



ISSN: 1697-090X

[Inicio Home](#)[Índice del volumen Volume index](#)[Comité Editorial Editorial Board](#)[Comité Científico Scientific Committee](#)[Normas para los autores Instruction to Authors](#)[Derechos de autor Copyright](#)[Contacto/Contact:](#)

APLICACIÓN DEL ÍNDICE CIÁTICO FUNCIONAL COMO ANALISIS DE LA FUNCIONALIDAD NERVIOSA EN UN MODELO ANIMAL EN RATA

**María Rodríguez Díaz, Elsa González Cubero, María Luisa González
Fernández, Vega Villar Suarez.**

**Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria
Facultad de Veterinaria de Universidad de León.
León, España.**

Email: maria.rodriguez.diaz@gmail.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2023;1:28-35.

[Comentario del revisor Dr. Jorge Labrador MD, PhD.](#) Jefe de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Burgos. Burgos, España.

[Comentario de la revisora Dra. María Jesús Coma, MD, PhD.](#) Editora de Revista Electrónica de Biomedicina. Miembro del Patronato de la Fundación Burgos por la Investigación de la Salud. Burgos. España.

RESUMEN:

La fisiopatología de la ciática es un proceso complejo en el que intervienen diversas sustancias y mecanismos en distintos niveles, cuya interacción aún no se comprende completamente. Durante la degeneración del disco, se elevan los niveles de citoquinas proinflamatorias, se intensifica la degradación del colágeno y del agregano en la matriz extracelular, y se producen alteraciones en los fenotipos de los tejidos discales.

Los tratamientos tradicionales, como la farmacoterapia, la neurocirugía y los bloqueantes anestésicos, no han logrado aliviar de manera efectiva el dolor ciático a largo plazo. Actualmente, es necesario desarrollar nuevas terapias que puedan actuar de forma simultánea sobre funciones específicas de múltiples citoquinas clave. Investigaciones recientes han evidenciado que las células troncales mesenquimales tienen la capacidad de modular la respuesta de algunas de estas citoquinas.

Este estudio tuvo como finalidad analizar el efecto inmunomodulador y neuroprotector de las células troncales mesenquimales derivadas del tejido adiposo, así como del medio condicionado obtenido de su cultivo, en el nervio ciático inflamado. Para ello, se empleó un modelo de inflamación del nervio ciático en ratas Sprague-Dawley, inducidas mediante factor de necrosis tumoral. Un grupo de ratas recibió tratamiento con células troncales mesenquimales de tejido adiposo, mientras que otro fue tratado con el medio condicionado extraído del cultivo de dichas células.

Valoramos la recuperación funcional tras la lesión inflamatoria través del Índice Funcional Ciático (SFI) es un parámetro útil para evaluar el progreso durante la deambulación, la rata deja marcada su huella en un papel tras pasar por un filtro de tinta.

Los resultados conseguidos expresan la pérdida funcional en términos de porcentaje: el valor 0 es el que representa la función normal o ausencia de disfunción, y el valor -100 es el que representa la pérdida total de la función

Con todos los resultados obtenidos, podemos afirmar que tanto las células troncales mesenquimales procedentes de tejido adiposo como el medio condicionado recogido de su cultivo, tienen una capacidad inmunomoduladora y regenerativa importantísima en los nervios con una inflamación inducida mediante TNF.

PALABRAS CLAVE: Células troncales mesenquimales, medio condicionado, lesión nerviosa.

ABSTRACT:

The pathophysiology of sciatica is a complex process involving various substances and mechanisms at different levels, whose interaction is not yet fully understood. During disc degeneration, levels of pro-inflammatory cytokines increase, collagen and aggrecan degradation in the extracellular matrix intensifies, and changes occur in the phenotypes of disc tissues.

