



Facultad de **Medicina**

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

EL PAPEL DE LA NEUROIMAGEN EN EL ESTUDIO
DEL SISTEMA GLINFÁTICO

THE ROLE OF NEUROIMAGING IN THE STUDY OF
THE GLYMPHATIC SYSTEM

Autor/a: Sara Martínez Díez

Director/es: Marta Drake Pérez

David Castanedo Vázquez

Santander mayo 2025

ÍNDICE

ABSTRACT	1
RESUMEN	1
OBJETIVOS	2
METODOLOGÍA	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Anatomía	5
1.2. Función y fisiología	6
1.3. Reguladores principales	7
1.4. Sueño	7
2. PAPEL DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA	8
3. TÉCNICAS CON CONTRASTE	9
3.1. A través de infiltraciones lumbares	9
3.2. Vía periférica	11
3.3. Controversia sobre la administración de gadolinio	12
4. TÉCNICAS SIN CONTRASTE	13
4.1. Imagen por tensor de difusión	13
4.2. Etiquetado por espín arterial	14
4.3. Volumetría de espacios perivasculares	15
4. CONCLUSIONES	16
6. AGRADECIMIENTOS	18
7. BIBLIOGRAFÍA	19

ABSTRACT

The proper function of the central nervous system depends on optimal elimination of waste products such as β -amyloid or other proteins that allow us to maintain cerebral homeostasis. The central nervous system has a system analogous to the lymphatic system, called the glymphatic system, which facilitates the transport and outflow of interstitial fluid through the perivascular spaces thanks to the action of aquaporin-4 (AQP4) channels present in astrocytes, finally draining into the cervical lymph nodes. This system is mainly active during sleep, and its function is impaired with age. The aim of this work is to perform a literature review of the current state of knowledge of the glymphatic system, with special emphasis on the role of neuroimaging. The use of magnetic resonance imaging with its different techniques, which may or may not require the administration of paramagnetic contrast, may allow the study of its activity and, eventually, the development of biomarkers and image-based measurement methods for the preclinical or early diagnosis of multiple neurological diseases.

Key words: Glymphatic System, astrocytes, β -Amyloid, perivascular spaces, magnetic resonance.

RESUMEN

La función adecuada del sistema nervioso central depende de una óptima eliminación de los productos de desecho tales como la β -amiloide u otras proteínas que nos permiten mantener la homeostasis cerebral. El sistema nervioso central presenta un sistema análogo al sistema linfático, denominado sistema glinfático, que facilita el transporte y salida del líquido intersticial a través de los espacios perivasculares gracias a la acción de los canales de acuaporina-4 (AQP4) presentes en los astrocitos, drenando finalmente en los ganglios linfáticos cervicales. Este sistema está principalmente activo durante el sueño, y su funcionamiento se ve deteriorado con la edad. El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica del estado actual del conocimiento del sistema glinfático, con especial énfasis en el papel que juega la neuroimagen. El uso de la resonancia magnética con sus diferentes técnicas, las cuáles pueden requerir o no la administración de contraste paramagnético, permiten estudiar su actividad y eventualmente, desarrollar biomarcadores y métodos de medida basados en imagen para el diagnóstico preclínico o precoz de múltiples enfermedades neurológicas.

Palabras clave: Sistema glinfático, astrocitos, β -amiloide, espacios perivasculares, resonancia magnética.

OBJETIVOS

Esta revisión bibliográfica tiene como principales objetivos:

1. Describir los últimos avances en el conocimiento del sistema glinfático en cuanto a su anatomía, fisiología y principales factores reguladores.
2. Mostrar el resultado de la investigación en este campo tanto en estudios preclínicos en animales de experimentación como los realizados posteriormente en humanos a través de técnicas de neuroimagen. Estos incluyen métodos con contraste administrado por vía intratecal o intravenosa y procedimientos sin contraste, tales como la imagen por tensor de difusión, el etiquetado por espín arterial y la volumetría de espacios perivasculares.
3. Resaltar mediante esta revisión la importancia que tiene el conocimiento del funcionamiento del sistema glinfático para explicar la etiopatogenia de múltiples enfermedades neurológicas, fundamentalmente en el campo de las neurodegenerativas.

METODOLOGÍA

La metodología empleada en este trabajo de fin de grado, planteado en forma de revisión bibliográfica, se basa en la búsqueda realizada mediante el buscador Pub Med y a través de los términos MESH. Se han realizado tres búsquedas mayores, la primera utilizando como término principal "Glymphatic System" y aplicando unos filtros o criterios de inclusión en todas las búsquedas posteriores: artículos de texto completo, publicados desde el 2012, artículos tipo revisión, en inglés y español y tanto de animales como humanos. Se obtuvieron un total de 379 resultados, de los cuales he tenido acceso a 180 y analizando los títulos y el abstract se redujo el número a 80. En la segunda búsqueda se añadieron al término principal los términos "MRI" y "contrast", de los que se obtuvieron 23 resultados y al añadir las palabras "without contrast" solo se obtuvo un artículo, el cuál fue utilizado para el desarrollo de las técnicas sin contraste. Para la última búsqueda se añadieron al término principal "MRI" y "diffusion tensor", obteniendo 7 resultados y añadiendo "arterial spin labelling" se redujo a 2 resultados. Para el desarrollo del trabajo se emplearon un total de 68 artículos.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio del sistema glinfático es un campo emergente en el que han contribuido varios investigadores. Entre los principales autores destacan: Maiken Nedergaard en su descubrimiento, de la mano de Jeffrey J. Iliff (1); Louveau, quién confirmó la existencia de vasos linfáticos funcionales en el cerebro (2); Taoka Testuya, quien aplicó y adaptó estos hallazgos descritos en animales a estudios en humanos con técnicas de difusión por resonancia magnética (RM)(3); y Geir Ringstad, quién evidenció su existencia en humanos a través de técnicas de resonancia magnética (RM) con contraste (4).

El término “glinfático” deriva de “glía” y de “linfa”. Durante años se ha dicho que en el sistema nervioso central (SNC) no existía un sistema linfático tradicional pero recientemente se ha descrito un sistema glinfático, el cual funciona como un circuito de depuración de desechos que cumple las funciones en el resto del organismo (5).

Como se ha expuesto anteriormente, el sistema glinfático fue descubierto por primera vez en el año 2012 de la mano de Maiken Nedergaard y Jeffrey J. Iliff gracias a sus estudios realizados en ratones (1,6). La metodología empleada consistió en la inyección de radiotrazadores fluorescentes y radiactivos de diferente tamaño molecular, en ratones anestesiados para observar el movimiento del flujo sanguíneo cerebral. Los trazadores utilizados fueron el TR-d3 con un tamaño molecular de 3kD y FITC-2000 con un tamaño molecular de 2000 kD. Se demostró que el TR-d3 al tener menor tamaño, no solo se concentró en los espacios perivasculares si no que rápidamente penetró en el intersticio cerebral, desde el espacio perivascular y la superficie pial, a diferencia del FITC-2000, de mayor tamaño, el cual quedó localizado en los espacios perivasculares sin llegar a penetrar en el intersticio (1).

Utilizaron microscopía de dos fotones, una técnica que permite ver estructuras profundas en el cerebro y obtener imágenes de alta resolución en tejidos vivos. Además, modificaron genéticamente algunos de los ratones para ver el papel de la acuaporina-4 (AQP4) en la eliminación de solutos. Para ello eliminaron el gen AQP4 que codifica para esta acuaporina, la cual se expresa principalmente en los pies perivasculares de los astrocitos, favoreciendo el aclaramiento intersticial de solutos. Estos trazadores se inyectaron en los ventrículos laterales para evaluar la entrada al compartimento ventricular, después en la cisterna magna para valorar la entrada desde el espacio subaracnoideo y también en el estriado para ver la eliminación de los solutos como β -amiloide ($A\beta$). Este β -amiloide soluble está presente en el intersticio de un cerebro joven sano y si no se elimina correctamente se forman placas de β -amiloide, sustrato de la enfermedad de Alzheimer (7–9). Los resultados de este estudio demostraron que los ratones sin AQP4 mostraron una reducción del 55 % en la eliminación del β -amiloide y una reducción del 70% en la eliminación de solutos intersticiales (1,10,11).

