

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

FACULTAD DE MEDICINA

**TITULACIÓN: MÁSTER EN INVESTIGACIÓN EN
CIENCIAS DE LA SALUD: FARMACOLOGÍA,
NEUROBIOLOGÍA Y NUTRICIÓN MOLECULAR**



TRABAJO FIN DE MÁSTER

**BASES CELULARES DE LA
DEGENERACIÓN Y REGENERACIÓN
EN LAS LESIONES DE LOS NERVIOS
PERIFÉRICOS**

AUTOR

VERÓNICA LÓPEZ GARCÍA

DIRECTOR

MANUEL J. GAYOSO RODRÍGUEZ

VALLADOLID, JULIO DE 2013

Índice:

1. Introducción	1
1.1. Antecedentes históricos de la reparación nerviosa	3
1.2. Anatomía	4
1.3. Clasificación de las lesiones nerviosas	6
2. Fisiopatología de la degeneración nerviosa	10
3. Fisiología de la regeneración nerviosa	12
4. Estrategias para mejorar los resultados en la regeneración del nervio periférico	15
4.1. Farmacología	15
4.2. Factores tróficos	15
4.3. Tubos guía	16
4.4. Ingeniería tisular	16
5. Discusión	18
6. Conclusiones	20
7. Agradecimientos	21
8. Referencias bibliográficas	22

1. Introducción

Las lesiones nerviosas son parte de una patología clínica muy frecuente, generalmente secundarias a traumatismos en accidentes de tráfico o deportivos y poseen un rango de lesión muy variable, desde lesiones microscópicas a nivel metabólico en la neurita, hasta alteraciones macroscópicas con disrupción completa de la anatomía nerviosa, lo que provoca secuelas muy variables, alcanzando en algunos casos tasas de discapacidad muy elevadas^{6, 10}.

Estas lesiones resultan en parálisis, anestesia y falta de control autónomo de las zonas del cuerpo afectadas. Después de una lesión, los axones distales a la lesión se desconectan del cuerpo neuronal y degeneran, lo que lleva a la denervación de los órganos periféricos⁸.

Como glía del sistema nervioso periférico, la célula de Schwann produce la mielina responsable de la transmisión saltatoria del impulso nervioso, da soporte y protección axonal e influye en la actividad neuronal¹.

La degeneración Walleriana crea un microambiente distal al sitio de la lesión que soporta el nuevo crecimiento axonal^{1, 12}.

La importancia de la regeneración axonal radica en reemplazar el segmento distal del nervio degenerado, y lograr la reinervación de los órganos diana y la restitución de sus funciones^{2, 6, 21}.

La falta de especificidad de la regeneración del nervio, es una de las principales deficiencias en la recuperación, constituyendo la principal frontera biológica que disminuye la capacidad funcional de los órganos trasplantados, lo que limita el avance en este campo médico y hace indispensable su continua investigación³⁶.

Los factores clave para el éxito de la regeneración axonal incluyen los cambios intrínsecos que las neuronas sufren para cambiar su estado transmisor a un estado pro-regenerativa y el medio ambiente distal al sitio lesión que los axones encuentran¹⁰.

La reparación de lesiones del tejido nervioso ha sido motivo de investigación desde hace siglos. En los últimos años se ha producido un enriquecimiento en el conocimiento de los factores que están involucrados en la regeneración nerviosa gracias a la ingeniería genética, novedosas técnicas quirúrgicas y equipos tecnológicos de última generación^{36, 53}.

En la actualidad, a pesar de los avances conseguidos, los resultados finales no son los ideales, por lo que se hace indispensable la búsqueda de nuevas soluciones regeneradoras.

A través de la ingeniería genética podemos modular la función celular o cambiar su estructura a nivel molecular, lo que posibilitaría su aplicación clínica directa en el tratamiento de determinadas enfermedades como son enfermedades congénitas, errores del metabolismo, etc⁵³.

Actualmente el tratamiento de estas patologías se basa principalmente en la aplicación de medidas higiénico-dietéticas, lo que provoca una disminución sustancial en la calidad de vida del paciente.

La terapia génica puede ser una alternativa de tratamiento perdurable en el tiempo para este tipo de patologías basándose tanto en la reposición de elementos perdidos como en la regeneración completa de elementos dañados⁵³.

Gracias a los modelos celulares in vitro enriquecidos en células de Schwann, hoy en día se pueden estudiar diversos aspectos de la fisiopatología del sistema nervioso periférico⁵².

En esta revisión hemos tratado de sentar las bases de la degeneración y regeneración nerviosa haciendo una exhausta revisión de la literatura.

Para realizar esta revisión se trató de localizar todos aquellos artículos científicos publicados que abordasen las bases biológicas de la degeneración y regeneración nerviosa.

1.1. Antecedentes históricos de la reparación nerviosa

Durante el siglo XIX se desarrollaron dos corrientes médicas principales enfrentadas sobre el origen de la regeneración nerviosa; los monogenistas, liderados por Waller¹, defendían que después de una sección nerviosa los axones del segmento proximal continuaban conectados al cuerpo neuronal, lo que les permitía continuar viables, mientras los axones del segmento distal degeneraban; y los poligenistas que en su postura enfrentada defendían que eran los axones distales los que permanecían y posteriormente se reanastomosaban con el segmento proximal.

En 1871 Hueter² describió las primeras técnicas quirúrgicas de reparación nerviosa a través de la unión de dos cabos nerviosos mediante la colocación de suturas en el epineuro, técnica clásica que actualmente tiene máximo vigor en la práctica clínica.

Existen dos características básicas para obtener un resultado óptimo de regeneración nerviosa que son, una alineación correcta de las fibras nerviosas; y una tensión mínima en el punto de coaptación.

Fue Bora⁶⁵, en 1967, quien presentó la sutura perineural realizando la alineación del perineuro de los fascículos bajo el microscopio. Esta técnica presenta la desventaja de la presencia de material extraño intraneural y una fibrosis asociada lo que se presenta como un obstáculo en el avance del proceso de regeneración.