Traditional treatments, such as pharmacotherapy, neurosurgery, and anesthetic blockers, have not been effective in providing long-term relief from sciatic pain. Currently, new therapies are needed that can simultaneously target specific functions of multiple key cytokines. Recent studies have shown that mesenchymal stem cells have the ability to modulate the response of some of these cytokines.

This study aimed to analyze the immunomodulatory and neuroprotective effects of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, as well as the conditioned medium obtained from their culture, on the inflamed sciatic nerve. For this purpose, a model of sciatic nerve inflammation was used in Sprague-Dawley rats, induced by tumor necrosis factor. One group of rats was treated with adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, while another group received treatment with the conditioned medium collected from the culture of these cells.

We assessed functional recovery after inflammatory injury using the Sciatic Functional Index (SFI), a useful parameter for evaluating progress during ambulation. The rat leaves a footprint on paper after walking through an ink filter. The results express functional loss in percentage terms: a value of 0 represents normal function or absence of dysfunction, while a value of -100 represents total functional loss.

Based on all the results obtained, we can conclude that both mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and the conditioned medium collected from their culture possess significant immunomodulatory and regenerative capabilities in nerves with inflammation induced by TNF.

KEY WORDS: Mesenchymal stem cells, conditioned medium, nerve injury.

INTRODUCCION

En 1934, Mixter y Barr,¹ relacionaron por primera vez el dolor ciático con la hernia de disco, y atribuyeron el dolor a la compresión mecánica de la hernia sobre la raíz.

La fisiopatología de la ciática es un proceso complejo en el que intervienen diversas sustancias y mecanismos en distintos niveles, cuya interacción aún no se comprende completamente². Durante la degeneración del disco, se elevan los niveles de citoquinas proinflamatorias, se intensifica la degradación del colágeno y del agregano en la matriz extracelular, y se producen alteraciones en los fenotipos de los tejidos discales³.

El tratamiento de referencia ha sido el quirúrgico en todos aquellos pacientes con ciática refractaria. Sin embargo, datos recientes demuestran que la ciática no es provocada únicamente por compresión mecánica, sino también por factores inflamatorios⁴.

Los tratamientos convencionales del dolor ciático se basan en la utilización de anti-inflamatorios no esteroideos y corticoides. Entre las citoquinas inflamatorias, específicamente el factor de necrosis tumoral (TNF) parece estar íntimamente implicado en la ciática aguda y se han iniciado ensayos clínicos con sus inhibidores con resultados variables. Otras citoquinas como las interleucinas 1 y 6 han sido investigadas como dianas terapéuticas para buscar antiinflamatorios específicos y están en fase experimental Pero estos tratamientos son caros y no son factibles a corto plazo⁴.

En los últimos años, se ha investigado el potencial inmunomodulador de las Células Troncales Mesenquimales por sus propiedades inmunosupresoras y anti-inflamatorias. Y hay evidencias prometedoras en medicina regenerativa por su plitipotencialidad y capacidad inmunomoduladora⁷⁻⁹.

En dicho contexto clínico surge la necesidad de desarrollar modelos y evaluaciones fiables de dolor y funcionalidad tras lesiones nerviosas en modelos animales que nos permitan evaluar estas nuevas terapias avanzadas en estudios preclínicos animales antes de ensayarlas en humanos por motivos éticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales:

20 hembras de rata de la cepa Sprague-Dawley, de 6 meses y una media de 300-350g de peso, procedentes del Animalario de la Universidad de León.

Biomateriales:

Para vehicular las células empleamos una membrana de colágeno ZIMMER, biomaterial reabsorbible de colágeno tipo I, no friable, compacta, blanca, fabricada a partir de tendón de Aquiles bovino.

Métodos

- Obtención de tejido adiposo de rata
- Aislamiento de Células Troncales Mesenquimales de Tejido Adiposo (ASCs).
- Cultivo en monocapa
- Siembra sobre el biomaterial (ZIMMER®)
- Medio condicionado (MC): Los medios de cultivo obtenidos a partir de ASCs de rata fueron tomados tras 12 horas de incubación con las células y almacenados a -80°C.

