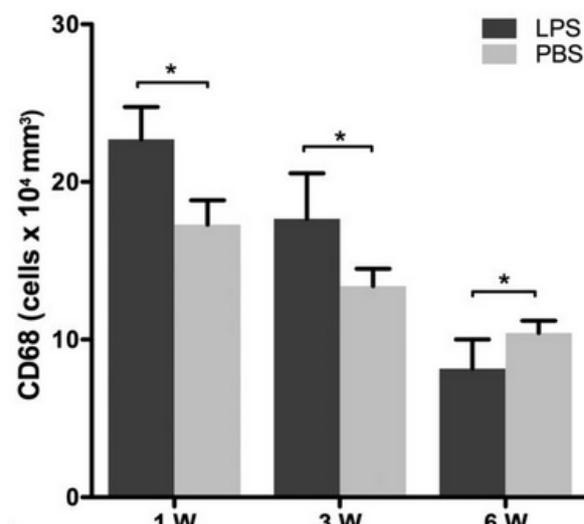


Grafico 2: N° de macrófagos medidos por segmento nervioso, a la semana, tres semanas y 6 semanas postcirugía, en el grupo tratado con LPS y tratado con PBS. El número de macrófagos CD68 + fue significativamente mayor en el grupo tratado con LPS a la semana y a las 3 semanas, coincidiendo con la fase de degeneración nerviosa, lo que es un adecuado marcado de regeneración.(Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. AJNR Am J Neuroradiol. 2014; 35(8):1608-14)

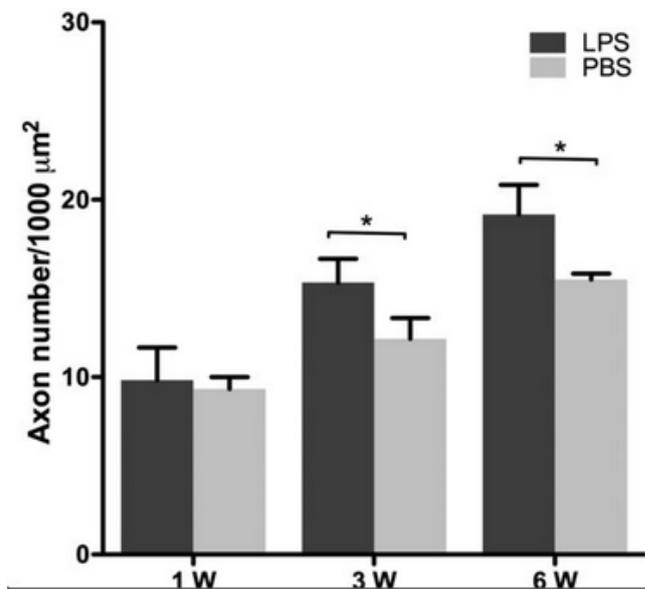


Grafico 3: Número de axones en regeneración medidos por segmento nervioso, a la semana, tres semanas y 6 semanas postcirugía, en el grupo tratado con LPS y tratado con PBS. El número de axones en regeneración fue mayor en el grupo tratado con LPS a partir de las 3 semanas post-cirugía, coincidiendo con el comienzo de la reparación nerviosa, lo cual es un adecuado marcador de regeneración.(Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. AJNR Am J Neuroradiol. 2014; 35(8):1608-14)

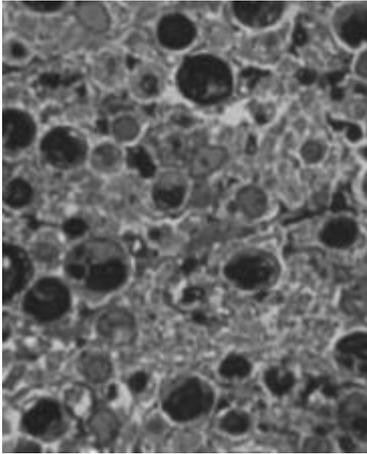


Figura 6: Micrografía representativa de luz de un nervio ciático 10 días después de la sección del nervio (B), donde se muestra como en el día 10 después de la transección todos los axones se degeneran. (Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. Exp Neurol. 2010; 223(1):238-44)