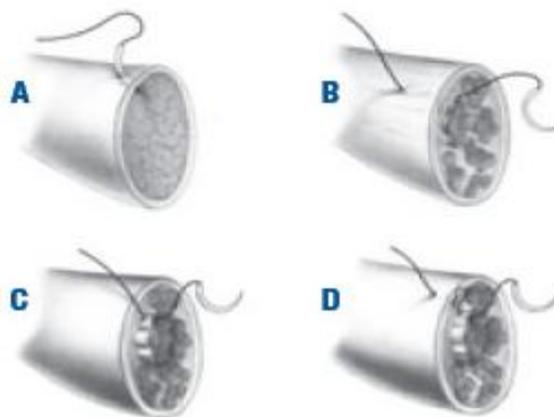


Ilustración 1. Sutura epineural clásica (A); Sutura interfascicular o "hilo guía" que orienta globalmente el nervio, pasando por el tejido epineural entre los grupos fasciculares (B), Sutura perineural o fascicular (C). Sutura epiperineural: el hilo pasa por el epineuro y a la vez por el perineuro de los fascículos más periféricos para intentar un mejor afrontamiento de aquellos (D). (Según Merle et al) 12.

Si la distancia entre ambos cabos nerviosos es amplia, es necesario el empleo de un injerto nervioso no vascularizado que cumpla la función de canal guía nervioso, con el nervio sural como zona donante. Se han conseguido resultados satisfactorios en la práctica clínica en hasta 7cm de longitud.

Para injertar distancias mayores, es necesario reseñar el concepto introducido por Taylor y Ham^{3, 4}, de vascularización. Consiste en trasplantar el cabo nervioso con vascularización incluida, lo que evita la muerte celular, aunque esta técnica asocia desventajas como la dificultad de la técnica, la morbilidad de la zona donante y la dificultad para obtener el injerto nervioso vascularizado.

1.2. Anatomía

El nervio periférico está formado por un conjunto de fascículos en cuyo seno se distribuyen las fibras nerviosas. El fascículo se encuentra limitado por el perineuro, constituido por capas de células perineurales de origen fibroblástico separadas por fascículos de colágeno ⁴⁶.

El endoneuro corresponde al tejido conjuntivo intrafascicular. La mitad de la superficie fascicular la ocupan las fibras nerviosas propiamente dichas, el resto de la superficie está compuesto por una matriz de colágeno de tipo I, fluidos endoneurales, fibroblastos, mastocitos y macrófagos.

Existe un tejido conjuntivo laxo llamado epineuro, en el cual se reúnen los fascículos nerviosos, encargado de la fijación y el deslizamiento del nervio entre las estructuras adyacentes y que contiene la red linfática y vascular.

Es el responsable de la elasticidad del nervio. El amortiguamiento de las fuerzas de compresión ejercidas sobre el nervio depende del epineuro y del número de fascículos que componen el mismo.

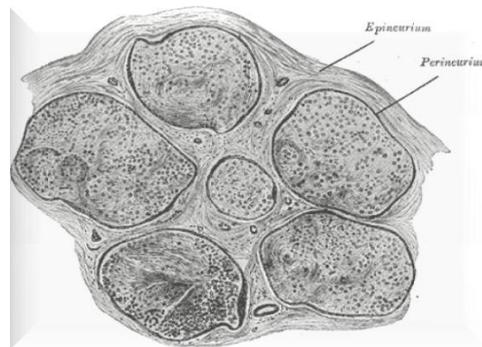


Ilustración 2. Corte histológico de un nervio periférico

Los troncos nerviosos con pocos fascículos, así como las raíces son más sensibles a la compresión, por poseer un perineuro más delgado y no poseer una estructura equivalente al epineuro.

El endoneuro del nervio se fusiona con el de la raíz en el extremo proximal, mientras que el epineuro se fusiona con la duramadre, en el perineuro, sólo sus capas más internas se prolongan para cubrir la raíz. En el extremo distal, el perineuro se reduce y entra en continuidad con las cápsulas de los órganos sensoriales.

Un nervio puede estar formado por entre 1 y 100 fascículos fusionados en las regiones distales y más numerosas en las regiones proximales. También existe el mesoneuro, estructura de tejido conjuntivo con una gran significación clínica ya que este tejido permite el deslizamiento del nervio a intervalos ^{46,48}.

El nervio posee grandes posibilidades de elongación debido al trayecto natural ondulante de las fibras contenidas en el nervio periférico.

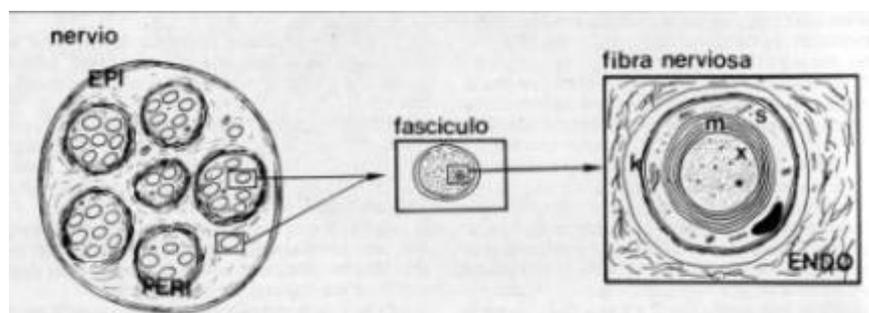


Ilustración 3. Estructura general del nervio periférico

Bases celulares de la degeneración y regeneración en las lesiones de los nervios periféricos

El nervio periférico proporciona la vía para los axones motor, sensorial, y vegetativos pertenecientes al sistema nervioso periférico.

Éste transmite información entre estas neuronas y sus efectores periféricos en ambas direcciones (receptores sensoriales, músculos esqueléticos, y vísceras).

Las aferencias a la periferia corresponden con el contenido de los nervios motores, mientras que las eferencias de la periferia, a cargo de la entrega de información a los integradores centrales, corresponden al contenido del nervio sensible.

Es importante entender claramente las respuestas del sistema nervioso periférico a una lesión, que revelan habilidades de degeneración y regeneración espontánea. Este potencial de recuperación es una especificidad del sistema nervioso periférico y sigue un proceso relativamente complejo.

Las neuronas periféricas dependen de la estructura de las células gliales y el metabolismo, induciendo la respuesta global y dinámica de todo el entorno del axón, incluso en casos de lesión focal, que está modulada por el tipo inicial y el mecanismo de la lesión.