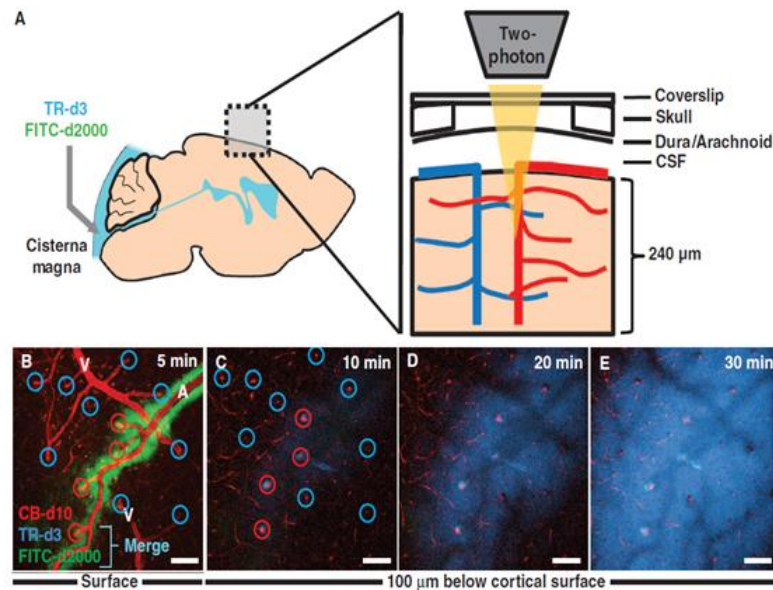


Figura 1. En esta imagen se observa cómo se inyectan en la cisterna magna el Tr-d3 y FITC-d2000, los cuales son marcadores fluorescentes con un peso molecular de 3kD y 2000kD respectivamente; se muestra su penetración en profundidad en el intersticio donde el flujo depende del tiempo de administración y aclaramiento de moléculas. Las imágenes se obtuvieron entre 0 y 240 μ m por debajo de la superficie cortical. Se observa cómo el Tr-d3 difunde rápidamente al intersticio mientras que el FITC-2000 se limita al espacio perivascular. Además, para visualizar la vasculatura cerebral se utilizó el CB-d10, un dextrano fluorescente administrado de forma intraarterial, en donde se identifican las arterias (A) y las venas (V). Los círculos rojos son las arteriolas y los azules las vénulas. El trazador atravesó el exterior de las arterias superficiales, pero no de las venas, demostrando que existe una ruta de eliminación de solutos. Imagen tomada de Iliff J.J et al (1).

Este descubrimiento dio pie a la investigación del sistema glinfático. A partir del 2017, las investigaciones sobre este sistema han incrementado exponencialmente, lo que ha permitido profundizar en su papel clave en la eliminación de desechos metabólicos en el cerebro, especialmente durante el sueño. En noviembre de 2024 la búsqueda del término “glymphatic” aparece en más de 1200 publicaciones en PubMed, lo que evidencia su auge y que sigue siendo un área creciente de estudio (8).

Este sistema ha generado una gran controversia entre los expertos, fundamentalmente por la falta de herramientas para estudiar el cerebro de forma no invasiva, ya que aquellos procedimientos tales como la inserción de cánulas o la apertura directa del cráneo en modelos animales inactivan el sistema glinfático (10,12). Esto sucede a su vez en los estudios postmortem ya que desaparecen los espacios perivascuales llenos de líquido impidiendo el uso de la histología para su estudio (13–15), por lo que, en los últimos años se está empleando el uso de la RM para su análisis in vivo en humanos.

Por lo tanto, en este trabajo se va a describir la arquitectura anatómica de este sistema de intercambio de solutos junto con los reguladores fisiológicos implicados en la homeostasis del sistema. Además, comentaremos los hallazgos

más importantes de los estudios preclínicos en animales de experimentación para centrarnos por último en los estudios en seres humanos realizados mediante RM.

1.1. Anatomía

El flujo glinfático se inicia desde los espacios de líquido cefalorraquídeo (LCR) hacia los espacios perivasculares arteriales también llamados espacios de Virchow-Robin (16). Desde ahí penetra en el parénquima cerebral junto con las arterias y arteriolas penetrantes (17). Una vez en el interior del parénquima, el flujo perivascular difunde al espacio intersticial cerebral, atravesando los pies de los astrocitos, y para ello utiliza diferentes moléculas de acceso como la AQP4. Todo este líquido intersticial, mezclado con el líquido perivascular, confluye hacia los espacios perivasculares venosos, llevando consigo las sustancias de desecho del metabolismo neuronal y astrocitario (18). Desde los espacios perivasculares venosos, existen conexiones con pequeños canales perivasculares alrededor de los grandes senos venosos duros. Finalmente, todo este “flujo glinfático” termina en los ganglios linfáticos cervicales (19).

En relación con esta vía de eliminación, investigaciones posteriores demostraron la presencia de vasos linfáticos funcionales en las meninges, suponiendo un cambio en la fisiología del SNC, tradicionalmente considerado aislado del sistema linfático (2). Mediante el uso de microscopía de fluorescencia y de dos fotones en el tejido meníngeo de los ratones, aplicaron anticuerpos fluorescentes dirigidos a proteínas de células endoteliales linfáticas (Lyve-1, PDPN, VEGFR3) para identificar los vasos linfáticos e inyectaron trazadores fluorescentes en el LCR para observar su transporte a través de los linfáticos meníngeos hacia los ganglios linfáticos cervicales (20). Se identificaron vasos linfáticos en la duramadre conectados con los ganglios linfáticos cervicales y demostraron la capacidad de transportar el LCR, así como células inmunitarias, lo cual tiene implicaciones en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o la esclerosis múltiple abriendo nuevas líneas de investigación (2,21).

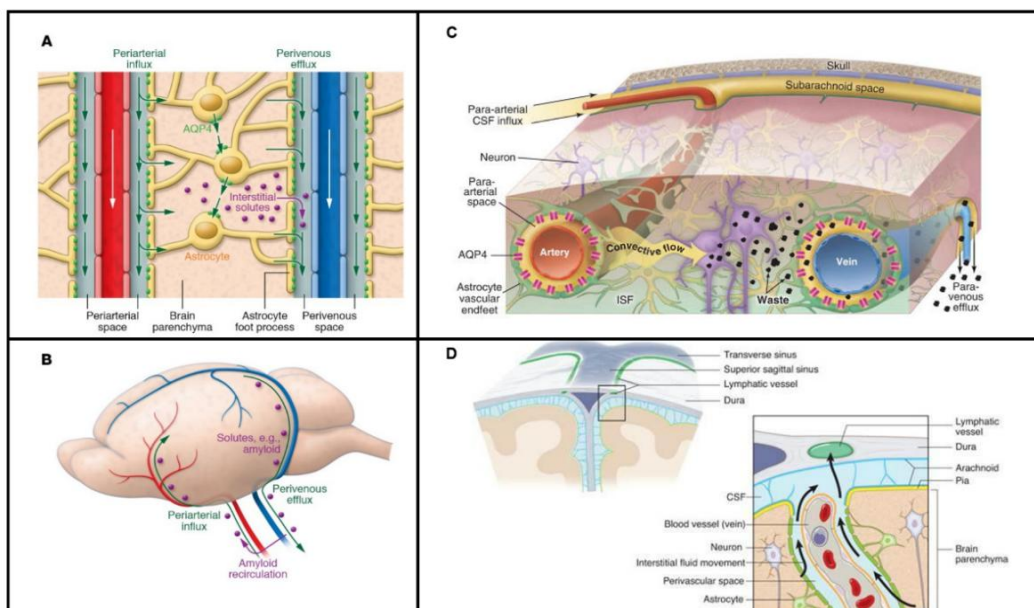


Figura 2. Esta imagen representa los flujos glinfáticos conectivos de LCR y líquido intersticial (A) El LCR dentro de los espacios subaracnoideo y cisternal entra a través de los espacios perivascuales dirigiéndose hacia el parénquima cerebral y se intercambia con el líquido intersticial ayudado por los canales de agua de AQP4 localizados en los astrocitos, el movimiento del LCR hacia el cerebro impulsa el flujo de LCR y los solutos intersticiales para ser eliminados por los espacios perivenosos. (B) Solutos como el β -amiloide pueden salir del cerebro a través de los linfáticos meníngeos o granulaciones aracnoideas, pero una proporción también puede recircular hacia el cerebro por los espacios periarteriales y acumularse posteriormente. (C) El LCR entra por los espacios periarteriales, mostrando su trayecto, impulsando los productos de desecho gracias al movimiento conectivo hacia los espacios perivenosos para posteriormente dirigirse a los vasos linfáticos y retornar a la circulación general. (D) Se observa cómo el líquido sale hacia los vasos linfáticos localizados en la duramadre que drenan el LCR y los desechos hacia los senos venosos (seno sagital superior y seno transversal). Imagen modificada de Louveau A. y Nedergaard M. et al (2,19,22).

1.2. Función y fisiología

El LCR producido en los ventrículos cerebrales, por los plexos coroideos, entra en el espacio subaracnoideo a través de las aperturas lateral y media hasta las cisternas basales. Desde allí se extiende por el encéfalo y médula espinal permitiéndoles mantener su forma (18). Es bombeado de forma anterógrada a lo largo de las principales arterias cerebrales entrando en el cerebro a través de los espacios perivascuales que perforan en el parénquima cerebral (18,23).

