

Contribución de fibras mielínicas provenientes de los nervios espinales lumbares L4, L5 y L6 al nervio ciático de rata adulta y sus ramas principales

JOHN J. SUTACHÁN¹, JOSÉ V. MONTOYA¹, JEANELLE ARIZA¹, MIGUEL BALDOVINO², MARLEN ARIAS¹,
JUAN D. ROBLES¹, HERNÁN HURTADO³

EL NERVIPO CIÁTICO DE LA RATA ESTÁ FORMADO POR LOS NERVIOS ESPINALES (NE) lumbares L4, L5 y L6. Sin embargo, aún no se ha definido el aporte en fibras mielínicas de estos nervios espinales a lo largo del tronco nervioso. En este estudio se transectaron selectivamente los NE L4, L5 y L4-L5. Luego de una semana se disecaron los nervios ciático, tibial, sural y peroneal. Estas muestras se fijaron y procesaron para microscopía óptica y a partir de cortes coloreados con azul de toluidina se contaron las fibras mielínicas degeneradas y normales. L4 contribuyó con fibras mielínicas principalmente al nervio peroneal y L5 a los nervios ciático, tibial y sural. En general, el aporte de L6 fue menor y variable a lo largo del tronco nervioso comparado con las otras dos ramas espinales. Nuestros resultados brindan información valiosa para posteriores estudios que busquen correlacionar la contribución de los nervios espinales que componen el ciático y sus ramas principales con la función de la extremidad inferior.

.....
¹ B. Sc. Laboratorio de Neurociencias, Instituto Nacional de Salud

² M. Sc. Universidad del Atlántico

³ Ph.D. Laboratorio de Neurociencias, Instituto Nacional de Salud

Correspondencia del autor

Hernán Hurtado Ph.D. Laboratorio de Neurociencias, Instituto Nacional de Salud. Avenida Eldorado, Carrera 50, zona 6, Santafé de Bogotá, Colombia. Teléfono: (571) 2220577 Exts. 433 o 502. Fax (571) 2220194. E-mail hhurtado@hemagogus.ins.gov.co., hurtis@hotmail.com

PALABRAS CLAVE

NERVIO CIÁTICO

FIBRAS MIELÍNICAS

CONTRIBUCIÓN DE LOS NERVIOS
ESPINALES

INTRODUCCIÓN

UN PROFUNDO CONOCIMIENTO de la topografía original de los nervios, junto con el uso de finas técnicas microquirúrgicas pueden ayudar a mejorar la especificidad de la reinervación y la recuperación funcional de los nervios lesionados (1,2) Estudios usando los nervios mediano, ulnar y radial (3,4) y el nervio ciático del perro (5) demostraron que existe una segregación de las fibras nerviosas que se originan de las ramas espinales que forman estos troncos nerviosos. Sin embargo, se desconoce el número y origen de las fibras nerviosas distribuidas en esos territorios intrafasciculares lo que dificulta evaluar la efectividad de cualquier método de reparación que busque restaurar la topografía original.

Se han empleado múltiples metodologías para determinar el origen espinal del nervio ciático de la rata adulta: disecciones anatómicas (6,7), trazadores retrógrados (8) y las transecciones completas de los nervios espinales (5). Todas ellas han permitido definir que el nervio ciático de la rata es de naturaleza mixta y se forma a partir de los nervios espinales lumbares L4, L5 y L6 (6,7,9). La sección completa del nervio periférico provoca una serie de cambios degenerativos en los troncos nerviosos proximal (reacción retrógrada de la célula nerviosa) y distal a la lesión (degeneración Walleriana) (8,10,11). La degeneración Walleriana compromete las fibras nerviosas distales a la lesión, a los blan-

cos que ella inerva y a las células y tejidos asociados (8,11). En el axón, el principal evento que ocurre es la destrucción del citoplasma y del citoesqueleto quedando un material granular y amorfo que se asocia con fibras colágenas y varios tipos de células (fibroblastos y macrófagos) formando depósitos endoneuriales identificables por histología (8,12). A su vez, la vaina de mielina que envuelve la fibra sufre alteraciones en sus proteínas estructurales y lípidos asociados (13) (alrededor de la primera semana) (11,12) y se acumulan en estructuras ovoides o elipsoides de fácil identificación por microscopía óptica. El desarrollo de este trabajo se basa sobre los cambios observados en el axón y en la envoltura de mielina luego de una transección nerviosa. El objetivo del presente estudio fue determinar la contribución de fibras mielínicas provenientes de los nervios espinales L4, L5 y L6 a los segmentos nervioso ciático medio, peroneal, tibial y sural en la rata.