En la actualidad, el progreso sigue siendo insuficiente para mejorar significativamente el pronóstico funcional.

Una mejor comprensión de los procesos de regeneración de nervios periféricos a través de la biología celular y molecular, abren la puerta a nuevos avances médicos y quirúrgicos.

1.3. Clasificación de las lesiones nerviosas

Una primera clasificación fue establecida por Seddon en 1943, fue ampliada por Sunderland¹² en 1951 y posteriormente fue mejorada por Mackinnon y Dellon⁴⁸.

Seddon⁵, clasificó las lesiones nerviosas en tres grandes grupos:

- **Neuroapraxia:** bloqueo local de la conducción por afectación de la mielina en una zona concreta. El axón se encuentra íntegro, solamente se afectan las fibras mielínicas gruesas.
El nervio se recupera por sí mismo cuando regenera la mielina. Existe recuperación completa.
- **Axonotmesis:** implica una lesión axonal. Los tubos endoneuronales están íntegros en todo el nervio. Se produce degeneración walleriana de la zona distal a la lesión.
El tiempo necesario para que se produzca una recuperación funcional es el tiempo que necesita el axón para regenerarse y reinervar los órganos diana (1mm/ día de velocidad de crecimiento).
El pronóstico de reinervación suele ser bueno.
- **Neurotmesis:** existe una sección completa del nervio o destrucción total de sus estructuras interiores.
Es necesaria una intervención quirúrgica puesto que la regeneración espontánea es imposible.

Más tarde, Sunderland⁶ amplió la clasificación estableciéndola en base al pronóstico.

Subdividió la axonotmesis de Seddon en tres grados en función del grado de lesión del componente conectivo del nervio:

- **Tipo I:** equivalente a la neuroapraxia. Se produce un bloqueo de la conducción nerviosa sin que exista degeneración Walleriana.
La recuperación funcional es completa tras unas semanas o meses.
- **Tipo II:** el endoneuro y el perineuro se hallan anatómicamente intactos, pero los axones están fisiológicamente interrumpidos. La regeneración axonal está dirigida a lo largo de su recorrido original y es posible una recuperación funcional completa.
El tiempo de recuperación depende del nivel de la lesión y de la llegada de los axones al tejido diana.
- **Tipo III:** el endoneuro está interrumpido, quedando íntegro el perineuro.
La recuperación funcional es incompleta.

Bases celulares de la degeneración y regeneración en las lesiones de los nervios periféricos

- **Tipo IV:** la fibrosis interfascicular y la degeneración retrógrada son más acusadas, por lo que la recuperación es mínima.

Precisa la resección del segmento lesionado y una posterior reconstitución quirúrgica con un segmento nervioso.

- **Tipo V:** equivalente a la neurotmesis, disrupción fisiológica del nervio.

La recuperación funcional espontánea no existe.

Clasificación					
Seddon	Sunderland	Estructura lesionada	Clínica	Afectación nerviosa	Recuperación
Neurapraxia	I	Mielina	Desmielinización segmentaria	Motora > sensitiva	+ (semanas)
Axonotmesis	II	Axón	Axón lesionado	Completa	+ (meses)
	III	Endoneuro	Patrón mixto: Axonotmesis/ neurotmesis	Completa	+/- desorganizada
	IV	Perineuro	Neurona en continuidad	Completa	-
Neurotmesis	V	Epineuro	Sección del tronco nervioso	Completa	-

Tabla 1. Clasificación de las lesiones nerviosas

Esta clasificación representa una descripción anatómica de la lesión nerviosa.

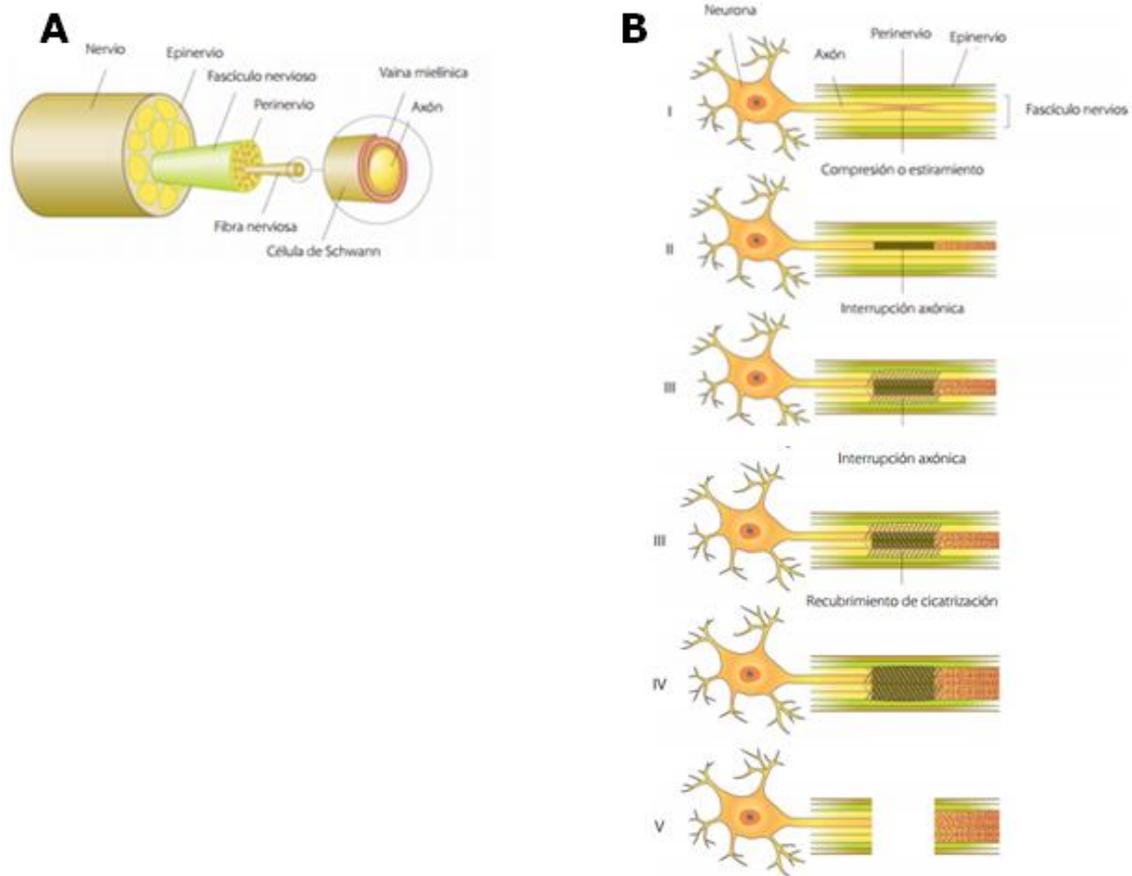


Ilustración 4. A. Representación esquemática de la estructura del axón. B. Tipos de lesión nerviosa diferenciadas en cinco grados.