Desde el espacio periarterial el LCR es conducido a través de la *glía limitans*, una barrera formada por los extremos perivascuales de los astrocitos, que envuelven aproximadamente entre el 60 y el 98 % de los vasos cerebrales; esta amplia variabilidad en las estimaciones se debe, en gran parte, a la presencia de artefactos en el análisis del tejido (24,25). En sujetos sanos, la AQP4, polarizada y localizada en la superficie terminal de los astrocitos (26) facilita el transporte bidireccional de agua a través de la membrana plasmática y está implicada en la regulación del volumen extracelular, reabsorción del líquido intersticial, eliminación de residuos, neuroinflamación, migración celular y señalización del calcio (10,27).

Los metabolitos y sustancias de desecho metabólico presentes en el líquido extracelular tales como: el potasio, el lactato, proteínas como la β -amiloide y los ovillos neurofibrilares (tau) implicados en la enfermedad de Alzheimer, la alfa-sínucleína mal plegada en la enfermedad de Parkinson o el superóxido dismutasa mal plegada en la esclerosis lateral amiotrófica, son conducidos hacia los espacios perivenosos siguiendo pequeños canales situados alrededor de los grandes senos venosos, los cuales terminan en los ganglios linfáticos del cuello (15,19).

Además, este sistema interviene en la depuración de metabolitos, con funciones de nutrición, distribuyendo glucosa a las neuronas y astrocitos, así como lípidos,

vitaminas y factores de crecimiento y participa en la neurotransmisión, interviniendo en la sinapsis de células vecinas (23).

Asimismo, se observó que el envejecimiento reduce la eficiencia del drenaje, contribuyendo al proceso de neurodegeneración (28, 29). Esta disfunción del sistema glinfático no solo conlleva a la eliminación de solutos, sino que también está relacionada con alteraciones de la respuesta inmunitaria. En pacientes con esclerosis múltiple se identificaron linfocitos CD3+ y macrófagos CD68+ fuera de los vasos sanguíneos (2), lo que sugiere alta actividad inmune en la duramadre y migración celular. También se detectó depósito de β -amiloide en la duramadre confirmando la relación entre el deterioro del sistema glinfático y el desarrollo de enfermedades como el Alzheimer (30).

1.3. Reguladores principales

Uno de los principales reguladores necesarios para el funcionamiento del sistema glinfático, son las pulsaciones arteriales. La distensión de la pared arterial por la onda de impulso cardiaco bombea de forma pulsátil el LCR hacia delante facilitando su entrada en el espacio perivascular arterial (31). Las pulsaciones respiratorias que facilitan la salida del LCR hacia el espacio venoso perivascular y los procesos de vasoconstricción y vasodilatación (contractilidad arterial) lo impulsan dentro de estos espacios perivasculares (32).

El ejercicio físico mejora las funciones cerebrovasculares y cognitivas. Se ha demostrado en modelos animales con roedores que el ejercicio puede mejorar la función glinfática, favoreciendo el intercambio del LCR y su drenaje hacia los ganglios linfáticos cervicales (33,34), así como reducir los niveles de β amiloide e inflamación glial y aumentar la polarización de la AQP4 (35).

Otro factor importante es la edad, habiéndose demostrado en estudios con ratones que existe una reducción del 40% en la tasa de eliminación de β amiloide en el cerebro envejecido en comparación con el joven (23). Son también importantes los procesos inflamatorios que pueden inducir una activación de la microglía alterando su función (22,36) o incluso se considera un factor regulador de la función del glinfático la postura en la que dormimos, habiéndose demostrado que dormir en posición lateral y supina supone un mayor flujo glinfático que en la posición de prono en la que se ha observado un aclaramiento más lento de solutos (37).

1.4. Sueño

El sueño tiene una función vital para el mantenimiento de la homeostasis metabólica ya que el transporte glinfático de solutos es regulado durante el sueño y está inhibido en el estado de vigilia (6). En estudios realizados en ratones se ha demostrado que en aquellos dormidos o anestesiados la fracción del volumen intersticial cerebral es mayor y muestran una reducción de la resistencia del LCR que fluye hacia el estroma cerebral (38). Además, la norepinefrina es un neurotransmisor importante implicado en la vigilia y un aumento de este durante

el despertar aumenta el volumen celular en el parénquima cerebral, pudiendo resistir la entrada de LCR, reduciendo el volumen intersticial (39).

Estudios experimentales con ratones vivos han demostrado que el sueño natural o la anestesia se asocian con un incremento del 60% en el espacio intersticial y en consecuencia un aumento del intercambio conectivo del LCR con el líquido intersticial. Así mismo los flujos conectivos de líquido intersticial aumentaron la tasa de aclaramiento de β -amiloide durante el sueño (6).

Debido a que las técnicas utilizadas, como la microscopía de fluorescencia (la cuál produce daño celular y fotoblanqueo) no se pueden utilizar *in vivo* en humanos (40), y a que muchos de los métodos empleados en animales de experimentación se tratan de métodos invasivos, ha surgido en los últimos años la posibilidad de utilizar la RM para el estudio, *in vivo* en los seres humanos, del sistema glinfático, tratando de emular en la medida de lo posible los resultados obtenidos a través de los estudios experimentales en animales (17).

2. PAPEL DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA

La RM permite trasladar los hallazgos preclínicos observados a los seres humanos, proporcionando nuevas posibilidades en la identificación de pacientes en riesgo de desarrollar enfermedades neurodegenerativas (19). Así mismo, permitiría realizar un seguimiento en la respuesta al tratamiento y llevar a cabo la identificación de marcadores bioquímicos y biomarcadores de imagen implicados en el detrimento del sistema glinfático (41,42).

La resonancia permite evaluar el funcionamiento de ciertas funciones del circuito glinfático *in vivo* en humanos. Las secuencias de RM que se expondrán, se dividen en dos grupos: sin y con contraste paramagnético. Dentro del grupo de las técnicas que utilizan contraste, están las que requieren administración intratecal a través de infiltraciones lumbares, que se separan de aquellas donde la administración de contraste es a través de una vía venosa periférica. Las que no requieren contraste, son: Diffusion Tensor Imaging (DTI, Imagen por tensor de difusión), Arterial Spin Labeling (ASL, Etiquetado por espín arterial) y la volumetría de espacios perivasculares.

En las imágenes de RM se pueden observar los espacios perivasculares (PVS) localizados alrededor de arterias y venas, aunque sólo visibles por RM en el espacio periarterial, debido al menor tamaño perivenoso (43). El aumento de este espacio perivascular se relaciona con varias enfermedades neurológicas y es detectado mostrando anomalías en la RM, que se pueden superponer y explicar mediante: el deterioro de la circulación del líquido intersticial provocado por una alteración en el drenaje, la deposición de agregados de proteínas, patología arterial o venosa y trastornos del sueño (44); la elongación de las arterias en forma de espiral, la pérdida de mielina paravascular y la acumulación de células inmunitarias aberrantes o un depósito de anómalo de células inmunitarias (45–47).

3. TÉCNICAS CON CONTRASTE

3.1. A través de infiltraciones lumbares

Las secuencias basadas en la administración de contraste permiten seguir en tiempo real el movimiento del LCR y su implicación en la eliminación de solutos.

La administración subaracnoidea de contraste a base de gadolinio (GBCA de sus siglas en inglés: Gadolinium Based Contrast Agent), en concreto Gd-DTPA (gadolinio-dietilentriaminopentaacetato), se ha utilizado en estudios con administración de contraste dinámico que era detectada por RM (48). Como es un agente lineal de pequeño peso molecular (938 Da), su difusión en el espacio intersticial a través de las vías perivasculares está facilitada, y permite confirmar la eficacia de este sistema de eliminación solutos (4,49).

Como el movimiento de solutos en el espacio intersticial depende de las pulsaciones arteriales, la disfunción del sistema glinfático podría estar implicada en el desarrollo de enfermedades que presentan una disminución de la distensibilidad intracraneal y pulsaciones restringidas, como sucede en la hidrocefalia idiopática de presión normal (INPH)(48).

La INPH es una enfermedad caracterizada por una triada de síntomas de ataxia de la marcha, incontinencia urinaria y demencia. Se puede tratar mediante procedimientos quirúrgicos de derivación del LCR. Geir Ringstad, aporta evidencia de la comunicación global del cerebro con el espacio subaracnoideo del LCR en humanos, mediante la administración intratecal de gabobutrol con RM en pacientes con INPH (50). Observó que la propagación del contraste en el espacio subaracnoideo fue más lenta, con una disminución en la eliminación del GBCA en pacientes con INPH, y se mostró un realce persistente en el parénquima cerebral, lo que sugiere una acumulación prolongada en el tejido cerebral debido a una disminución en el drenaje del medio de contraste. Demostró la máxima captación durante la noche y que la difusión del contraste depende de las arterias leptomeníngicas, sugiriendo el papel clave de las pulsaciones en la regulación de la función glinfática (48). Se había propuesto previamente que la eliminación del contraste podría parecerse a la eliminación de macromoléculas con propiedades similares (4) como la β -amiloide (1). Se ha visto que existe una gran coincidencia de hallazgos típicos en muestras cerebrales de pacientes con INPH y aquellos con enfermedad de Alzheimer, lo que podría tener importantes implicaciones para nuevos enfoques terapéuticos (50).

