DOCUMENTOS · 26/91

Recuperación funcional y reorganización anatómica del cerebro con daño neonatal

Jaime R. Villablanca

MINISTERIO DE ASUNTOS SOCIALES

Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía

17 JUN. 1

SIIS
Reina Regente, 5 - bajo
Apdo. 667
SAN SEBASTIAN-3
R.4894
AC 68

RECUPERACION FUNCIONAL Y REORGANIZACION ANATOMICA DEL CEREBRO CON DAÑO NEONATAL

DR. JAIME R. VILLABLANCA
Profesor
Centro para la Investigación del Retardo Mental
Departamentos de Psiquiatría y
Ciencias de la Conducta y de
Anatomía y Biología Celular

Escuela de Medicina
Universidad de California
Los Angeles. California
Estados Unidos de América

Dirección: Mental Retardation Research Center
UCLA School of Medicine
760 Westwood Plaza (Room 58-258B)
Los Angeles. CA 90024-1759
U.S.A.

RECUPERACION FUNCIONAL Y REORGANIZACION ANATOMICA DEL CEREBRO CON DAÑO NEONATAL

. AUTORES: Dr. Jaime Villablanca. Centro para la Investigación del Retardo Mental. Departamentos de Psiquiatría y Ciencias de la Conducta y de Anatomía y Biología Celular. Escuela de Medicina.Universidad de California.

. DOCUMENTOS 26/91

. Memoria de la labor de investigación galardonada con el Premio "REINA SOFIA" 1990. de investigación sobre prevención de las deficiencias.

. EDITA: Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía.

. CONFECCION Y DISTRIBUCION: SIIS. Centro de documentación e información. Concertado con el Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía. C/ Serrano, 140 - 28006 Madrid.

. IMPRIME: Artegraf

. Primera edición: Marzo 1991. 1.000 ejemplares

. Diseño cubierta: Javier González Solas

NIPO:380-91-002-3
DEPOSITO LEGAL: M - 12606 - 1991

INDICE

I. INTRODUCCION 5

II. METODOS GENERALES 9

A. Sujetos, cirugía y manutención 9

B. Histología 10

III. RESULTADOS (y métodos especiales) 14

A. Estudios neurológicos y conductuales 14
1. Movimientos simples y reacciones posturales 15
2. Movimientos dirigidos y entrenamiento 18
3. Sensibilidad somática y sistema visual 19
4. Funciones complejas 21

B. Estudios anatómicos 23
1. Procesos de reinervación 25
a. Sistema córtico-espinal
b. Sistema visual
c. Vía cerebelo talámica
2. Procesos de degeneración 46
a. Degeneración retrógrada directa: tálamo
b. Degeneración retrógrada transináptica: colículo superior

C. Resumen de resultados 55
1. Neurológicos y conductuales 55
2. Procesos de reinervación 55
3. Procesos degenerativos 56

IV. DISCUSION 57

A. Nuestros resultados y la literatura científica 58
1. Procesos de reinervación 58
2. Procesos de degeneración 60
3. Efectos en el hemisferio no lesionado 61

B. El factor edad en el momento de la lesión 64
1. Procesos regenerativos 64
2. Procesos degenerativos 65

C. Significado presente y futuro con énfasis en retardo mental y minusvalías del desarrollo 67
1. Procesos de regeneración 69
2. Procesos de degeneración 70
3. El futuro 73

V. RESUMEN 75

VI. REFERENCIAS 77

VII. AGRADECIMIENTOS 97

I. INTRODUCCION

En los últimos 10-15 años hemos avanzado extraordinariamente en el conocimiento del cerebro. Esto se ha debido, en gran parte, a la productividad del gran número de científicos que durante este período se ha incorporado a la investigación en neurociencias. Por ejemplo, el número de miembros de la Sociedad Americana de Neurociencia ha crecido de 3.954 en 1975 a 17.700 en 1990. Sin embargo, el cerebro continúa manteniendo celosamente gran parte de sus misterios los cuales, siendo un desafío para la mente, generan aún más interés en esta "última frontera". Uno de estos misterios es cómo reacciona el sistema nervioso frente al daño. La solución de este problema es de especial importancia para la edad temprana debido al aumento proporcional de causas neurológicas de mortalidad y morbilidad infantil en vista de la declinación (al menos en los países de economías avanzadas) de las enfermedades infecciosas y de la desnutrición. Además, el dramático progreso médico reciente permite hoy día salvar y mantener niños con daño cerebral que sólo hace uno o dos decenios habrían fallecido irremediablemente.