En la práctica clínica la mayoría de las lesiones no pueden clasificarse en un sólo grado y las lesiones mixtas son muy frecuentes.

Debido a esto, Mackinnon⁷ ha elaborado un VI grado de lesión nerviosa que integra los diferentes grados de Sunderland en un mismo segmento lesionado.

2. Fisiopatología de la degeneración nerviosa

La eliminación de los axones lesionados se produce por los mecanismos de retracción y degeneración⁸.

Waller, en 1850, describió por primera vez la degeneración nerviosa⁹. Cuando se produce una lesión nerviosa, ésta desencadena una serie de acontecimientos fisiopatológicos a nivel del cuerpo celular, de los segmentos nerviosos proximal y distal, de la zona lesionada y de los órganos diana¹⁰.

Waller definió la degeneración Walleriana^{1, 11} como los cambios que se producen en el segmento distal de nervios mielinizados, independientemente que se produzca el mismo proceso en el segmento proximal. Comienza a partir de las 48-96 horas de la sección nerviosa y presenta desensamblaje de los microtúbulos, desorganización axonal y degeneración de la mielina.

La degeneración podría iniciarse por un incremento en los niveles de calcio disparado por la lesión axonal. La degeneración Walleriana depende también de la activación del sistema Ubiquitin-proteasoma, ya que el bloqueo de este sistema durante un periodo de tiempo determinado, inhibe el proceso de degeneración²⁴.

Los macrófagos continúan con el proceso a través de la fagocitosis de los detritus celulares, además sintetizan dos citocinas que favorecen la regeneración axonal (interleucina-1 (IL-1) y factor de crecimiento IGF tipo I)¹³. También se produce la estimulación de la proliferación de las células de Schwann¹².

La IL-1 provoca la síntesis local de factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial (VEGF)¹⁵, el factor de crecimiento nervioso (NGF)¹⁴ y el propio factor de crecimiento (IGF)¹⁶.

El tubo endoneural se colapsa y disminuye su diámetro. Es ocupado por macrófagos y por células de Schwann que se establecen en las bandas de Büngner, las cuales crean un microambiente que favorece la regeneración axonal.

El nervio lesionado puede entrar en contacto con proteínas no habituales y en consecuencia se inicia una reacción autoinmune que favorece la aparición de fibrosis y disminuye la tasa de regeneración, lo que potencia el proceso degenerativo.

Tras la denervación, los órganos diana motores y sensitivos presentan cambios secundarios. Durante la primera semana los músculos disminuyen su volumen y presentan una atrofia progresiva de las fibras musculares, que se sustituye por tejido conectivo a partir de los tres meses.

La recuperación funcional motora depende del tiempo de denervación del órgano diana, consiguiéndose una buena reinervación entre el primer y tercer mes. La funcionalidad se mantiene hasta el primer año y es improbable que se mantenga pasados más de tres años^{20, 21}.

Los órganos sensitivos sí que pueden llegar a ser reinervados tras largos periodos de tiempo sin estimulación nerviosa, aunque tras periodos superiores a seis meses disminuye la recuperación funcional y tras un año de denervación, sólo se puede conseguir una recuperación de la sensibilidad propioceptiva²².

3. Fisiología de la regeneración nerviosa

La regeneración nerviosa es un proceso coordinado y complejo en el que participa tanto la neurona como las células de Schwann, fibroblastos, células endoteliales y macrófagos que se produce tras una lesión axonal.

En el segmento distal a la lesión se produce un proceso de degeneración Walleriana, descrito en el apartado anterior, mientras que en la parte proximal se suceden 3 fases para intentar la reparación de la zona lesionada y el restablecimiento funcional de la lesión.

Las fases de las que consta son las siguientes:

A. Resellado de membrana.

Es previo a la formación de los conos de crecimiento y al inicio del crecimiento axonal.

El axoplasma axonal y el medio extracelular quedan en contacto de forma transitoria tras la disrupción de la membrana axonal, lo que provoca una rápida entrada de iones de sodio y calcio en una mayor concentración a nivel extracelular.

El aumento de los niveles de estos iones por encima de los valores fisiológicos es una señal que comienza el proceso de resellado de la membrana neuronal y comienza así la posible restauración de la actividad eléctrica nerviosa²⁵.

También cabe resellar la importancia de la enzimas fosfolipasa A2 y proteasa calpaina, que activadas por el calcio, aumentan el desensamblaje del citoesqueleto para facilitar el acercamiento de los componentes de la membrana²⁶.

B. Generación del cono de crecimiento.

Una regeneración axonal de vario milímetros comienza a producirse en las primeras seis horas, a través de los espacios que aparecen tras la retracción de las células de Schwann. Ese primer brote axonal se sustituye

durante las primeras 27 horas por un brote axonal permanente, lo que crea una unidad regeneradora delimitada por el perinervio²⁷.

Las fibras son amielínicas en un primer momento, y posteriormente se producen las mitosis y cambios morfológicos de las células de Schwann para generar la cubierta mielínica²⁸.

En el extremo distal de cada brote axonal se encuentra el cono de crecimiento, una estructura móvil rica en actina que funciona como explorador. Presenta afinidad por la superficie interna de la lámina basal creada por las células de Schwann²⁹⁻³¹. El cono promueve la regeneración hacia su órgano diana con la segregación de proteasas que disuelven la matriz y fibrosis cicatricial.