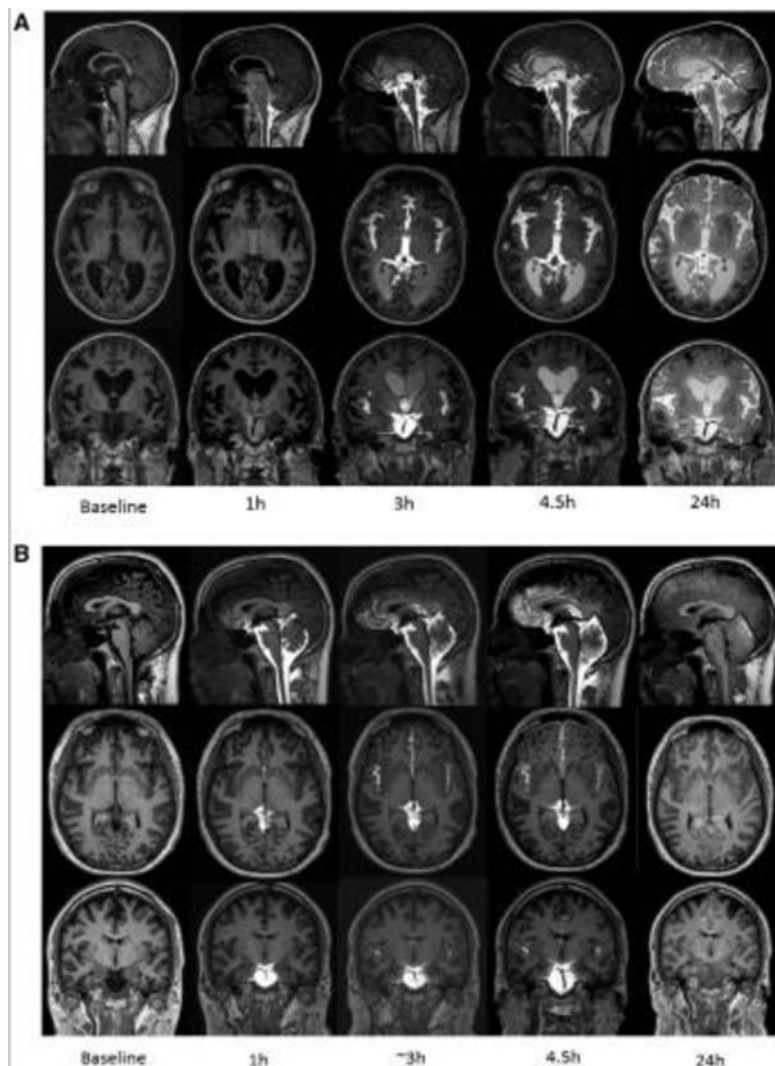


Figura 4. Imagen de resonancia magnética en secuencia potenciada en T1, en la que se puede observar la difusión del medio de contraste (gabobutrol) administrado de forma intratecal en sujetos con INPH (A) y sujetos de referencia con sospecha de hipotensión intracraneal asociada a fuga de LCR (B). En los sujetos del grupo B se observa cómo, una hora después de haberse introducido el contraste en el saco tecal, este se distribuye por cisternas basales, para posteriormente distribuirse a través de los espacios perivascuales a partir de las 3 horas, ampliamente por el espacio subaracnoideo a las 4,5 horas, para no detectarse contraste a las 24 horas. En los pacientes con INPH, el paso de contraste a cisternas basales está retrasado, apenas visualizándose medio de contraste en cisternas basales a la hora. Y de forma característica, se identifica una acumulación del medio de contraste en el interior del sistema ventricular a partir de las 3 horas, y más claramente a partir de las 4,5 horas, sin llegar a eliminarse del sistema ventricular pasadas 24 horas, dónde de forma sorprendente el contraste queda retenido. Imagen tomada de Ringstad G. et al (48).

3.2. Vía periférica

La administración de contraste también se puede realizar de forma endovenosa, más accesible a través de una vía periférica. Mediante esta vía, Deike-Hofmann, evalúa la vía glinfática de agentes de contraste basados en gadolinio a través del cerebro, utilizando una secuencia de pulsos de recuperación de inversión de atenuación de líquidos (T2w-FLAIR), que presenta una alta sensibilidad a la presencia de GBCA, provocando un aumento de señal lo que facilita la detección de pequeñas concentraciones de gadolinio en el parénquima cerebral (28). Gracias a la secuencia T2w-FLAIR retardado, se demostró la entrada de GBCA en el SNC a través del plexo coroideo y el cuerpo ciliar, con drenaje a lo largo de las vainas perineurales de los nervios craneales y a lo largo de los espacios perivasculares de las arterias corticales penetrantes (a las 3 horas y 24 horas), demostrando el papel del GBCA como trazador (51).

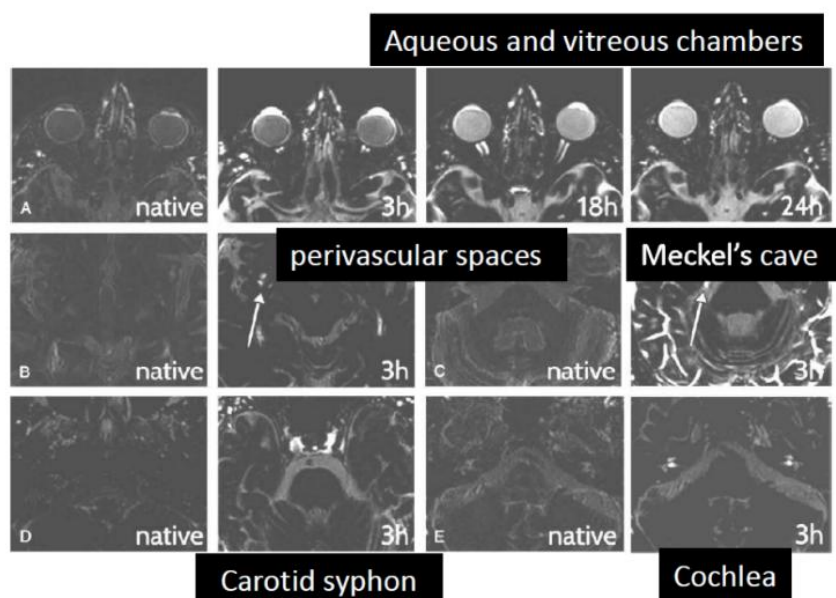


Figura 3. Imagen que muestra una secuencia de resonancia magnética potenciada en T2 FLAIR después de la inyección de un agente de contraste basado en gadolinio (GBCA) en la que se pueden ver acúmulos en diferentes lugares. En la fila superior (A) se observa una imagen basal (native) antes de la administración de contraste donde se muestran los globos oculares con sus cámaras anterior y posterior llenas de humor acuoso y vítreo. A las 3 horas se observa que el realce del contraste se expande desde el cuerpo ciliar a lo largo de la lámina coroidea de la úvea, que comunica con el espacio perineural del nervio óptico, además de estar presente en el espacio subaracnoideo. A las 18 horas se observa el drenaje del GBCA a lo largo del nervio óptico y acumulación de contraste en el vítreo. A las 24 horas hay una mayor acumulación en el vítreo y disminución del realce en el nervio óptico distal. (B) A las 3 horas de la administración se observa un aumento de señal en los espacios perivasculares de las arterias perforantes (señalados con una flecha) en la sustancia blanca. (C) A las 3 horas el contraste drena al cavum de Meckel, la cual contiene el ganglio

del trigémino, sugiriendo un drenaje perineural. (D) A las 3 horas se muestra aumento de la señal en el sifón carotideo, que es la porción curva de la arteria carótida interna dentro del seno cavernoso e hipófisis. (E) Se observa la cóclea y órgano vestibular, de la audición, en los que a las 3 horas se observa el drenaje a través del conducto auditivo interno. Imagen modificada de Deike-Hofmann et al (51).

De forma similar, Absinta *et al.* realizaron un estudio mediante la administración intravenosa de contraste basado en gadolinio en humanos y primates no humanos (monos tíes comunes) para comparar y confirmar la presencia de vasos linfáticos meníngeos en la duramadre que sirven como vía alternativa para el drenaje de LCR (28). Para su visualización por RM utilizaron secuencias de sangre negra potenciadas en T2-FLAIR y en T1, las cuales permiten suprimir la señal de sangre en movimiento facilitando la observación de los linfáticos meníngeos, y confirmaron la existencia de estos vasos linfáticos con marcadores endoteliales específicos (como LYVE-1 y podoplanina) en ambas especies.

En línea con estas observaciones, Sennfalt *et al.* aportaron evidencia sobre el funcionamiento del sistema glinfático en la eliminación de solutos a través de la administración de gadolinio de forma intravenosa por RM en sujetos con infartos lacunares o microinfartos isquémicos corticales. Se observó un aumento de señal en estructuras implicadas en el drenaje del LCR ubicadas en el seno sagital superior, espacios perivenosos, placa cribiforme y agujeros yugulares confirmándose que estas áreas están involucradas en dicho sistema (52,53).