MATERIALES Y MÉTODOS

DIECISÉIS RATAS WISTAR SE DISTRIBUYERON en tres grupos experimentales y uno de control, cada uno con el mismo número de animales: 1) lesión de L4, 2) lesión de L5 y 3) lesión conjunta de L4 y L5 y 4) grupo control (con cirugía pero sin lesión del nervio espinal). La contribución de L4 y L5 a los nervios ciático medio, tibial, sural y peroneal se determinó en los grupos 1 y 2. El grupo 3 permitió definir el número de fibras provenientes de la rama espinal lumbar L6 (esta rama no fue lesionada debido a su difícil acceso en la cirugía). En el grupo control se obtuvo el valor promedio de fibras nerviosas mielínicas para cada nivel.

A cada rata de los grupos experimentales se le administró atropina (0.07 mg/kg) por vía subcutánea y pasados 10 minutos se le aplicó anestesia (keta-

mina 90 mg/kg y xilazina 15 mg/kg) por vía intraperitoneal. Se realizó una incisión en el lado paravertebral derecho, de tres cm de largo, en dirección caudocefálica desde la unión del miembro posterior con el tronco. Se ubicaron los nervios espinales L4 y L5 y se hizo la respectiva lesión de acuerdo con cada grupo experimental. Posteriormente, cada animal se suturó y se dejó en recuperación con agua y comida ad libitum. Pasados ocho días cada animal fue perfundido por vía intraaórtica con solución de lavado (glucosa 0,1%; procaína 0,1% y NaCl 0,8% pH 7.4 (14) y una solución fijadora (paraformaldehído 2% y glutaraldehído al 2,5 %), preparada en amortiguador fosfato M, pH 7.3. Se extrajeron los siguientes segmentos nerviosos: ciático medio (A) (en la parte media del muslo), tibial (B) (inmediatamente anterior a su entrada en los gemelos), sural (C) (en la parte media de los gemelos) y peroneal (D) (cerca a la rótula) (Figura N° 1). Las piezas fueron posfijadas con tetróxido de osmio, se deshidrataron con baños sucesivos de etanol en concentración ascendente. Se impregnaron y embebieron en resina epóxica (Polibed 812®). De cada muestra se obtuvieron cortes de 1mm y se colorearon con azul de toluidina. A partir de montajes de las microfotografías de estos segmentos nerviosos (Figura N° 2) se cuantificaron las fibras normales (identificadas por su vaina de mielina intacta y provenientes de los nervios espinales no lesionados) y las fibras degeneradas (identificadas por los ovillos de mielina y provenientes de los nervios espinales lesionados). Se obtuvieron los promedios de fibras mielínicas degeneradas con su respectivo error estándar así como sus respectivos porcentajes (tabla N° 1). A continuación se aplicó un análisis estadístico de ANOVA en una sola vía para cada uno de los grupos experimentales en los diferentes segmentos nerviosos analizados, con el fin de identificar los principales segmentos nerviosos a los cuales contribuye cada rama espinal.

Figura N° 1
NERVIO CIÁTICO DE RATA. NIVELES ANALIZADOS: CIÁTICO MEDIO (A), TIBIAL (B), SURAL (C) Y PERONEAL (D).

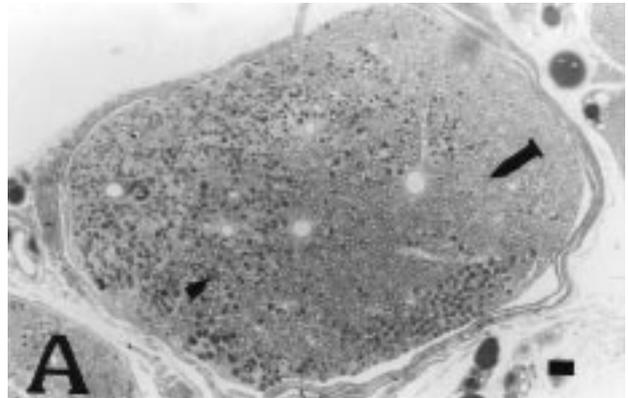
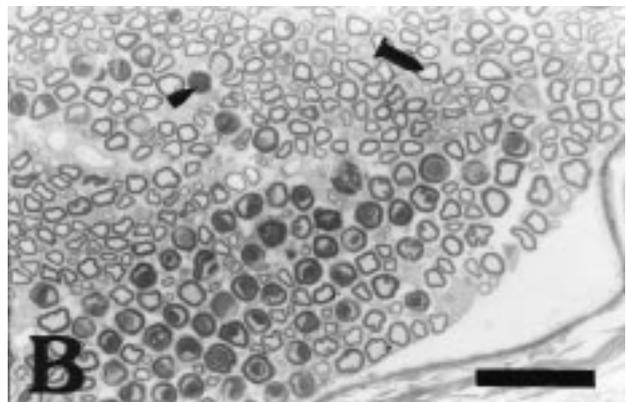