Las células de Schwann, al ser denervadas producen factores de crecimiento como el factor de crecimiento cerebral (BDNF); el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF); el factor neurotrófico ciliar (CNTF); el factor inhibidor de leucemia (LIF) el factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), clave para la supervivencia, extensión y maduración neuronal, para los que los conos de crecimiento poseen receptores que les optimiza su respuesta a los estímulos tróficos³³. Originan la banda de Büngner o banda de regeneración axonal.

C. Interacción del axón con la matriz extracelular y respuesta a las señales de crecimiento.

Durante su crecimiento, los conos de crecimiento detectan señales extracelulares que les sirven de guía. Algunas de estas señales, como las netrinas, semaforinas, efrinas y proteínas morfogénicas de hueso, se ven alteradas tras una lesión nerviosa³⁷⁻³⁹.

La regeneración axonal periférica también depende de la interacción de los conos de crecimiento de los axones en proceso de regeneración que expresan integrinas con los componentes de la matriz extracelular como la laminina, que unida al colágeno tipo IV, a los proteoglicanos y a la

Bases celulares de la degeneración y regeneración en las lesiones de los nervios periféricos

entactina, crea una estructura tridimensional que acelera el proceso de regeneración axonal^{40, 41}.

Los axones regenerados se adhieren a la lámina basal. Los axones avanzan hacia el órgano diana a través de los espacios que proveen los túbulos de la lámina basal⁴²⁻⁴⁴.

El fibrinógeno junto con la fibronectina forma una matriz de fibrina para formar un importante sustrato para la migración celular en la regeneración nerviosa⁴⁵⁻⁴⁷.

4. Estrategias para mejorar los resultados en la regeneración del nervio periférico

En las últimas décadas, multitud de estudios se han puesto en marcha buscando mejorar la tasa de regeneración nerviosa, aunque resulta necesario continuar con la búsqueda de nuevas alternativas con un mayor éxito regenerativo ya que hasta ahora los resultados siguen siendo todavía discretos.

Podemos agrupar las nuevas estrategias en cuatro vías de estudio principales:

4.1. Farmacología

Son varias las sustancias que actúan a nivel molecular modulando la regeneración nerviosa. Los gangliósidos son neurotrópicos (favorecen la conservación y supervivencia de las neuronas) y neuritigénicos (aumentan el tamaño y número de las ramificaciones de los procesos neuronales). Se ha demostrado que tienen un efecto positivo en la regeneración del nervio ciático en ratas⁶⁶⁻⁶⁸.

En recientes estudios, se ha demostrado que Erbin, proteína que interacciona con ErbB2 en la remielización de nervios lesionados, es necesaria para la reemielización de los axones regenerados después producirse una lesión, probablemente regulando los niveles de ErbB2 y NRG1⁴⁹.

También se ha documentado la molécula forslokin, que activa la enzima adenilato ciclasa contribuyendo al crecimiento axonal⁶⁹.

4.2. Factores tróficos

Existen diversos factores tróficos entre los que se incluyen principalmente los factores de crecimiento nervioso (NGF), factor neurotrófico ciliar (CNGF), factor de crecimiento vascular (VEGF), factor de crecimiento endotelial (VEGF), laminina, leupeptina, fibronectina, molécula de adhesión neuronal, fibroblastos (FGF) y factor de crecimiento insulín-like (IGF I y II) entre otros⁵⁰⁻⁵⁹.

4.3. Tubos guía

Son cilindros que se emplean como guía para extremos nerviosos aproximados. Dichos cilindros permiten la administración local de agentes farmacológicos, moduladores inmunológicos o factores promotores de la regeneración nerviosa.

La inclusión de los cabos nerviosos en el interior del tubo guía reduce el traumatismo quirúrgico y la porción cicatricial. Entre los extremos nerviosos se deja un espacio intencionado para permitir la realineación de los fascículos nerviosos.

Se han creado tubos guía de diferentes materiales como silicona, Gore-Tex, vena, duramadre autóloga y ácido poliglicólico.

El principal objetivo es la búsqueda de un material que permita la difusión de nutrientes y oxígeno y potencie los factores introducidos localmente y que, a lo largo del tiempo, evite la compresión nerviosa⁶⁰⁻⁶³.

4.4. Ingeniería tisular

La terapia génica podría ser una buena alternativa a las terapias tradicionales⁷⁰.

A través de ésta, se obtienen nuevas soluciones terapéuticas que funcionan como implantes interactivos con el objetivo de conseguir la reparación de los tejidos dañados, corregir enfermedades o promover la curación local o sistémica.

A través de la ingeniería tisular se han obtenido productos derivados de fibroblastos, matrices humanas o incluso implantes de cartílago que se consideran alternativas terapéuticas seguras, efectivas e innovadoras.

En la ingeniería tisular aplicada al tejido nervioso, el planteamiento es diferente frente a otros órganos, ya que en este terreno el objetivo es diseñar vectores viables o canales guía y no órganos funcionantes como tal. Se trata de encontrar una buena alternativa al injerto nervioso.

La regeneración nerviosa plantea unas bases que se aúnan en un dispositivo que pueda integrar tanto el beneficio de la terapia génica como la estructura básica del tejido nervioso (canales guía).

5. Discusión

En los nervios adultos, las células de Schwann y axones cooperan estrechamente. Después de una lesión nerviosa, los axones degeneran, mientras que las células de Schwann proliferan y se desdiferencian. Los efectos estimulantes que estas células tienen sobre la regeneración axonal son explotados clínicamente mediante el uso de injertos nerviosos para su reparación.

Los avances en microcirugía han dotado a los cirujanos de herramientas necesarias para la reparación nerviosa periférica. El tratamiento clínico se basa en diversos aspectos que influyen en la regeneración, desde una neurorrafia básica con alineación correcta de fascículos o el uso de injertos microquirúrgicos vascularizados para cubrir soluciones de continuidad amplias.

El éxito en la regeneración nerviosa suele ser muy variable y no siempre se consigue una recuperación funcional completa. También hay que valorar la morbilidad de la zona donante en las intervenciones en las que se emplea el uso de injertos nerviosos.

Debido a las precisas y novedosas técnicas de sutura microquirúrgica nerviosa existentes actualmente, parece improbable que los avances en la regeneración nerviosa se deriven de nuevas técnicas microquirúrgicas.