3.3. Controversia sobre la administración de gadolinio

En el estudio del sistema glinfático con las técnicas de RM con contraste que se han expuesto hasta ahora es especialmente relevante el hecho de que se ha demostrado que existe un depósito de gadolinio residual en áreas del cerebro como el núcleo dentado (cerebelo) y globo pálido (ganglios basales), así como en tejidos extracraneales como hígado, piel o huesos (54,55).

Los GBCAs se clasifican en lineales y macrocíclicos según la estructura de su ligando. Se ha demostrado que el riesgo de este depósito es considerablemente mayor con los GBCAs lineales. Por lo tanto, en la práctica clínica actual, se recomienda generalmente el uso de GBCAs macrocíclicos siempre que sea posible para minimizar el riesgo de retención de gadolinio en los pacientes que se someten a resonancia magnética (55–57).

Aunque se desconocen los riesgos que conllevan estos depósitos (58), el uso de contraste con fines de investigación en sujetos sanos y voluntarios, como es el caso del estudio del sistema glinfático, tiene mayor trascendencia. Esto ha llevado a la búsqueda de alternativas impulsando el uso de técnicas de RM sin contraste, que además de evitar los posibles efectos adversos, permiten una visualización segura y precisa.

4. TÉCNICAS SIN CONTRASTE

4.1. Imagen por tensor de difusión

A través de secuencias de Imagen por tensor de difusión (DTI), se puede calcular el conocido como “DTI-ALPS”, el cuál es un método no invasivo que infiere en la difusión libre de moléculas de agua del fluido intersticial a través de la localización teórica de los espacios perivasculares en el parénquima cerebral (59).

Este método permite separar vectorialmente la difusión en varias direcciones debido a que estas fibras se disponen en los tres ejes del espacio (x,y,z):

- Eje x: el espacio perivascular es perpendicular en la dirección izquierda-derecha.
- Eje y: las fibras de asociación se disponen en dirección anteroposterior.
- Eje z: las fibras de proyección se disponen en dirección vertical.

En la corona radiada, una estructura de la sustancia blanca localizada cerca de los ventrículos laterales, las fibras de proyección y asociación se disponen casi perpendiculares a la dirección de los espacios perivasculares. Esto permite calcular y eliminar la influencia de dichas fibras en esa dirección, asumiendo que el flujo restante, en el eje derecha-izquierda (eje x), corresponde al flujo glinfático detectable (60).

El índice DTI-ALPS mide la difusividad libre de las moléculas de agua en la dirección de los espacios perivasculares, que teóricamente corresponde con la dirección del flujo glinfático. Para calcularlo se tiene en cuenta esta fórmula que toma en consideración la dirección de las fibras de proyección y asociación en la sustancia blanca para calcular el flujo de moléculas de agua libre que sigue la dirección de los espacios perivasculares (esto es, el flujo “glinfático”).

$$\text{ALPS index} = \text{mean} (D_{xproj}, D_{xassoc}) / \text{mean} (D_{yproj}, D_{zassoc}).$$

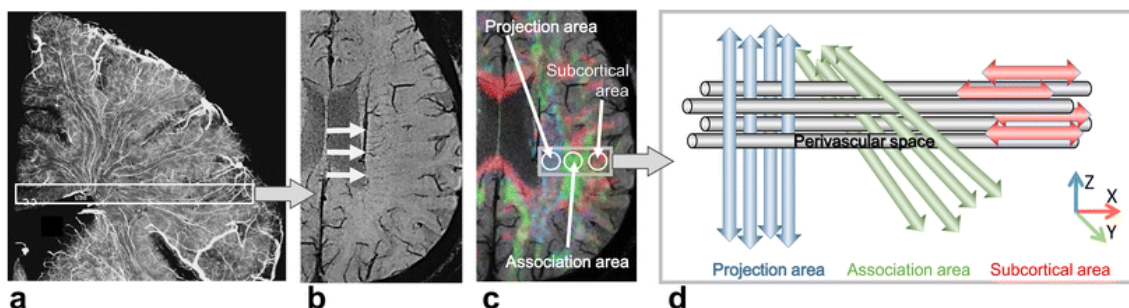


Figura 5. Imagen en la que se observa la sustancia blanca inmediatamente adyacente por fuera del cuerpo ventricular lateral y los vasos medulares que se dirigen en dirección izquierda-derecha (A y B), las fibras de proyección se disponen en dirección vertical y las fibras de asociación en dirección anteroposterior (C y D). Imagen tomada de Taoka T et al (59).

Taoka *et al.* evaluaron la viabilidad del DTI-ALPS en el estudio del sistema glinfático en humanos con enfermedad de Alzheimer (EA), demostrado previamente en modelos animales(61). También se incluyeron a pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y deterioro cognitivo subjetivo (LME). Encontraron una correlación negativa significativa entre las puntuaciones del “minimal score evaluation” (MMSE) y la difusividad del agua en fibras de proyección y asociación, lo que sugiere la degeneración de la sustancia blanca en estas fibras de proyección o asociación en pacientes con EA (59). A su vez, este estudio, mostró una correlación positiva entre el MMSE y la difusividad a lo largo del espacio perivascular y los valores del índice ALPS, lo que significa que a mayor índice ALPS hay una menor difusividad a lo largo de los espacios perivascuales.

Otros autores como Yokota, también realizaron un estudio para observar los cambios producidos en el sistema glinfático en la INPH, con este método. Se evaluaron pacientes con INPH, en controles normales y casos con ventriculomegalia sin diagnóstico de INPH en los que observaron que el índice ALPS se reducía significativamente en la INPH con respecto a los controles (62).

El DTI-ALPS también puede ser evaluado para el estudio de enfermedades desmielinizantes como la esclerosis múltiple, en la que se ha observado una disminución del flujo glinfático, reflejado en una despolarización de la AQP4 lejos de los extremos de los astrocitos y a su vez una reducción del flujo de líquido intersticial, debido a la localización perivenular de sus placas que sugiere afectación de los espacios perivenulares implicados en su etiopatogenia (63).

4.2. Etiquetado por espín arterial

El arterial spin labeling (ASL) es un método de perfusión no invasivo basado en la magnetización del agua para medir el flujo sanguíneo cerebral y el intercambio transendotelial, refiriéndose al movimiento de agua desde los vasos sanguíneos hacia el tejido cerebral. La ausencia del uso de contraste u otro marcador exógeno y radiación la convierten en una posibilidad para pacientes con comorbilidades y contraindicaciones para la realización de otras pruebas invasivas (64).

Utilizando las propiedades magnéticas de la RM, la máquina de resonancia emite pulsos de radiofrecuencia alterando temporalmente las propiedades magnéticas del agua, de forma que en la sangre que fluye hacia el parénquima cerebral se crea una “etiqueta” que permite rastrear el movimiento del flujo sanguíneo y medir la cantidad de sangre que difunde a las diferentes regiones cerebrales.

Levendovszky *et al.* realizaron un estudio utilizando el ASL para medir el flujo sanguíneo en adultos jóvenes durante el sueño normal y después de la privación de sueño, y en adultos mayores con sueño normal. Los resultados obtenidos concluyeron que la perfusión y el tiempo de intercambio de agua transvascular fueron menor en los adultos mayores en comparación con los jóvenes, sugiriendo un menor transporte glinfático, así mismo, este parámetro no fue sensible a la privación de sueño durante la noche (65).

4.3. Volumetría de espacios perivasculares

En el estudio de los espacios perivasculares (PVS) mencionados a lo largo del trabajo se puede realizar un análisis cuantitativo mediante técnicas de RM, lo que puede contribuir a la comprensión de la relación de estos espacios con las enfermedades neurológicas (66).

Una de las técnicas destacadas es la segmentación automatizada basada en la aplicación de un filtro 3D de Frangi, diseñado para resaltar estructuras tubulares como los PVS, mejorando su visualización y discriminando así otras estructuras cerebrales. Estudios como el de Ballerini *et al.* demostraron que esta técnica se puede optimizar mediante un modelo estadístico denominado logit ordenado, para simular la cantidad de PVS que se podrían detectar y su relación con las categorías de calificación visual convencionales, considerando a su vez la incertidumbre asociada a la subjetividad del observador. Aunque inicialmente se aplicaron a imágenes adquiridas con RM de alta resolución de 7T, su uso se ha adaptado a equipos de 1,5 y 3 T, más comunes en la práctica clínica (67). Sin embargo, una limitación descrita es que puede resultar difícil distinguir con claridad los límites tisulares de los PVS, especialmente cuando se superpone con otras estructuras hiperintensas en T2, como los infartos lacunares o las lesiones de leucopatía isquémica crónica microangiopática. En ese sentido, Bernal *et al.* aportaron evidencia mediante un modelo computacional tridimensional, comparando filtros de realce vascular, entre ellos el Frangi, de las dificultades para diferenciar los PVS de lesiones hiperintensas de la sustancia blanca o infartos lacunares, lo que resalta la necesidad de combinar estrategias de procesamiento de imagen y validación para una segmentación más precisa y aplicable en el ámbito clínico (68).