Grupos experimentales:

Como controles se utilizaron 4 ratas a las que no se les realizó ninguna intervención quirúrgica y 4 ratas que fueron intervenidas y se les colocó únicamente biomaterial alrededor del nervio ciático, para comprobar si el biomaterial por sí sólo tenía algún efecto.

Los grupos experimentales fueron tres: 4 ratas que se intervinieron colocándoles el biomaterial embebido en factor de necrosis tumoral (TNF), 4 ratas que siguieron el mismo procedimiento pero aplicándoles TNF y CM, y 4 ratas a las que se les puso TNF y ASCs.

Anestesia:

Se empleó anestesia inhalatoria mediante isoflurano.

Método quirúrgico:

La rata se coloca en decúbito lateral.

Se realiza una incisión oblicua desde la cresta iliaca a extremidad femorotibial. Se disecciona el músculo bíceps femoral. Al separar el bíceps femoral se expone el nervio ciático.

Una vez expuesto el nervio ciático se realiza una disección del mismo con material de microcirugía y se coloca el biomaterial realizando un manguito alrededor del nervio mediante puntos sueltos de material no absorbible (nylon; Ethilon®) de 6/0. La colocación del biomaterial embebido en TNF, TNF+ASCs o TNF+CM en forma de manguito ha resultado de máxima utilidad ya que por un lado el biomaterial es estéril, moldeable y fácilmente suturable, no provocando reacción inflamatoria por sí mismo.

El índice ciático funcional (SFI)

Consiste en una prueba de evaluación funcional de resultados que se realiza a las ratas tres semanas después de la intervención quirúrgica. Se tiñe la superficie plantar de las patas posteriores de la rata, una operada y la otra sin operar, y se la deja caminar libremente

sobre un papel blanco. Obtenemos el dibujo de las huellas, de las cuales se toman tres medidas: Distancia del talón al tercer dedo (PL) Longitud de impresión; Distancia del primer al quinto dedo (TS) Extensión de los dedos; Distancia del segundo al cuarto dedo Spread (ITS) Extensión intermedia de los dedos.

Los valores conseguidos a partir de las huellas se aplicaron en la fórmula propuesta por Bain et al. ¹⁰

El índice da un valor 0 cuando la función es normal, y un valor -100 asociada a la degeneración más acusada del nervio, que es la producida con la exposición a TNF.

El SFI se midió en todas las ratas antes del sacrificio y se compararon las medidas plantares de la extremidad intervenida (experimental) y la que no se intervino (normal).

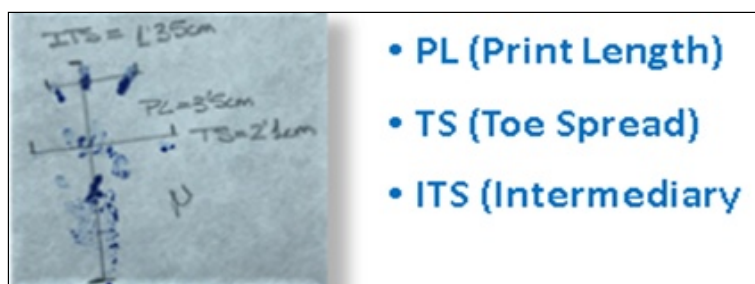


Figura 1

RESULTADOS

En la figura 2 se observan las diferencias entre las extremidades posteriores tratadas y no tratadas.



Figura 2

Se aprecia claramente cómo la posición de los dedos no varía en la rata control con biomaterial y es muy manifiesta la posición encogida de los dedos en las ratas en las que se ha inducido la inflamación con TNF y no se han tratado.

Las ratas en las que se les ha inducido la inflamación y se han tratado con ASCs o medio condicionado, la mayor parte de ellas, presentan una posición de los dedos muy similar a la del control con biomaterial. El SFI es próximo a 0 cuando la función es normal y a -100 cuando la alteración funcional es total.