Se hace necesario el conocimiento y aplicación de los nuevos aspectos farmacológicos, biológicos y genéticos para mejorar los resultados en la regeneración nerviosa.

La combinación de cultivos celulares, técnicas genéticas y desarrollo de nuevos biomateriales parecen ser el futuro que mejorará el resultado del tratamiento de las lesiones nerviosas periféricas⁵⁸.

A través de la ingeniería tisular se trata de obtener un dispositivo ya sea sintético o biológico, que se establezca como canal guía para los brotes axonales y que permita una correcta difusión de factores neurotróficos y neurotróficos.

El uso de materiales biológicos como la base principal para la creación de estos dispositivos, tiene un planteamiento básico y una evolución en el tiempo que ha sido la base para crear futuras comparaciones⁷¹⁻⁷³.

Esta opción regeneradora tiene como inconveniente principal la distancia máxima en la que existe un impulso regenerador factible. En diversos estudios se ha determinado que dicha distancia es de tres centímetros⁷².

En soluciones de continuidad superiores no existe una interacción correcta entre los factores promotores de la regeneración creados desde el extremo proximal y distal de los cabos nerviosos y los receptores que se sitúan en las células.

En diversos estudios aparecen ejemplos de combinaciones de distintos dispositivos biológicos como el componente del músculo acelular preservado por la vena⁷⁴, en el que se observa cómo las células de Schwann conectan con la lámina basal del músculo y migran a través de ella y formando envueltas perineurales.

Los dispositivos de materiales biodegradables son otra opción que favorece la regeneración nerviosa.

Las propiedades físicas como la porosidad, la textura de la superficie interior e indirectamente sus características eléctricas influyen incrementando la tasa de regeneración⁵⁸.

La implicación de las células de soporte es básica para la regeneración nerviosa. Aunque su mecanismo último no está del todo claro, las células de Schwann se apoyan en un sustrato para la migración del axón y posteriormente segregan sustancias neurotróficas⁷⁵.

Las células de Schwann cumplen una doble función, por un lado presentan una acción paracrina sobre los axones y una acción física entre el cono de crecimiento, y suplen, en un aspecto físico, la falta de membrana endoneural.

6. Conclusiones

1. A través de la terapia génica, se obtienen nuevas soluciones terapéuticas que funcionan como implantes interactivos con el objetivo de conseguir la reparación de los tejidos dañados, corregir enfermedades o promover la curación local o sistémica⁶⁹.
2. Diversas sustancias actúan a nivel molecular modulando la regeneración nerviosa:
Los gangliósidos son neurotrópicos que favorecen la conservación y supervivencia de las neuronas y también son neuritigénicos, aumentan el tamaño y número de las ramificaciones de los procesos neuronales. Presentan un efecto positivo en la regeneración del nervio ciático en ratas⁶⁵⁻⁶⁷.
En recientes estudios, se ha demostrado que Erbin, proteína que interacciona con ErbB2 en la remielización de nervios lesionados, es necesaria para la reemielización de los axones regenerados después producirse una lesión, probablemente regulando los niveles de ErbB2 y NRG1⁴⁹.
También se ha documentado la molécula forslokin, que activa la enzima adenilato ciclasa contribuyendo al crecimiento axonal⁵².
3. Los dispositivos que actúan canal guía permiten el desarrollo axonal en su longitud creando un ambiente celular adecuado y activo para la regeneración nerviosa⁶⁰⁻⁶³.
4. La presencia del factor de crecimiento endotelial genera un microambiente que potencia tanto la supervivencia como la regeneración neuronal⁵⁰⁻⁵⁹.

7. Agradecimientos

La realización de este trabajo habría sido imposible sin la implicación y colaboración de mi tutor y profesor del Máster en Investigación en Ciencias de la Salud en la Universidad de Valladolid, por su labor de asesoramiento y orientación en todos los procesos de elaboración del trabajo de fin de máster.

8. Referencias bibliográficas

1. Waller AV. On the nutrition and reparation of nerves. Proc R Institution. 1862;3:378.
2. Millesi H. Reappraisal of nerve repair. Surg Clin North Am. 1981(61):321-40.
3. Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. A further experimental and clinical application of microvascular techniques. Plast Reconstr Surg. 1976 Apr;57(4):413-26.
4. Townsend PL, Taylor GI. Vascularised nerve grafts using composite arterialized neuro-venous systems. Br J Plast Surg. 1984 Jan;37(1):1-17.
5. Seddon HJ. The surgery of nerve injuries. Practitioner. 1960 Feb;184:181-7.
6. Sunderland S. Anatomical features of nerve trunks in relation to nerve injury and nerve repair. Clin Neurosurg. 1970;17:38-62.
7. Mackinnon SE. Surgical management of the peripheral nerve gap. Clin Plast Surg. 1989 Jul;16(3):587-603.
8. Luo L, O'Leary, D.D. Axon retraction and degeneration in development and disease. Annu Rev Neurosci. 2005;28:127-56.
9. Waller A. Experiments on the sections of glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibers. Phil Trans R Soc Lond 140, 423-429) 1850;140:423-9.
10. Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. Muscle Nerve. 1990 Sep;13(9):771-84.
11. Waller AV. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. Philos Trans R Soc Lond. 1850;140:423.

12. Chumasov EI, Svetikova KM. Structure and nature of macrophages participating in the wallerian degeneration of nerve fibers. *Neurosci Behav Physiol.* 1992 Sep- Oct;22(5):408-14.
13. Be'eri H, Reichert F, Saada A, Rotshenker S. The cytokine network of wallerian degeneration: IL-10 and GM-CSF. *Eur J Neurosci.* 1998 Aug;10(8):2707-13.
14. Marcinkiewicz M, Marcinkiewicz J, Chen A, Leclaire F, Chretien M, Richardson P. Nerve growth factor and proprotein convertases furin and PC7 in transected sciatic nerves and in nerve segments cultured in conditioned media: their presence in Schwann cells, macrophages, and smooth muscle cells. *J Comp Neurol.* 1999 Jan 25;403(4):471-85.
15. Hobson MI, Green CJ, Terenghi G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat.* 2000 Nov;197(Pt 4):591-605.
16. Liu RY, Snider WD. Different signaling pathways mediate regenerative versus developmental sensory axon growth. *J Neurosci.* 2001 Sep 1;21(17):RC164.
17. Creange A, Barlovatz-Meimon G, Gherardi RK. Cytokines and peripheral nerve disorders. *Eur Cytokine Netw.* 1997 Jun;8(2):145-51.
18. Taskinen HS, Roytta M. Increased expression of chemokines (MCP-1, MIP-1alpha, RANTES) after peripheral nerve transection. *J Peripher Nerv Syst.* 2000 Jun;5(2):75-81.
19. Rhodes KE, Raivich G, Fawcett JW. The injury response of oligodendrocyte precursor cells is induced by platelets, macrophages and inflammation-associated cytokines. *Neuroscience.* 2006;140(1):87-100. Epub 2006 Apr 21.
20. Finkelstein DI, Luff AR, Schuijers JA. Immunity to nerve growth factor and the effect on motor unit reinnervation in the rabbit. *Am J Physiol.* 1992 May;262(5 Pt:R813-8.