Durante los últimos 10 años mi laboratorio ha estado dedicado precisamente a investigar cuáles son los procesos que contribuyen a la recuperación funcional y a la reparación estructural del cerebro dañado.

La experiencia clínica y experimental indican que tal recuperación puede ser dramática, particularmente cuando la lesión cerebral ocurre a temprana edad. Por ejemplo, aún después de daño extenso a un hemisferio cerebral, incluyendo hemisferectomía quirúrgica, la recuperación de funciones neurológicas y cognitivas puede ser considerable hasta el punto que, si el hemisferio dominante es el que queda fuera de función, el lenguaje se desarrolla normalmente gracias a que esta capacidad es "transferida" al hemisferio intacto (79, 90). Asimismo, es casi de experiencia común que adultos, preferentemente jóvenes, que sufren un accidente vascular cerebral unilateral, suelen mostrar considerable recuperación de funciones, aunque el grado de restauración nunca alcance al que se observa en el niño pequeño con una lesión similar.

¿Cuáles son las bases neurales de la recuperación funcional? ¿Por qué las diferencias a veces tan marcadas entre el adulto y el infante que sufren lesiones similares? ¿Sería posible identificar procesos anatómicos, funcionales o metabólico-humorales que expliquen estos fenómenos? Y, si esto fuese posible, ¿hasta qué punto se puede interferir en estos procesos de modo de atenuar aquellos que son impedimento para la recuperación y/o estimular aquellos que le son favorables? Tal es el tipo de interrogantes que nuestra investigación ha tratado de contestar. Nos parece claro que si éstas son resueltas, no sólo habríamos entendido considerablemente la plasticidad post-lesional cerebral, sino que estaríamos en posición de sugerir métodos de tratamiento y prevención de las consecuencias del daño neural, incluyendo la deficiencia mental y las minusvalías del desarrollo.

En vista de que trabajo en un "Centro para la Investigación del Retardo Mental" y de mi interés general en problemas del desarrollo neurológico, nuestro énfasis ha sido dirigido al estudio de estos problemas en el organismo joven. Es sabido (102, 109) que, en general, la deficiencia mental y las minusvalías del desarrollo, en último término tienen como base una lesión cerebral estructural. Puede que ésta sea circunscrita y bien localizada, (como, por ejemplo, en casos de daño traumático, vascular o tumoral), o que la lesión sea más difusa y difícil de localizar (como en casos de etiología metabólica o infecciosa perinatal); o incluso discutible y sutil (como en casos de desnutrición u otras deprivaciones tempranas).

Cualquiera sea la etiología y magnitud de la lesión cerebral, la hipotésis de nuestro trabajo es que para que haya recuperación funcional, la estructura cerebral también tiene que cambiar y remodelarse, proporcionando así la infraestructura para una plasticidad cerebral reparativa. Consecuentes con esta hipótesis, hemos intentado demostrar cambios anatómicos post lesionales profundos y extensos, a la vez que una correlación positiva de estos cambios con el diferente grado de recuperación, en animales con lesión cerebral a edad temprana o adulta. Don Santiago Ramón y Cajal inició esta labor hace ya mucho (77), pero sus hallazgos y reflexiones fueron olvidados. Solamente en los últimos años este campo ha adquirido renovado vigor. Sin embargo, al iniciar nuestros

estudios aún no disponíamos de una demostración experimental convincente de que una verdadera y robusta reorganización estructural fuese posible después de lesiones cerebrales.

En un segundo y lógico paso, proponemos que si luego de descubrir cuáles son los procesos implicados en la reparación cerebral, averiguamos cómo modificarlos para hacerlos más efectivos, habremos contribuído considerablemente a la prevención de las consecuencias del daño cerebral que conducen a la deficiencia mental y al impedimento neurológico y, tal vez, a la terapéutica misma de estas condiciones.