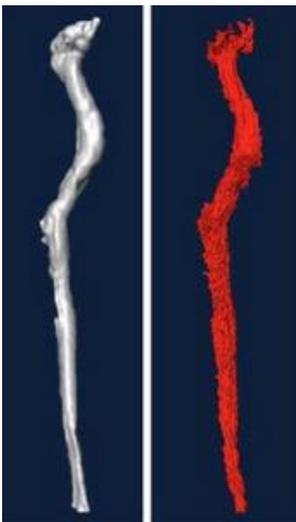
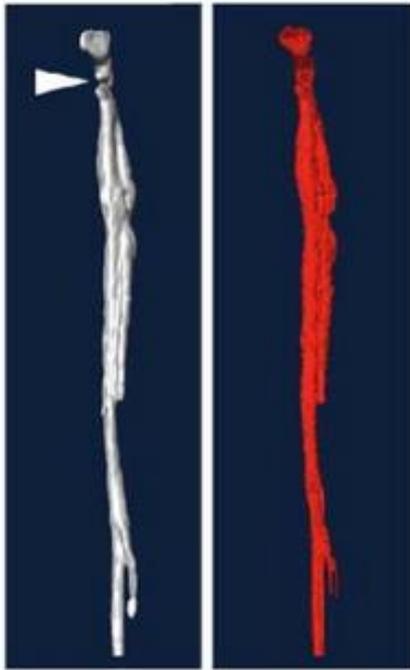


Figura 7: Imagen de tensor de difusión con reconstrucción tridimensional y tractografía de nervios periféricos de ratón ex vivo. El seguimiento de la fibra con un umbral medio de anisotropía fraccional (AF) de 0.5 se realizó con los datos del tensor de difusión recogidos de los nervios no lesionados, mostrando los tractos de fibra orientados longitudinalmente. Dado que no hay ninguna lesión, las imágenes tomadas son idénticas tras 17 días después.(Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. Exp Neurol. 2010; 223(1):238-44)



crush 17d

Figura 8: Imagen de tensor de difusión con reconstrucción tridimensional y tractografía de nervios periféricos de ratón ex vivo. El seguimiento de la fibra con un umbral AF de 0.5 se realizó con los datos del tensor de difusión recogidos en la regeneración de los nervios 17 días después de la lesión por aplastamiento, en etapa de regeneración. Se expone toda la muestra de tejido nervioso (izquierda, gris, reconstruida a partir de imágenes potenciadas en T2) y el resultado del seguimiento de fibra (derecha, roja). Las flechas marcan el sitio de aplastamiento (blanco). El seguimiento de la fibra puede visualizar la degeneración y regeneración del axón en la lesión del nervio ciático del ratón. (Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. *Exp Neurol.* 2010; 223(1):238-44)

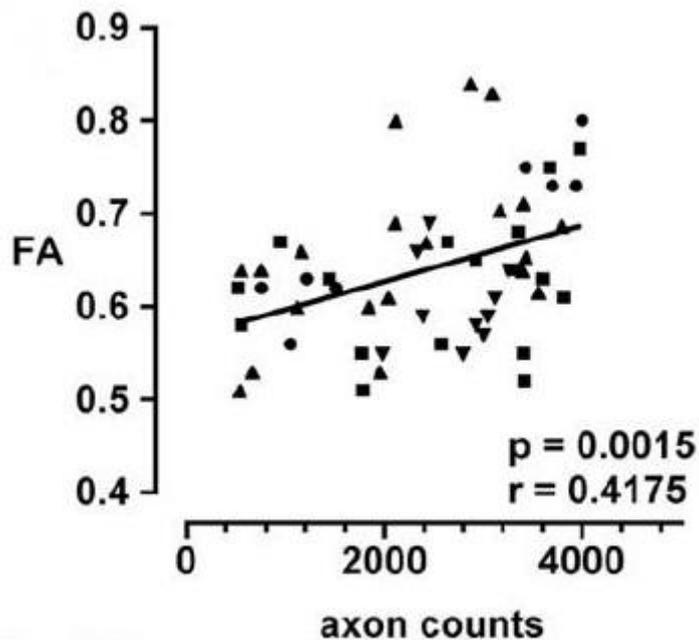
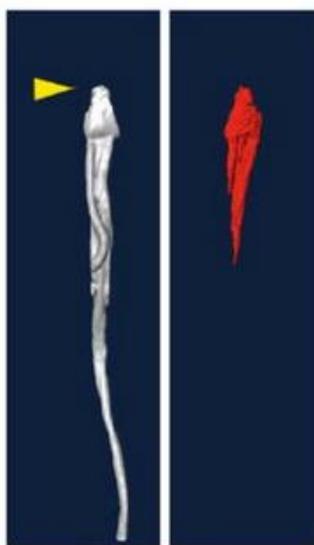