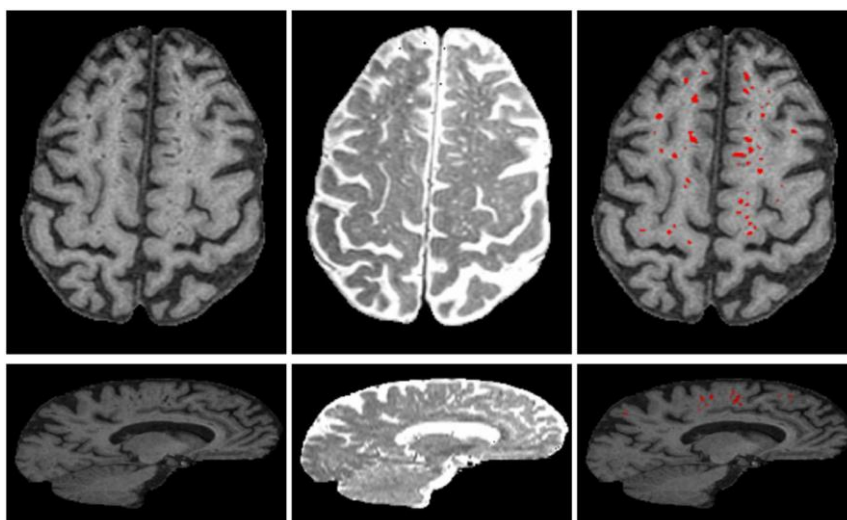


Figura 6. En esta imagen se observan ejemplos de segmentación de los PVS en un estudio realizado con pacientes con demencia por Enfermedad de Alzheimer. Se están combinado secuencias potenciadas en T1 con secuencias potenciadas T2, para que haya un adecuado registro de la anatomía que permita segmentar

los espacios perivasculares. Las secuencias T2 son más sensibles para visualizar los espacios perivasculares, pero a veces se difuminan sus límites con las lesiones de sustancia blanca, y por eso se usan también las T1. La fila superior muestra un corte axial y la inferior un corte sagital, la primera columna esta potenciada en T1, la segunda columna en T2 y la tercera los espacios perivasculares destacados en rojo. Imagen tomada de Ballerini L. et al (67).

4. CONCLUSIONES

El sistema glinfático, descubierto en 2012, demostró por primera vez en ratones la existencia de un mecanismo de depuración cerebral implicado en la patogenia de enfermedades neurológicas. Facilita el flujo de LCR a través de los espacios perivasculares, ayudado por la AQP4, para drenar finalmente en los ganglios linfáticos cervicales. Debido a su función en la eliminación de productos de desecho del metabolismo y en el mantenimiento de la homeostasis cerebral, su disfunción se ha relacionado con multitud de enfermedades, fundamentalmente con las enfermedades neurodegenerativas dónde se produce un acúmulo de proteínas malplegadas deletéreas, destacando la enfermedad de Alzheimer, pero también se ha relacionado con la etiopatogenia de la hidrocefalia a presión normal o de la esclerosis múltiple. Si bien los estudios en animales han proporcionado una base científica sólida, trasladar estos hallazgos a humanos presenta dificultades debido a las limitaciones de las técnicas invasivas como la microscopía de fluorescencia y la imposibilidad de estudiar este sistema estando en vigilia. Por consiguiente, se propuso el uso de la RM para estudiar el sistema glinfático in vivo en humanos.

Las técnicas de RM permiten estudiar los componentes del circuito glinfático. Mediante los métodos que utilizan contraste paramagnético, administrado por vía intratecal o por vía venosa periférica, se puede identificar el retraso en el relleno de las estructuras anatómicas implicadas en el sistema; de esta manera, el gadolinio actúa como un trazador que permite establecer conclusiones sobre si el “flujo glinfático” está o no impedido, permitiendo la comparación de poblaciones de pacientes con múltiples enfermedades con controles sanos. El problema radica en que la introducción de trazadores, como moléculas fluorescentes o el propio gadolinio, aunque sea ideal para el estudio del circuito, tiene potenciales efectos tóxicos, además de ser moléculas cuya retención en el organismo ha sido demostrada, condicionando que haya ciertas limitaciones éticas de cara a su aplicabilidad en la investigación biomédica. Es por este motivo que se han desarrollado técnicas sin contraste, como el método DTI-ALPS, el etiquetado por espín arterial (ASL) o la volumetría de espacios perivasculares. La volumetría de espacio perivasculares se plantea como un método interesante dado que pone de relieve el sustrato anatómico observable de la disfunción del circuito, y permite cuantificarlo. No obstante, las conclusiones que se establecen de las otras dos técnicas, basadas en técnicas de DTI y ASL, deben interpretarse con cautela, dado que establecer conclusiones de la medición de la difusividad o fluencia de las moléculas de agua en determinadas localizaciones anatómicas es un tanto controvertido, debido a

que se trata de una estimación indirecta de lo que se interpreta debería corresponder al flujo del sistema glinfático.

Es por lo tanto fundamental que se siga investigando en esta línea, tratando de buscar nuevos métodos que tengan en cuenta las limitaciones del estudio del sistema glinfático, basándonos en la sólida base científica de los estudios preclínicos en animales de experimentación, pero adaptándolos a las particularidades del funcionamiento y estudio del SNC en seres humanos, insistiendo en la búsqueda de nuevos biomarcadores de imagen que permitan detectar precozmente y de forma no invasiva la disfunción del sistema glinfático, y por ende el diagnóstico de enfermedades en su fase preclínica o en fases muy precoces, dónde una intervención terapéutica suponga un verdadero cambio en el pronóstico funcional de estos pacientes.

6. AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a los doctores Marta Drake Pérez y David Castanedo Vázquez quienes como directores de este trabajo me han orientado y estimulado constantemente para poder llevarlo a su fin.

A mis padres por la ayuda y apoyo que de ellos siempre he recibido cuando lo he necesitado.

A mi hermana y el resto de la familia, así como a mis compañeros y amigos con los que he compartido esta experiencia que siempre me han animado en todo momento.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β . *Sci Transl Med* [Internet]. 2012 [citado 25 de noviembre de 2024];4(147). Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3003748>
2. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* [Internet]. 16 de julio de 2015 [citado 10 de diciembre de 2024];523(7560):337-41. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature14432>
3. Taoka T, Ito R, Nakamichi R, Nakane T, Kawai H, Naganawa S. Diffusion Tensor Image Analysis ALong the Perivascular Space (DTI-ALPS): Revisiting the Meaning and Significance of the Method. *Magnetic Resonance in Medical Sciences* [Internet]. 2024 [citado 11 de diciembre de 2024];23(3):rev.2023-0175. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/mrms/23/3/23_rev.2023-0175/_article
4. Ringstad G, Valnes LM, Dale AM, Pripp AH, Vatnehol SAS, Emblem KE, et al. Brain-wide glymphatic enhancement and clearance in humans assessed with MRI. *JCI Insight* [Internet]. 2018 [citado 11 de diciembre de 2024];3(13). Disponible en: <https://insight.jci.org/articles/view/121537>
5. Mestre H, Mori Y, Nedergaard M. The Brain's Glymphatic System: Current Controversies. *Trends Neurosci* [Internet]. 2020 [citado 27 de diciembre de 2024];43(7):458-66. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223620300771>
6. Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* [Internet]. 2013 [citado 30 de diciembre de 2024];342(6156):373-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24136970/>
7. Iliff JJ, Chen MJ, Plog BA, Zeppenfeld DM, Soltero M, Yang L, et al. Impairment of Glymphatic Pathway Function Promotes Tau Pathology after Traumatic Brain Injury. *The Journal of Neuroscience* [Internet]. 3 de diciembre de 2014 [citado 31 de diciembre de 2024];34(49):16180-93. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3020-14.2014>
8. Yamada K, Cirrito JR, Stewart FR, Jiang H, Finn MB, Holmes BB, et al. *In Vivo* Microdialysis Reveals Age-Dependent Decrease of Brain Interstitial Fluid Tau Levels in P301S Human Tau Transgenic Mice. *The Journal of Neuroscience* [Internet]. 14 de septiembre de 2011 [citado 27 de enero de 2025];31(37):13110-7. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.2569-11.2011>