En nuestro caso, en las ratas control con biomaterial se obtuvo un índice medio de -23,6, en las ratas con TNF el valor obtenido fue de -74,09 y en las tratadas con ASCs y MC -9.7 y -21.5 respectivamente. Valores éstos últimos muy parecidos e incluso mejores que en las ratas control. Lo que indica que la recuperación funcional de la extremidad en las ratas

tratadas es completa. Con estos valores observamos que sólo las ratas con TNF presentan diferencias estadísticamente significativas con el resto de las condiciones.

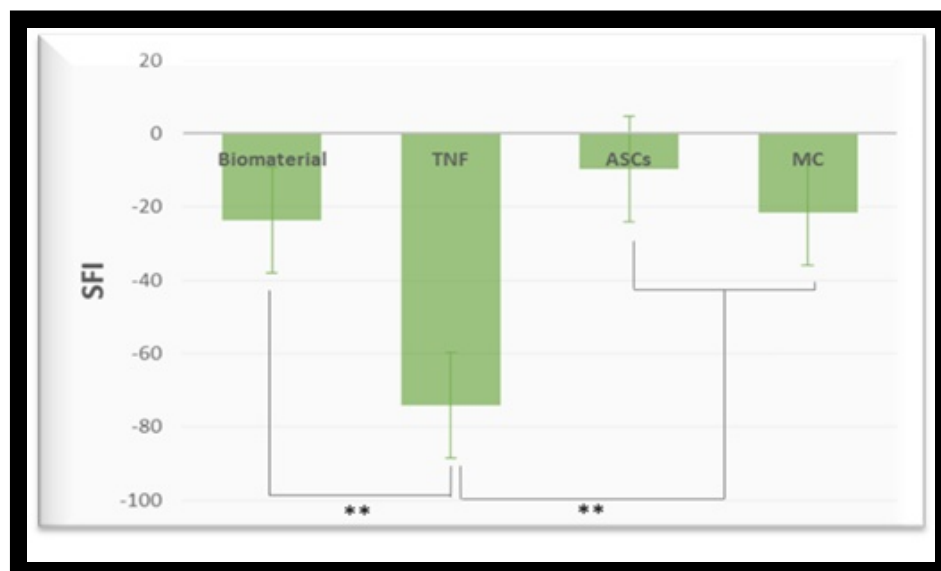


Figura 3. $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **.

Resultados estadísticos: En la tabla 3 se exponen gráficamente los resultados estadísticos del SFI:

- TNF con Biomaterial. $p = 0.0089$;
- TNF con ASCs $p = 0.0077$;
- TNF con CM. $p = 0.0097$

DISCUSIÓN

Gracias a la utilización del SFI, un método económico y fácil de desarrollar para cualquier instalación de animales de experimentación podemos afirmar que tanto las ASCs como el CM tienen una capacidad inmunomoduladora y regenerativa de los nervios con una inflamación inducida mediante TNF.

Otros métodos de evaluación neurofisiológica como realización de un potencial de acción neurógeno (estímulo y registro en el mismo nervio) y un potencial de acción motor compuesto (estímulo en nervio y registro en músculo), técnicas electromiografía cuantificada y electro neurografía, todos ellos requieren equipos y material de elevado coste que no figuran en el inventario habitual de los centros de experimentación animal, además su utilización e interpretación de resultados requiere la participación de personal especialista.

Estos resultados podrían tener aplicación en el tratamiento de las lesiones nerviosas y del dolor de origen discogénico aunque es necesario desarrollar nuevas investigaciones para determinar exactamente los mecanismos de inmunomodulación y regeneración que tienen lugar en las terapias celulares y determinar los factores bioactivos responsables de esta inmunomodulación.

CONCLUSIÓN

El IFC es el enfoque más confiable para evaluar la recuperación funcional, ya que facilita la integración entre los sistemas sensorial y motor. Además, destaca por su versatilidad, dado que su aplicación es sencilla y su costo es menor en comparación con otros métodos.