Para nuestros estudios usamos el gato como la especie animal experimental y hemisferectomía como la lesión cerebral modelo. ¿Por qué esta selección?.

Una consideración clave para elegir al gato es que el estado de madurez del cerebro del gatito al nacer coincide con el del niño, según lo indica abundante información anatómica, neurológica y electrofisiológica (ver 20, 72, 73, 76) e incluyendo nuestros recientes hallazgos metabólicos (10, 37, 46). Consecuentemente, el estado de desarrollo del cerebro del gatito al nacer, es equivalente al del feto humano entre los 168-182 días de gestación. Más adelante, el cerebro del gatito madura más rápido de tal modo que a las 3-4 semanas de vida, ha alcanzado un desarrollo comparable al de un infante nacido a término. En contraste, al momento de nacer el cerebro de los monos es más maduro (73, 89) y el del los roedores menos desarrollado que el del hombre (1, 20, 73, 74). Hay además otras razones: el gato es un mamífero avanzado que posee un repertorio conductual-neurológico sofisticado y respecto a cuyo sistema nervioso existe abundante información (ya que ha sido un animal clásicamente usado para investigaciones neurológicas). Por lo tanto, para estudios experimentales aplicables al daño cerebral en el hombre y en que el estado de maduración es una variable importante, el gato parece ser la especie ideal.

Elegimos hemisferectomía como la lesión modelo por varias razones favorables: a) la lesión imita los efectos de la apoplejía humana que,

cuando es extensa, resulta en el tan común y clásico síndrome de hemiplejía que compromete prácticamente todas las funciones del hemisferio dañado; b) es la misma hemisferectomía que se emplea terapéuticamente para tratar dolencias imposibles de controlar por otros medios (por ejemplo, en nuestra Universidad colaboramos con neurocirujanos que emplean la hemisferectomía para tratar la epilepsia infantil refractaria a otras terapias); c) la hemisferectomía compromete los sistemas motrices y sensoriales clásicos unilateralmente; en vista que la anatomía y fisiología de estos sistemas son bien conocidas, esto permite hacer comparaciones con el lado intacto; d) la lesión priva extensamente de axones aferentes (deaferenta) y eferentes (deeferenta) a núcleos diencefálicos y del tronco cerebral; debido a la magnitud de la lesión, las consecuencias son extensas de tal modo que cualquiera reacción anatómica en estos núcleos debería ocurrir al máximo y, por lo tanto, debe ser relativamente fácil de detectar.

Afortunadamente, las predicciones teóricas implicadas más arriba se han visto cumplidas, como lo demuestran nuestros resultados.

El presente trabajo tiene como propósito resumir los hallazgos más relevantes de nuestras investigaciones. Pero es sólo un apretado resumen. En vista que los experimentos son numerosos y que la gran mayoría de los resultados son cuantitativos, no sólo omitiremos muchos detalles sino que, en algunos casos, presentaremos sólo ejemplos de un grupo de resultados similares y, en otros casos, condensaremos detalles para presentar sólo resultados globales. Sin embargo, todos los detalles requeridos por el rigor científico han sido expuestos en los 30 trabajos ya publicados, o en prensa. Todos han sido incluidos en las "**Referencias**" (marcados con asterisco) y son citados en los lugares pertinentes del texto. Por lo tanto, invito a los lectores a examinar estos trabajos cada vez que lo estimen necesario.

Nuestra conclusión final es que el conjunto de la evidencia presentada, tal vez la más cohesiva y completa originada en un sólo laboratorio, demuestra una extraordinaria plasticidad estructural del cerebro a continuación de lesiones tempranas. Esta plasticidad era

insospechada hasta hace pocos años y augura éxito en la segunda etapa de la investigación, etapa en que nuestro laboratorio comienza a entrar, y que consiste en tratar de aprovechar este potencial mediante el uso de intervenciones que prevengan las consecuencias de la destrucción neural. En vista que tal daño es el que conduce al retardo mental, minusvalías del desarrollo y numerosos síndromes neurológicos, nuestra meta final es, en verdad, la prevención y tratamiento de estas manifestaciones del daño cerebral.

II. METODOS GENERALES

Para abreviar, los gatos con hemisferectomía neonatal serán llamados HN y aquellos con ablación en edad adulta, HA.