- 21.Brushart TM. Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. *J Neurosci.* 1988 Mar;8(3):1026-31.
- 22.Terzis JK, Dykes RW. Reinnervation of glabrous skin in baboons: properties of cutaneous mechanoreceptors subsequent to nerve transection. *J Neurophysiol.* 1980 Dec;44(6):1214-25.
- 23.(Coleman M. Axon degeneration mechanisms: commonality amid diversity. . *Nat Rev Neurosci* 2005;6:889-98.
- 24.(Zhai Q, Wang, J., Kim, A., Liu, Q.,Watts, R., Hoopfer, E., Mitchison, T., Luo,, L. H, Z. Involvement of the ubiquitin-proteasome system in the early stages of Wallerian degeneration. *Neuron.* 2003:217-25.
- 25.Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. *Cornea.* 2005 Oct;24(7):818-24.
- 26.Howard MJ, David, G., et al. Resealing of transected myelinated mammalian axons in vivo: evidence for involvement of calpain. *Neuroscience.* 1999;93(2):807-15.
- 27.Friede RL, Bischhausen R. The fine structure of stumps of transected nerve fibers in subserial sections. *J Neurol Sci.* 1980 Jan;44(2-3):181-203.
- 28.Tetzlaff W. Tight junction contact events and temporary gap junctions in the sciatic nerve fibres of the chicken during Wallerian degeneration and subsequent regeneration. *J Neurocytol.* 1982 Oct;11(5):839-58.
- 29.Nachemson AK, Hansson HA, Dahl D, Lundborg G. Visualization of regenerating sciatic nerve fibres by neurofilament immunohistochemistry. *Acta Physiol Scand.* 1986 Apr;126(4):485-9.
- 30.Anselin AD, Davey DF. Axonal regeneration through peripheral nerve grafts: the effect of proximo-distal orientation. *Microsurgery.* 1988;9(2):103-13.

31. Shibuya Y, Mizoguchi A, Takeichi M, Shimada K, Ide C. Localization of Ncadherin in the normal and regenerating nerve fibers of the chicken peripheral nervous system. *Neuroscience*. 1995 Jul;67(1):253-61.
32. Spira ME, Oren, R., et al. Critical calpain-dependent ultrastructural alterations underlie the transformation of an axonal segment into a growth cone after axotomy of cultured *Aplysia* neurons. *J Comp Neurol* 2003;457(3):293-312.
33. Ebadi M, Bashir, R.M., et al., 1997. Neurotrophins and their receptors in nerve injury and repair. *Neurochem. Int.* 30 (4-5), 347–374. Neurotrophins and their receptors in nerve injury and repair. *Neurochem Int.* 1997;30(4-5):347-74.
34. Ikegami R. [Changes of nerve growth factor (NGF) content in injured peripheral nerve during regeneration: local synthesis of NGF by Schwann cells]. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1990 Jul;64(7):612-22.
35. Althaus HH, Kloppner S, Schmidt-Schultz T, Schwartz P. Nerve growth factor induces proliferation and enhances fiber regeneration in oligodendrocytes isolated from adult pig brain. *Neurosci Lett*. 1992 Feb 3;135(2):219-23.
36. Chen ZL, Yu, W.M., et al. Peripheral regeneration. *Annu Rev Neurosci* 2007;30:209-33.
37. Ren XR, Ming, G.L., et al. Focal adhesion kinase in netrin-1 signaling. *Nat Neurosci*. 2004;7(11):1204-12.
38. Low K, Culbertson, M., et al., 2008. Netrin-1 is a novel myelin-associated inhibitor to axon growth. *J. Neurosci.* 28 (5), 1099–1108. Netrin-1 is a novel myelin-associated inhibitor to axon growth. . *J Neurosci*. 2008;28(5):1099-108.
39. Spinelli ED, McPhail, L.T., et al. Class A plexin expression in axotomized rubrospinal and facial motoneurons. *Neuroscience*. 2007;144(1266-1277).

40. Wang GY, Hirai K, Shimada H. The role of laminin, a component of Schwann cell basal lamina, in rat sciatic nerve regeneration within antiserum-treated nerve grafts. *Brain Res.* 1992 Jan 20;570(1-2):116-25.
41. Ahmed Z, Brown RA. Adhesion, alignment, and migration of cultured Schwann cells on ultrathin fibronectin fibres. *Cell Motil Cytoskeleton.* 1999;42(4):331-43.
42. Salonen V, Peltonen J, Roytta M, Virtanen I. Laminin in traumatized peripheral nerve: basement membrane changes during degeneration and regeneration. *J Neurocytol.* 1987 Oct;16(5):713-20.
43. David S, Braun PE, Jackson DL, Kottis V, McKerracher L. Laminin overrides the inhibitory effects of peripheral nervous system and central nervous system myelinderived inhibitors of neurite growth. *J Neurosci Res.* 1995 Nov 1;42(4):594-602.
44. Chen ZL, Strickland S. Laminin gamma1 is critical for Schwann cell differentiation, axon myelination, and regeneration in the peripheral nerve. *J Cell Biol.* 2003 Nov 24;163(4):889-99.
45. Becker CM, Gueuning CO, Graff GL. Sutures of fibrin glue for divided rat nerves. Schwann cell and muscle metabolism. *J Reconstr Microsurg.* 1984 Oct;1(2):139-45.
46. Antoine JC. Anatomie et physiologie du nerf périphérique. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris-France), Appareil locomoteur, 14-005-A-10, 1999, 4 p.*
47. Lundborg G. *Nerve Injury and Repair.* Edinburg: Churchill Livingstone, 1988.
48. Mackinnon SE, Dellon AL. *Surgery of peripheral nerves.* New York: Thieme Medical Publishers, 1988.
49. Liang C., Tao Y., Shen C., Tan Z., Xiong W. C., Mei L. (2012). Erbin is required for myelination in regenerated axons after injury. *J. Neurosci.* 32, 15169–15180. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2466-12.2012.