Figura N° 2
NERVIO PERONEAL. A. PREVIA LESIÓN DE L4. PUNTAS DE FLECHA: FIBRAS DEGENERADAS. FLECHAS: FIBRAS NORMALES. B. DETALLE DE A. BARRA 40 MM



RESULTADOS

LA TRANSECCIÓN SELECTIVA DE LAS RAMAS ESPINALES L4, L5 y L4-L5 permitió determinar la contribución de las fibras mielínicas provenientes de los nervios espinales L4, L5 y L6 a los nervios ciático medio, tibial, peroneal y sural (Tabla N° 1). Las ramas

espinales L4, L5 y L6 aportaron fibras mielínicas a todos los niveles analizados. La rama espinal L4 aportó un mayor porcentaje de fibras mielínicas al nervio peroneal (40%) comparada con las otras dos ramas espinales. La rama espinal L5 contribuyó con fibras nerviosas principalmente a los nervios ciático medio (36.1%), tibial (36.3%) y sural (65.5%). La rama espinal L6 contribuyó principalmente al nervio sural (40.8%) aunque su aporte es variable a lo largo del tronco nervioso. En todos los niveles analizados la contribución de L6 fue menor comparada con las otras dos ramas espinales excepto para el aporte de L4 al nervio sural. Se identificaron 2 a 5 fascículos nerviosos en el ciático medio y el tibial, 1 a 5 fascículos en el sural y solamente un fascículo en el nervio peroneal.

Tabla N° 1

CONTRIBUCIÓN EN FIBRAS MIELÍNICAS DE LOS NERVIOS ESPINALES L4, L5, Y L6 AL NERVIPO CIÁTICO Y SUS RAMAS PRINCIPALES

Nervio espinal	L4	L5	L6
	X	X	X
Ciático	841.8± 99.6	1221± 210.2 ^a	375± 21.1 ^a
Tibial	492.2± 100.6	809.2± 122.9 ^b	279.5± 86.5 ^b
Sural	21± 5.6	221.2± 42.1 ^c	162± 93
Peroneal	437.5± 30 ^d	233.2± 28.2 ^e	63.6± 14 ^d

Los datos representan promedios ± S.E.M.

- a. L4 < L5 > L6 (p<0.01)
- b. L4 < L5 > L6 (p<0.05)
- c. L4 < L5 (p<0.01)
- d. L6 < L4 > L5 (p<0.01)
- e. L5 > L6 (p<0.05)

DISCUSIÓN

LOS DIFERENTES ESTUDIOS QUE HAN PERMITIDO definir el origen espinal del nervio ciático de la rata adulta, sólo se remontan a su análisis anatómico; se desconoce el número de fibras que cada una de las ramas espinales aporta a lo largo del tronco nervioso. Se ha descrito que el nervio ciático de la rata está formado por los nervios espinales L4, L5 y L6 (6,7), con algunas variaciones interindividuales. Fibras de los nervios espinales L3 y sacro 1 (S1) también pueden contribuir al ciático. La cantidad de fibras nerviosas mielínicas encontrada en este estudio en el nervio ciático y sus principales ramas fue menor que la reportada en estudios previos usando microscopía electrónica (15) debido a que nuestra metodología no permite identificar las fibras nerviosas mielínicas degeneradas y normales de diámetros muy pequeños.

La alta variabilidad en el número de fascículos nerviosos de los niveles analizados excepto en el nervio peroneal sugiere la existencia de variaciones interindividuales en esta especie. Esta variabilidad ha sido descrita en perros también dependiendo del segmento nervioso analizado (5).

Cuando se lesionan los nervios ciático, tibial y peroneal es posible determinar el grado del déficit funcional según las fórmulas de Bain y Mackinnon. De acuerdo con estos estudios, las fibras nerviosas que componen los nervios ciático, peroneal y tibial determinan sus respectivos índices funcionales (IF) definidos por Bain (1989) como IFC, IFP e IFT (2,3). Nuestros resultados muestran que L4 aporta fibras principalmente al nervio peroneal y L5 al tibial por lo cual se puede inferir que las fibras provenientes de L4 sean las que contribuyen al IFP y las de L5 al IFT. El aporte de L4 y L5 sería al IFT. Sin embargo, se necesitan otros estudios para comprobar esta hipótesis.