9. Yamada K, Holth JK, Liao F, Stewart FR, Mahan TE, Jiang H, et al. Neuronal activity regulates extracellular tau in vivo. *Journal of Experimental Medicine* [Internet]. 10 de marzo de 2014 [citado 28 de enero de 2025];211(3):387-93. Disponible en: <https://rupress.org/jem/article/211/3/387/41640/Neuronal-activity-regulates-extracellular-tau-in>
10. Mestre H, Hablitz LM, Xavier AL, Feng W, Zou W, Pu T, et al. Aquaporin-4-dependent glymphatic solute transport in the rodent brain. *Elife* [Internet]. 2018 [citado 22 de enero de 2024];7. Disponible en: <https://elifesciences.org/articles/40070>
11. Gomolka RS, Hablitz LM, Mestre H, Giannetto M, Du T, Hauglund NL, et al. Loss of aquaporin-4 results in glymphatic system dysfunction via brain-wide interstitial fluid stagnation. *Elife* [Internet]. 2023 [citado 2 de febrero de 2025];12. Disponible en: <https://elifesciences.org/articles/82232>
12. Plog BA, Lou N, Pierre CA, Cove A, Kenney HM, Hitomi E, et al. When the air hits your brain: decreased arterial pulsatility after craniectomy leading to impaired glymphatic flow. *J Neurosurg* [Internet]. 2020 [citado 3 de febrero de 2025];133(1):210-23. Disponible en: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/133/1/article-p210.xml>
13. Mestre H, Tithof J, Du T, Song W, Peng W, Sweeney AM, et al. Flow of cerebrospinal fluid is driven by arterial pulsations and is reduced in hypertension. *Nat Commun* [Internet]. 2018 [citado 3 de febrero de 2025];9(1):4878. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-018-07318-3>
14. Ma Q, Ries M, Decker Y, Müller A, Riner C, Bückner A, et al. Rapid lymphatic efflux limits cerebrospinal fluid flow to the brain. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2019 [citado 5 de febrero de 2025];137(1):151-65. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1916-x>
15. Hablitz LM, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Novel Component of Fundamental Neurobiology. *The Journal of Neuroscience* [Internet]. 15 de septiembre de 2021 [citado 5 de febrero de 2025];41(37):7698-711. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.0619-21.2021>
16. Bakker ENTP, Bacskai BJ, Arbel-Ornath M, Aldea R, Bedussi B, Morris AWJ, et al. Lymphatic Clearance of the Brain: Perivascular, Paravascular and Significance for Neurodegenerative Diseases. *Cell Mol Neurobiol* [Internet]. 2016 [citado 6 de febrero de 2025];36(2):181-94. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10571-015-0273-8>
17. Jessen NA, Munk ASF, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochem Res* [Internet]. 2015 [citado 7 de febrero de 2025];40(12):2583-99. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11064-015-1581-6>

18. Hladky SB, Barrand MA. The glymphatic hypothesis: the theory and the evidence. *Fluids Barriers CNS* [Internet]. 3 de diciembre de 2022 [citado 8 de febrero de 2025];19(1):9. Disponible en: <https://fluidsbarrierscns.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12987-021-00282-z>
19. Nedergaard M. Garbage Truck of the Brain. *Science* (1979) [Internet]. 28 de junio de 2013 [citado 8 de febrero de 2025];340(6140):1529-30. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1240514>
20. Goldmann J, Kwidzinski E, Brandt C, Mahlo J, Richter D, Bechmann I. T cells traffic from brain to cervical lymph nodes via the cribriform plate and the nasal mucosa. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2 de agosto de 2006 [citado 3 de marzo de 2025];80(4):797-801. Disponible en: <https://academic.oup.com/jleukbio/article/80/4/797/6922639>
21. Kaminski M, Bechmann I, Pohland M, Kiwit J, Nitsch R, Glumm J. Migration of monocytes after intracerebral injection at entorhinal cortex lesion site. *J Leukoc Biol* [Internet]. 1 de julio de 2012 [citado 3 de marzo de 2025];92(1):31-9. Disponible en: <https://academic.oup.com/jleukbio/article/92/1/31/6936182>
22. Louveau A, Plog BA, Antila S, Alitalo K, Nedergaard M, Kipnis J. Understanding the functions and relationships of the glymphatic system and meningeal lymphatics. *Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 1 de septiembre de 2017 [citado 25 de febrero de 2025];127(9):3210-9. Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/90603>
23. Rasmussen MK, Mestre H, Nedergaard M. Fluid transport in the brain. *Physiol Rev* [Internet]. 1 de abril de 2022 [citado 15 de febrero de 2025];102(2):1025-151. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00031.2020>
24. Mathiisen TM, Lehre KP, Danbolt NC, Ottersen OP. The perivascular astroglial sheath provides a complete covering of the brain microvessels: An electron microscopic 3D reconstruction. *Glia* [Internet]. 29 de julio de 2010 [citado 18 de febrero de 2025];58(9):1094-103. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/glia.20990>
25. Klostranec JM, Vucevic D, Bhatia KD, Kortman HGJ, Krings T, Murphy KP, et al. Current Concepts in Intracranial Interstitial Fluid Transport and the Glymphatic System: Part I—Anatomy and Physiology. *Radiology* [Internet]. 1 de diciembre de 2021 [citado 20 de febrero de 2025];301(3):502-14. Disponible en: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2021202043>
26. Rasmussen MK, Mestre H, Nedergaard M. The glymphatic pathway in neurological disorders. *Lancet Neurol* [Internet]. noviembre de 2018 [citado 22 de febrero de 2025];17(11):1016-24. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1474442218303181>

27. Nagelhus EA, Ottersen OP. Physiological Roles of Aquaporin-4 in Brain. *Physiol Rev* [Internet]. octubre de 2013 [citado 20 de febrero de 2025];93(4):1543-62. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00011.2013>
28. Absinta M, Ha SK, Nair G, Sati P, Luciano NJ, Palisoc M, et al. Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI. *Elife* [Internet]. 3 de octubre de 2017 [citado 15 de marzo de 2025];6. Disponible en: <https://elifesciences.org/articles/29738>
29. Absinta M, Nair G, Filippi M, Ray-Chaudhury A, Reyes-Mantilla MI, Pardo CA, et al. Postmortem Magnetic Resonance Imaging to Guide the Pathologic Cut. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. agosto de 2014 [citado 28 de marzo de 2025];73(8):780-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/jnen/article-lookup/doi/10.1097/NEN.0000000000000096>
30. Kovacs GG, Lutz MI, Ricken G, Ströbel T, Höftberger R, Preusser M, et al. Dura mater is a potential source of A β seeds. *Acta Neuropathol* [Internet]. 25 de junio de 2016 [citado 25 de marzo de 2025];131(6):911-23. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-016-1565-x>
31. Kiviniemi V, Wang X, Korhonen V, Keinänen T, Tuovinen T, Autio J, et al. Ultra-fast magnetic resonance encephalography of physiological brain activity – Glymphatic pulsation mechanisms? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [Internet]. 21 de junio de 2016 [citado 22 de febrero de 2025];36(6):1033-45. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X15622047>
32. Poncelet BP, Wedeen VJ, Weisskoff RM, Cohen MS. Brain parenchyma motion: measurement with cine echo-planar MR imaging. *Radiology* [Internet]. 1992 [citado 22 de febrero de 2025];185(3):645-51. Disponible en: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiology.185.3.1438740>
33. Kylvilahti TM, Berends E, Ramos M, Shanbhag NC, Töger J, Markenroth Bloch K, et al. Achieving brain clearance and preventing neurodegenerative diseases—A glymphatic perspective. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [Internet]. 18 de septiembre de 2021 [citado 25 de febrero de 2025];41(9):2137-49. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X20982388>
34. Olegário RL, Nóbrega OT, Camargos EF. The newly discovered glymphatic system: the missing link between physical exercise and brain health? *Front Integr Neurosci* [Internet]. 16 de abril de 2024 [citado 25 de febrero de 2025];18. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnint.2024.1349563/full>
35. He X fei, Liu D xu, Zhang Q, Liang F ying, Dai G yan, Zeng J sheng, et al. Voluntary Exercise Promotes Glymphatic Clearance of Amyloid Beta and

- Reduces the Activation of Astrocytes and Microglia in Aged Mice. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 19 de mayo de 2017 [citado 25 de febrero de 2025];10. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2017.00144/full>
36. Wang S, Colonna M. Microglia in Alzheimer's disease: A target for immunotherapy. *J Leukoc Biol* [Internet]. 27 de junio de 2019 [citado 25 de febrero de 2025];106(1):219-27. Disponible en: <https://academic.oup.com/jleukbio/article/106/1/219/6935483>
 37. Lee H, Xie L, Yu M, Kang H, Feng T, Deane R, et al. The Effect of Body Posture on Brain Glymphatic Transport. *Journal of Neuroscience* [Internet]. 5 de agosto de 2015 [citado 26 de febrero de 2025];35(31):11034-44. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.1625-15.2015>
 38. Nedergaard M, Goldman SA. Glymphatic failure as a final common pathway to dementia. *Science* (1979) [Internet]. 2 de octubre de 2020 [citado 28 de febrero de 2025];370(6512):50-6. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb8739>
 39. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus–noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Rev* [Internet]. 2003 [citado 3 de marzo de 2025];42(1):33-84. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165017303001437>
 40. Benninger RKP, Piston DW. Two-Photon Excitation Microscopy for the Study of Living Cells and Tissues. *Curr Protoc Cell Biol* [Internet]. junio de 2013 [citado 3 de marzo de 2025];59(1). Disponible en: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471143030.cb0411s59>
 41. Agarwal N, Carare RO. Cerebral Vessels: An Overview of Anatomy, Physiology, and Role in the Drainage of Fluids and Solutes. *Front Neurol* [Internet]. 13 de enero de 2021 [citado 4 de marzo de 2025];11:611485. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2020.611485/full>
 42. Eide PK, Vinje V, Pripp AH, Mardal KA, Ringstad G. Sleep deprivation impairs molecular clearance from the human brain. *Brain* [Internet]. 12 de abril de 2021 [citado 4 de marzo de 2025];144(3):863-74. Disponible en: <https://academic.oup.com/brain/article/144/3/863/6214917>
 43. Barisano G, Lynch KM, Sibilia F, Lan H, Shih NC, Seppehrband F, et al. Imaging perivascular space structure and function using brain MRI. *Neuroimage* [Internet]. agosto de 2022 [citado 5 de marzo de 2025];257:119329. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811922004487>