Gráfico 4: Correlación entre la morfología y los parámetros de la imagen del tensor de difusión (DTI). La comparación de la morfometría y DTI muestra una correlación positiva significativa entre el valor de anisotropía fraccional (AF) y el número total de axones mielinizados en el punto de tiempo examinado, es decir, 17 días después del aplastamiento. (Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. *Exp Neurol.* 2010; 223(1):238-44)



transected

Figura 9: Imagen de tensor de difusión con reconstrucción tridimensional y tractografía de nervios periféricos de ratón ex vivo. El seguimiento de la fibra con un umbral FA de 0.5 se realizó con los datos del tensor de difusión recogidos de los nervios seccionados. Se expone toda la muestra de tejido nervioso (izquierda, gris, reconstruida a partir de imágenes potenciadas en T2) y el resultado del seguimiento de fibra (derecha, roja). Las flechas marcan el corte transversal (amarillo). En los nervios transeccionados la orientación del tracto fibroso no está bien alineada y desaparecen distalmente a la transección. (Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. *Exp Neurol.* 2010; 223(1):238-44)

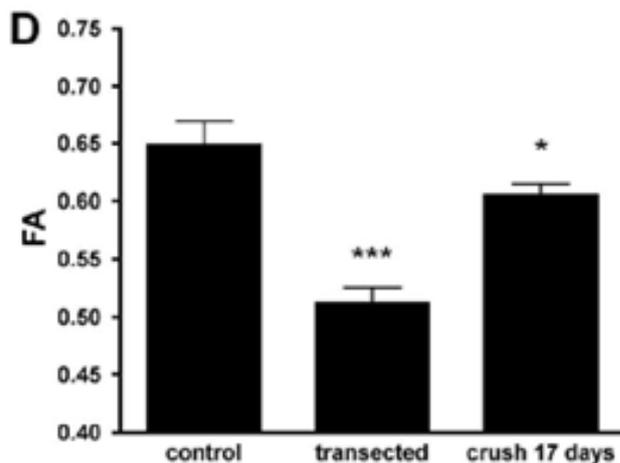


Gráfico 5: Promedio de valores de la anisotropía fraccional (AF) de los nervios ciáticos después de la sección transversal y 17 días después de la lesión por aplastamiento. Encontramos que los valores promedio de FA fueron significativamente más bajos en los nervios seccionados en comparación con los nervios de control y los nervios aplastados que a los 17 días ya se encuentran en fase de reparación. (Lehmann HC, Zhang J, Mori S, Sheikh KA. Diffusion tensor imaging to assess axonal regeneration in peripheral nerves. *Exp Neurol.* 2010; 223(1):238-44)