REFERENCIAS

1. Olmarker K, Rydevik B, Nordborg C. Autologous nucleus pulposus induces neurophysiologic and histologic changes in porcine cauda equina nerve roots. *Spine*, 1993;18(11), 1425-1432.
2. Falconer MA, McGeorge M, Begg AC. Observations on the cause and mechanism of symptom-production in sciatica and low-back pain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1948;11(1):13-26.
3. Doita M, Kanatani T, Ozaki T, Matsui N, Kurosaka M, Yoshiya S. Influence of macrophage infiltration of herniated disc tissue on the production of matrix metalloproteinases leading to disc resorption. *Spine*, 2001;26(14): 1522-1527.
4. Mulleman D, Mammou S, Griffoul I, Watier H, Goupille P. Pathophysiology of disk-related sciatica. I.-Evidence supporting a chemical component. *Joint, bone, spine*, 2006;73(2): 151-158.
5. Olmarker K, Rydevik B. Pathophysiology of sciatica. *Orthop Clin North Am*. 1991;22(2):223-234.
6. Yoo KH, Jang IK, Lee MW, Kim HE, Yang MS, Eom Y, Lee JE, Kim YJ, Yang SK, Jung HL, Sung KW, Kim CW, Koo HH. Comparison of immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells derived from adult human tissues. *Cell Immunol*. 2009;259(2):150-156.
7. Musina RA, Bekchanova ES, Sukhikh GT. Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bull Exp Biol Med*. 2005;139(4):504-509.
8. Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, Blake J, Schwager C, Eckstein V, Ansoerge W, Ho AD. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol*. 2005;33(11):1402-1416.
9. De Bari C, Dell'Accio F, Vandenabeele F, Vermeesch JR, Raymackers JM, Luyten FP. Skeletal muscle repair by adult human mesenchymal stem cells from synovial membrane. *J Cell Biol*. 2003;160(6):909-918
10. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*, 1989;83:129-138.

CORRESPONDENCIA:

Dra. María Rodríguez Díaz

Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria.

Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Campus de Vegazana.

24071, León. ESPAÑA
Mail: maria.rodriguez.diaz@gmail.com

Comentario del revisor Dr. Jorge Labrador MD, PhD. Jefe de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Burgos. Burgos, España.

Los resultados obtenidos evidencian que tanto las células troncales mesenquimales de tejido adiposo (ASCs) como el medio condicionado o secretoma recogido de su cultivo tienen una capacidad inmunomoduladora y regenerativa importantísima.

La utilización del secretoma completo obtenido a partir de las ASCs se engloba dentro de lo que se denomina terapia libre de células que ofrece ventajas importantes sobre las terapias basadas en la administración de células (terapia celular). Al utilizar productos sin células, se pueden mitigar los riesgos asociados con el trasplante celular, como el rechazo inmunológico, la tumorigenicidad y la necesidad de una fuente de células adecuada.

Es imprescindible desarrollar nuevas investigaciones para determinar exactamente los mecanismos de inmunomodulación y regeneración que tienen lugar, por ello la validación de métodos de valoración funcional en ensayos preclínicos tienen gran importancia.

Comentario de la revisora Dra. María Jesús Coma, MD. PhD. Editora de Revista Electrónica de Biomedicina. Miembro del Patronato de la Fundación Burgos por la Investigación de la Salud. Burgos. España.

La utilización del Índice Ciático Funcional (SFI) permite cuantificar la recuperación funcional tras la lesión nerviosa. El análisis estadístico mediante ANOVA permite comprobar que los datos siguen una distribución normal y los resultados con $p = 0.05$ se consideran estadísticamente significativos.

En futuras investigaciones sería conveniente aumentar el número de animales para poder realizar mayor número de pruebas y más determinaciones estadísticas"