44. Wang XX, Cao QC, Teng JF, Wang RF, Yang ZT, Wang MG, et al. MRI-visible enlarged perivascular spaces: imaging marker to predict cognitive impairment in older chronic insomnia patients. *Eur Radiol* [Internet]. 14 de agosto de 2022 [citado 5 de marzo de 2025];32(8):5446-57. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s00330-022-08649-y>
45. Okar S V., Hu F, Shinohara RT, Beck ES, Reich DS, Ineichen B V. The etiology and evolution of magnetic resonance imaging-visible perivascular spaces: Systematic review and meta-analysis. *Front Neurosci* [Internet]. 30 de marzo de 2023 [citado 5 de marzo de 2025];17. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2023.1038011/full>
46. Parillo M, Vaccarino F, Di Gennaro G, Kumar S, Van Goethem J, Beomonte Zobel B, et al. Overview of the Current Knowledge and Conventional MRI Characteristics of Peri- and Para-Vascular Spaces. *Brain Sci* [Internet]. 28 de enero de 2024 [citado 8 de marzo de 2025];14(2):138. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3425/14/2/138>
47. Esiri MM, Gay D. Immunological and neuropathological significance of the Virchow-Robin space. *J Neurol Sci* [Internet]. diciembre de 1990 [citado 8 de marzo de 2025];100(1-2):3-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022510X90900047>
48. Ringstad G, Vatnehol SAS, Eide PK. Glymphatic MRI in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Brain* [Internet]. 2017 [citado 12 de marzo de 2025];140(10):2691-705. Disponible en: <https://academic.oup.com/brain/article/140/10/2691/4085293>
49. Iliff JJ, Wang M, Zeppenfeld DM, Venkataraman A, Plog BA, Liao Y, et al. Cerebral Arterial Pulsation Drives Paravascular CSF–Interstitial Fluid Exchange in the Murine Brain. *The Journal of Neuroscience* [Internet]. 13 de noviembre de 2013 [citado 12 de marzo de 2025];33(46):18190-9. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.1592-13.2013>
50. Eide PK, Ringstad G. Functional analysis of the human perivascular subarachnoid space. *Nat Commun* [Internet]. 5 de marzo de 2024 [citado 25 de marzo de 2025];15(1):2001. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-46329-1>
51. Deike-Hofmann K, Reuter J, Haase R, Paech D, Gnirs R, Bickelhaupt S, et al. Glymphatic Pathway of Gadolinium-Based Contrast Agents Through the Brain. *Invest Radiol* [Internet]. abril de 2019 [citado 15 de marzo de 2025];54(4):229-37. Disponible en: <https://journals.lww.com/00004424-201904000-00006>
52. Öner AY, Barutcu B, Aykol Ş, Tali ET. Intrathecal Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging–Related Brain Signal Changes. *Invest Radiol* [Internet]. abril de 2017 [citado 28 de marzo de 2025];52(4):195-7. Disponible en: <https://journals.lww.com/00004424-201704000-00001>

53. Sennfält S, Thrippleton MJ, Stringer M, Reyes CA, Chappell F, Doubal F, et al. Visualising and semi-quantitatively measuring brain fluid pathways, including meningeal lymphatics, in humans using widely available MRI techniques. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [Internet]. 31 de octubre de 2023 [citado 28 de marzo de 2025];43(10):1779-95. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X231179555>
54. Radbruch A. Gadolinium Deposition in the Brain: We Need to Differentiate between Chelated and Dechelated Gadolinium. *Radiology* [Internet]. agosto de 2018 [citado 18 de marzo de 2025];288(2):434-5. Disponible en: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2018180294>
55. Taoka T, Naganawa S. Gadolinium-based Contrast Media, Cerebrospinal Fluid and the Glymphatic System: Possible Mechanisms for the Deposition of Gadolinium in the Brain. *Magnetic Resonance in Medical Sciences* [Internet]. 2018 [citado 20 de marzo de 2025];17(2):111-9. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/mrms/17/2/17_rev.2017-0116/_article
56. Frenzel T, Lengsfeld P, Schirmer H, Hütter J, Weinmann HJ. Stability of Gadolinium-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents in Human Serum at 37°C. *Invest Radiol* [Internet]. diciembre de 2008 [citado 17 de marzo de 2025];43(12):817-28. Disponible en: <http://journals.lww.com/00004424-200812000-0000117>
57. Robert P, Fingerhut S, Factor C, Vives V, Letien J, Sperling M, et al. One-year Retention of Gadolinium in the Brain: Comparison of Gadodiamide and Gadoterate Meglumine in a Rodent Model. *Radiology* [Internet]. agosto de 2018 [citado 18 de marzo de 2025];288(2):424-33. Disponible en: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2018172746>
58. Lohrke J, Frenzel T, Endrikat J, Alves FC, Grist TM, Law M, et al. 25 Years of Contrast-Enhanced MRI: Developments, Current Challenges and Future Perspectives. *Adv Ther* [Internet]. 25 de enero de 2016 [citado 22 de marzo de 2025];33(1):1-28. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12325-015-0275-4>
59. Taoka T, Masutani Y, Kawai H, Nakane T, Matsuoka K, Yasuno F, et al. Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases. *Jpn J Radiol* [Internet]. 14 de abril de 2017 [citado 5 de abril de 2025];35(4):172-8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11604-017-0617-z>
60. Naganawa S, Taoka T, Ito R, Kawamura M. The Glymphatic System in Humans: Investigations With Magnetic Resonance Imaging. *Invest Radiol* [Internet]. enero de 2024 [citado 10 de abril de 2025];59(1):1-12. Disponible en: <https://journals.lww.com/10.1097/RLI.0000000000000969>
61. Iliff JJ, Lee H, Yu M, Feng T, Logan J, Nedergaard M, et al. Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI. *Journal*

- of Clinical Investigation [Internet]. 1 de marzo de 2013 [citado 12 de abril de 2025];123(3):1299-309. Disponible en: <http://www.jci.org/articles/view/67677>
62. Yokota H, Vijayasarathi A, Cekic M, Hirata Y, Linetsky M, Ho M, et al. Diagnostic Performance of Glymphatic System Evaluation Using Diffusion Tensor Imaging in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus and Mimickers. *Curr Gerontol Geriatr Res* [Internet]. 20 de junio de 2019 [citado 18 de abril de 2025];2019:1-10. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/cggr/2019/5675014/>
 63. Alghanimy A, Work LM, Holmes WM. The glymphatic system and multiple sclerosis: An evolving connection. *Mult Scler Relat Disord* [Internet]. marzo de 2024 [citado 18 de abril de 2025];83:105456. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221103482400035X>
 64. Havsteen I, Damm Nybing J, Christensen H, Christensen AF. Arterial spin labeling: a technical overview. *Acta radiol* [Internet]. 2018 [citado 20 de abril de 2025];59(10):1232-8. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0284185117752552>
 65. Rane Levendovszky S, Flores J, Peskind ER, Václavů L, van Osch MJ, Iloff J. Preliminary investigations into human neurofluid transport using multiple novel non-contrast MRI methods. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [Internet]. 25 de diciembre de 2024 [citado 24 de abril de 2025];44(12):1580-92. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X241264407>
 66. Wardlaw JM, Benveniste H, Nedergaard M, Zlokovic B V., Mestre H, Lee H, et al. Perivascular spaces in the brain: anatomy, physiology and pathology. *Nat Rev Neurol*. 15 de marzo de 2020;16(3):137-53.
 67. Ballerini L, Lovreglio R, Valdés Hernández M del C, Ramirez J, MacIntosh BJ, Black SE, et al. Perivascular Spaces Segmentation in Brain MRI Using Optimal 3D Filtering. *Sci Rep* [Internet]. 1 de febrero de 2018 [citado 27 de abril de 2025];8(1):2132. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-19781-5>
 68. Bernal J, Valdés-Hernández MDC, Escudero J, Duarte R, Ballerini L, Bastin ME, et al. Assessment of perivascular space filtering methods using a three-dimensional computational model. *Magn Reson Imaging*. noviembre de 2022;93:33-51.