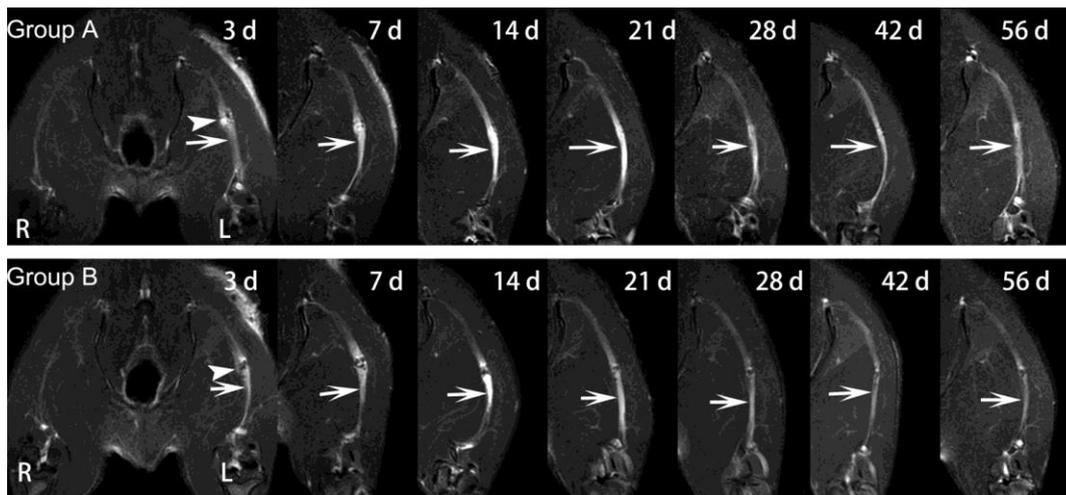


Figura 10: Imágenes T1 supresoras de grasa (T1W1) de los muñones distales potenciadas con gadofluorina mejorada, en un plano longitudinal paralelo al curso del nervio periférico (el nervio ciático), donde se comparan las tasas de aumento de gadofluorina a lo largo del tiempo. Se detecta un aumento sustancial de gadofluorina en los muñones distales 3 días después de la cirugía, seguido de una disminución gradual durante el seguimiento de 8 semanas. La mejora de gadofluorina disminuyó lentamente, pero fue más prominente en los muñones distales de los nervios del grupo tratado con LPS que en el grupo tratado con PBS durante todo el período de estudio. (Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014; 35(8):1608-14)

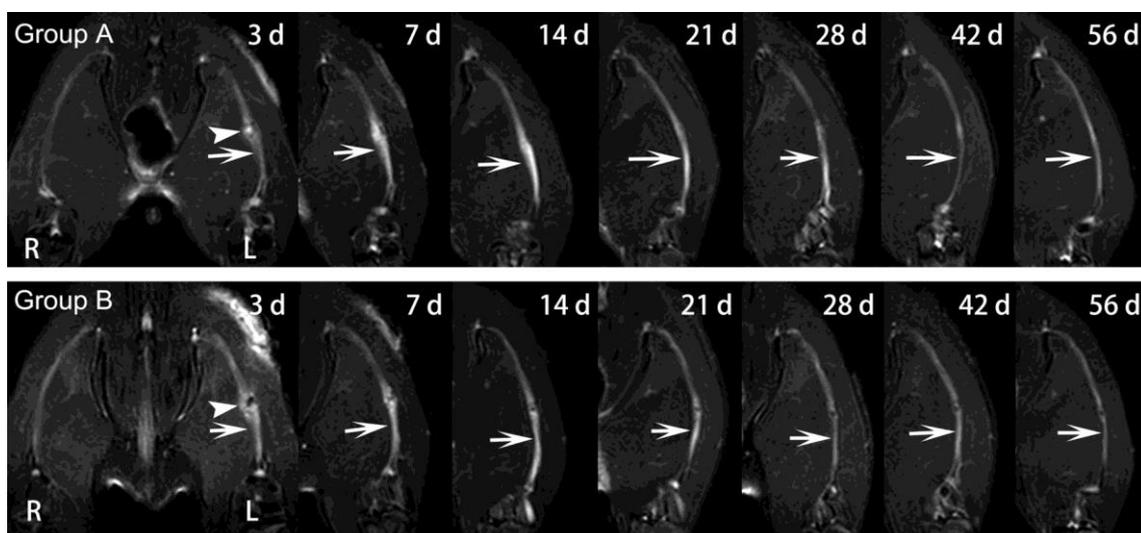


Figura 11: Imágenes coronales ponderadas en T2 de un estudio de RMI serial antes de la cirugía reparadora (estado basal), a los 3 días, y 1, 2, 3, 4, 6 y 8 semanas después de la cirugía, donde se comparan los valores de T2 obtenidos en la secuencia temporal. Se detectan anomalías obvias de la señal T2 en el sitio de la lesión (punta de flecha) y tocones distales (flechas), a los 3 días post-cirugía, que disminuyeron gradualmente durante el seguimiento de 8 semanas. En el grupo tratado con LPS para favorecer la regeneración, la anomalía de la señal T2 volvió a ser casi normal a las 6 semanas mientras que fue a las 8 semanas en el grupo tratado con PBS con regeneración estándar. (Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014; 35(8):1608-14)