50. ZG. Zhang; L. Zhang QJ, R. Zhang, K. Davies, C. Powers, N. Bruggen, M. Chopp. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J Clin Invest.* 2000;106:829-38.
51. Sondell M, Sundler F, Kanje M. Vascular endothelial growth factor is a neurotrophic factor which stimulates axonal outgrowth through the flk-1 receptor. *Eur J Neurosci.* 2000 Dec;12(12):4243-54.
52. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci.* 1999 Jul 15;19(14):5731-40.
53. Meirer R, Gurunluoglu R, Siemionow M. Neurogenic perspective on vascular endothelial growth factor: review of the literature. *J Reconstr Microsurg.* 2001 Nov;17(8):625-30.
54. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue--beyond blood vessels. *Exp Neurol.* 2004;187(2):246-53.
55. Mukoyama YS, Gerber HP, Ferrara N, Gu C, Anderson DJ. Peripheral nerve-derived VEGF promotes arterial differentiation via neuropilin 1-mediated positive feedback. *Development.* 2005 Mar;132(5):941-52 Epub 2005 Jan 26.
56. Gupta R, Gray M, Chao T, Bear D, Modafferi E, Mozaffar T. Schwann cells upregulate vascular endothelial growth factor secondary to chronic nerve compression injury. *Muscle Nerve.* 2005 Apr;31(4):452-60.
57. Zachary I. Neuroprotective role of vascular endothelial growth factor: signalling mechanisms, biological function, and therapeutic potential. *Neurosignals.* 2005;14(5):207-21.
58. Le Bras B, Barallobre MJ, Homman-Ludiye J, Ny A, Wyns S, Tammela T, et al. VEGF-C is a trophic factor for neural progenitors in the vertebrate embryonic brain. *Nat Neurosci.* 2006 Mar;9(3):340-8 Epub 2006 Feb 5.

59. Park HJ, Kim MN, Kim JG, Bae YH, Bae MK, Wee HJ, et al. Up-regulation of VEGF expression by NGF that enhances reparative angiogenesis during thymic regeneration in adult rat. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1773(9):1462-72. Epub 2007 May 21.
60. Martín Ferrero MA. Autoinjertos de músculo estriado desnaturalizado en las pérdidas de sustancia del nervio periférico. Estudio experimental. *Rev Ortop Traum* 1996; 40:77-83.
61. Lunborg G, Hanson HA. Regeneration of peripheral nerve through a performed tissue space. Preliminary observations on the reorganization of regenerating nerve fibres and perineurium. *Brain Res* 1979; 178:573-6.
62. Lunborg G, Rosèn B, Dahlin L, Nielsen N, Holmberg J. Tubular versus conventional repair of median and ulnar nerves in the human forearm: early results from a prospective, randomized clinical study. *J Hand Surg [Am]* 1997; 22- A:99-106.
63. Dellon AL, Mackinnon SE. Alternative to the classical nerve graft for the management of the short nerve gap. *Plast Reconstr Surg* 1988; 82:849-56.
64. Norris RW, Glasby MA, Gattuso JM, Bowden RE. Peripheral nerve repair in humans using muscle autografts: A new technique. *J Bone Joint Surg (Br)* 1998; 70- B:530-3.
65. Bora FW, Jr, Pleasure DE, Didizian NA. A study of nerve regeneration and neuroma formation after nerve suture by various techniques. *J Hand Surg Am*. 1976 Sep;1(2):138-143.
66. Doherty P, Dickson JG, Flanigan TP, Leon A, Toffano G, Walsh FS. Molecular specificity of ganglioside effects on neurite regeneration of sensory neurons in vitro. *Neurosci Lett*. 1985 Dec 4;62(2):193-8.
67. Wang MS, Chen ZW, Zhang GJ, Chen ZR. Topical GM1 ganglioside to promote crushed rat sciatic nerve regeneration. *Microsurgery*. 1995;16(8):542-6.

68. Lehmann HC, Lopez PH, Zhang G, Ngyuen T, Zhang J, Kieseier BC, et al. Passive immunization with anti-ganglioside antibodies directly inhibits axon regeneration in an animal model. *J Neurosci*. 2007 Jan 3;27(1):27-34.
69. Rutkowski JL, Tennekoon GI, McGillicuddy JE. Selective culture of mitotically active human Schwann cells from adult sural nerves. *Ann Neurol*. 1992 Jun;31(6):580-6.
70. Salyapongese AN, Billiar TR, Edington H. Gene therapy and tissue engineering. *Clinics in Plastic Surgery*. October 1999;26(4):663-76.
71. Rice DH, Berstein FD. The use of autogenous vein for nerve grafting. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1984 Aug;92(4):410-2.
72. Strauch B, Ferder M, Lovelle-Allen S, Moore K, Kim DJ, Llena J. Determining the maximal length of a vein conduit used as an interposition graft for nerve regeneration. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1996 November;12(8):521-7.
73. Weber RV, Mackinnon SE. Bridging the neural gap. *Clin Plast Surg*. 2005 Oct;32(4):605-16.
74. Raimondo S, Nicolino S, Tos P, Battiston B, Giacobini-Robecchi MG, Perroteau I, et al. Schwann cell behavior after nerve repair by means of tissue-engineered muscle-vein combined guides. *J Comp Neurol*. 2005 Aug 22;489(2):249-59.
75. Sobol JB, Lowe IJ, Yang RK, Sen SK, Hunter DA, Mackinnon SE. Effects of delaying FK506 administration on neuroregeneration in a rodent model. *J Reconstr Microsurg*. 2003 Feb;19(2):113-8.