A. Sujetos, cirugía y manutención (para detalles ver 103, 104).

Con pocas excepciones los gatitos fueron hemisferectomizados entre el quinto y el decimoquinto día de edad. Los HA fueron todos adultos pero nunca viejos. La hemisferectomía fue siempre del lado izquierdo (sin razón especial). La operación fue ejecutada bajo anestesia barbitúrica e hipotermia. Luego de remover la calota y seccionar la duramadre, el hemisferio fue separado del tálamo a nivel de la cápsula interna y del núcleo caudado (Fig.1), usando aspiración con una pipeta fina y disección roma. Luego de identificar el pedículo de la arteria cerebral media, éste fue ligado y el hemisferio removido en bloque. Al final, el cráneo fue cerrado usando el músculo temporal, en los HA, o la calota semicartilaginosa, en los HN. La mortalidad y morbilidad postquirúrgica fueron mínimas. Los HN fueron mantenidos por una noche en incubadora con termostato y devueltos a su camada al día siguiente.

Los gatitos fueron destetados a los 2 meses de edad, vacunados y a la edad de 6 meses, trasladados a jaulas individuales. Con pocas excepciones, la sobrevida postquirúrgica de los animales fue superior a un año.

El número de animales usados fluctuó con cada uno de los experimentos y está indicado en los respectivos trabajos publicados. En vista a los requerimientos estadísticos, nunca fue interior a 5 animales por grupo.

B. Histología (incluyendo descripción de la lesión).

Al final de los experimentos, cada animal fue anestesiado profundamente y sacrificado mediante perfusión cardíaca de presión controlada usando primero solución salina y luego formalina neutra. El cerebro fue extraído de inmediato, inspeccionado y fotografiado desde varios ángulos. Luego de 2-4 semanas de fijación en formalina, cada cerebro fue seccionado en 3 bloques en el plano frontal, sumergido en etanol al 20% por una noche, congelado y seccionado con micrótomo. El grosor de las secciones fue de 50μm. Secciones alternadas, seriadas, fueron teñidas con tionina o usadas para los procedimientos especializados descritos más adelante.

Para verificar la extensión y la topografía de la hemisferectomía, la lesión fue reconstruida a nivel de 8 planos frontales seleccionados del atlas de Reinoso-Suárez (80). Para cuantificar la extensión de la lesión, contamos los cuadrados del atlas sobrepuestos sobre tejido cerebral intacto. Sólo grupos de animales con hemisferectomías cuanti y cualitativamente similares fueron usados para las comparaciones estadísticas.

En todos los cerebros la ablación incluyó toda la corteza dorsolateral como así mismo, la corteza de la línea media caudal y dorsal a la rodilla del cuerpo calloso (Fig. 1). En frente del cuerpo calloso quedaron porciones variables, aunque pequeñas, de la corteza mesial bajo el surco genualis (rostralmente) y cruciatus (caudalmente). En la superficie ventral del cerebro, la disección siguió del borde externo del nervio olfatorio (rostralmente) y del surco rinicus (caudalmente). Por lo tanto, todas las áreas ventrales y mediales resultaron indemnes incluyendo el diencéfalo ventral, el chiasma y áreas del cerebro rostral basal anteriores a este último. Dorsalmente, la comisura anterior, el septum y el fórnix

Fig. 1 - A y B muestran secciones del cerebro en el plano frontal al nivel de las coordenadas estereotáxicas anteroposteriores que se indican. Tinción: tionina; espesor: 50 um. El propósito es mostrar las características de la hemisferectomía en gatos con lesión neonatal (columna de la derecha en A y B) o en edad adulta (columna de la izquierda en A y B). Estos animales fueron sacrificados 435 (A) y 308 (B) días después de hemisferectomía. El gato con lesión temprana fue operado a los 8 días de edad. Notar: a) la estrecha similitud de las áreas removidas (o dejadas intactas) y de la extensión de la lesión entre los dos cerebros; b) la menor atrofia del tálamo (en los niveles A 11.0 y A 7.0) en el cerebro del gato con la lesión temprana. A nivel A 24.0 la sección del cerebro del animal con lesión neonatal aparece obscura debido a la inyección intracortical de aminoácidos marcados 5 días de sacrificar al animal. Para detalles, ver el texto. (Figura tomada de Villablanca, J.R., Burgess, J.W. y Benedetti, F. Brain Res., 368: 221-225, 1986.)