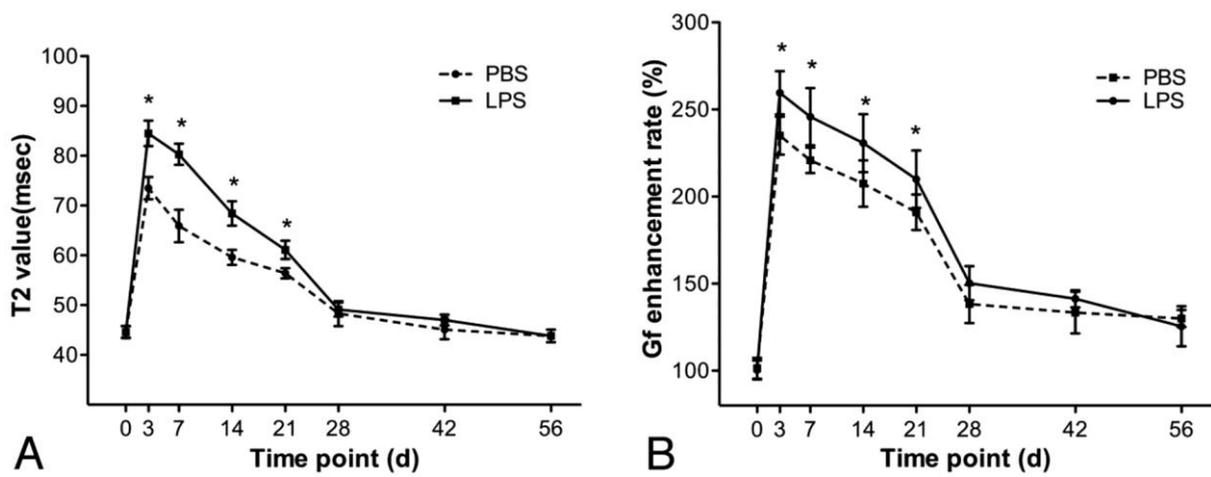


Gráfico 6: Los gráficos muestran los cursos de tiempo de los valores de T2 (A) y las tasas de aumento de gadofluorina para el muñón distal de los nervios lesionados (B) en el grupo tratado con LPS y en el grupo tratado con PBS. Las barras verticales representan la desviación estándar. Como muestra la gráfica A, los valores de T2 en ambos grupos mostraron un rápido aumento, luego disminuyeron lentamente y volvieron casi a nivel basal a las 6 semanas de seguimiento. Comparativamente, los muñones distales en el grupo tratado con LPS tuvieron valores de T2 significativamente más altos que en el grupo tratado con PBS durante el período de 3 días a 3 semanas después de la cirugía.

Por otro lado, como se ve en la gráfica B, en ambos grupos, las tasas de aumento de gadofluorina de los muñones distales de los nervios lesionados mostraron un tiempo similar al de los valores de T2; es decir, existe una correlación entre ambos parámetros. Las tasas de aumento de gadofluorina en ambos grupos mostraron un aumento rápido, luego disminuyeron lentamente pero permanecieron elevadas hasta el seguimiento de 8 semanas, a diferencia de los valores de T2 que en torno a las 6 semanas se normalizaron. Los muñones distales en el grupo tratado con LPS tuvieron tasas de aumento de gadofluorina significativamente mayores que en el grupo tratado con PBS durante el período de 3 días a 3 semanas después de la cirugía. (Li HJ, Zhang X, Zhang F, Wen XH, Lu LJ, Shen J. Enhanced repair effect of toll-like receptor 4 activation on neurotmesis: assessment using MR neurography. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014; 35(8):1608-14)