Nuestros resultados permiten tener una aproximación de la cantidad de fibras provenientes de los nervios espinales que conforman el ciático y sus ramas principales lo que sirve como soporte a trabajos posteriores que busquen correlacionar la contribución de estas ramas espinales a la función del miembro posterior así como a otros trabajos que evalúen diferentes técnicas de reparación intra-neural (16) con el fin de lograr la mayor especificidad en la reinervación de los blancos originales y, por tanto, la mejor recuperación funcional.

SUMMARY

CONTRIBUTION OF MYELINATED FIBERS FROM SPINAL L4, L5 AND L6 NERVES TO THE SCIATIC NERVE AND ITS MAIN BRANCHES IN THE ADULT RAT

The rat sciatic nerve is composed by the L4, L5 and L6 lumbar spinal nerves. However, the contribution in myelinated fibers originating from these nerves along this nervous trunk has not yet been defined. In the present study, the L4, L5 and L4-L5 spinal nerves were selectively transected. After one week the sciatic, tibial, sural and peroneal nerves were dissected. These samples were fixed and processed for optical microscopy, and both degenerated and normal myelinated fibers were counted in toluidine blue-stained semi-thin sections. L4 contributed with myelinated fibers mainly to the peroneal nerve, and L5 to the sciatic, tibial and sural nerves. In general, the contribution of L6 was smaller and variable along the nervous trunk in comparison to the other two spinal branches. Our results give key information for further studies looking to correlate the contribution of spinal nerves making part of the sciatic nerve and its main branches with hind limb function.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAIN J, MACKINNON S, HUNTER D. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1988; 83: 129-136.
2. HARE GM, EVANS PJ, MACKINNON SE. Walking track analysis: utilization of individual footprints parameters. *Ann Plast Surg* 1993; 30: 147-153.
3. ARAKAWA H, ODA K, KIMURA H, TANOUE Y. Über den Verlauf der markhaltigen Nervenfasern mit plexus brachialis des Kaninchens durch die Marchi-Methode. (Japanese). *Acta Anatomica Japonica* 1965; 40: 38-39.
4. ARAKAWA H, UEMURA M, UYAMA T. Über den Verlauf der markhaltigen Nervenfasern mit plexus brachialis des Hundes durch die Marchi-Methode. (Japanese). *Acta Anatomica Japonica* 1968; 43: 46.
5. Ueyama T. The topography of root fibres within the sciatic nerve trunk of the dog. *J Anat* 1977; 127: 277-290.
6. GELDERD J, CHOPIN S. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. *Anat Rec* 1977; 88: 45-47.
7. GONZALES-DARDER JM. Experimental microsurgical repair of spinal roots. *Neurosurg* 1993; 33: 1.083-1.087.
8. GRIFFIN JW, HOFFMAN PN. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In: Dick PJ, Thomas PK, eds. *Peripheral neuropathy*. 3^d ed. Philadelphia: Saunders Company; 1993; Vol I.
9. SWEET JE, WIKHOLM RP, BLANKS RH, SWEET AL, CONLEY LC. Motoneurons of the rat sciatic nerve. *Exp Neurol* 1986; 93: 227-252.
10. LUNBORG G. *Nerve injury and repair*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988: 149-186.
11. SUNDERLAND S. Degeneration of the axon and associated changes. In: *Nerves and nerve injuries*. 2^a ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1978: 108-132.
12. SCHLAEPFER WW, HASLER M. The persistence and possible externalization of axonal debris during wallerian degeneration. *J Neurochem* 1978; 243-252.

13. GOODRUM JF, BOULDIN TW. The cell biology of myelin degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. *J Neuropath Exp Neurol* 1996; 55: 943-953.
14. HURTADO H. Peripheral nervous system regeneration in the rat: "The regeneration chamber model". Tesis de doctorado. Universidad Católica de Lovaina la Nueva. Bélgica. 1990.
15. SCHMALBRUCH H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. *Anat Rec* 1986; 215: 71-81.
16. WILLIAMS HB, JABALEY ME. The importance of internal anatomy of peripheral nerves to nerve repair in the forearm and hand. *Hand Clinic* 1986; 2: 689-707.