Fig. 1

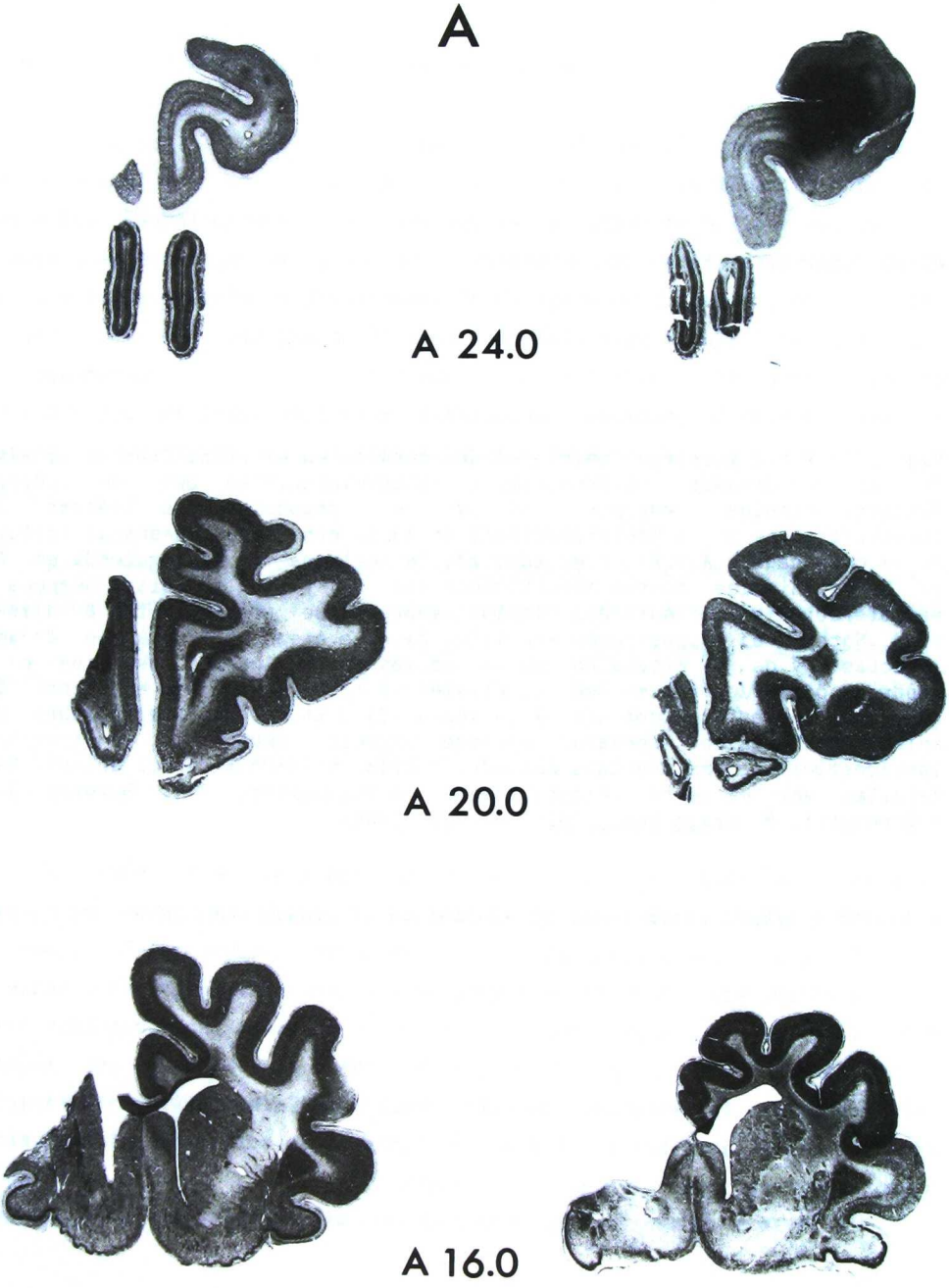
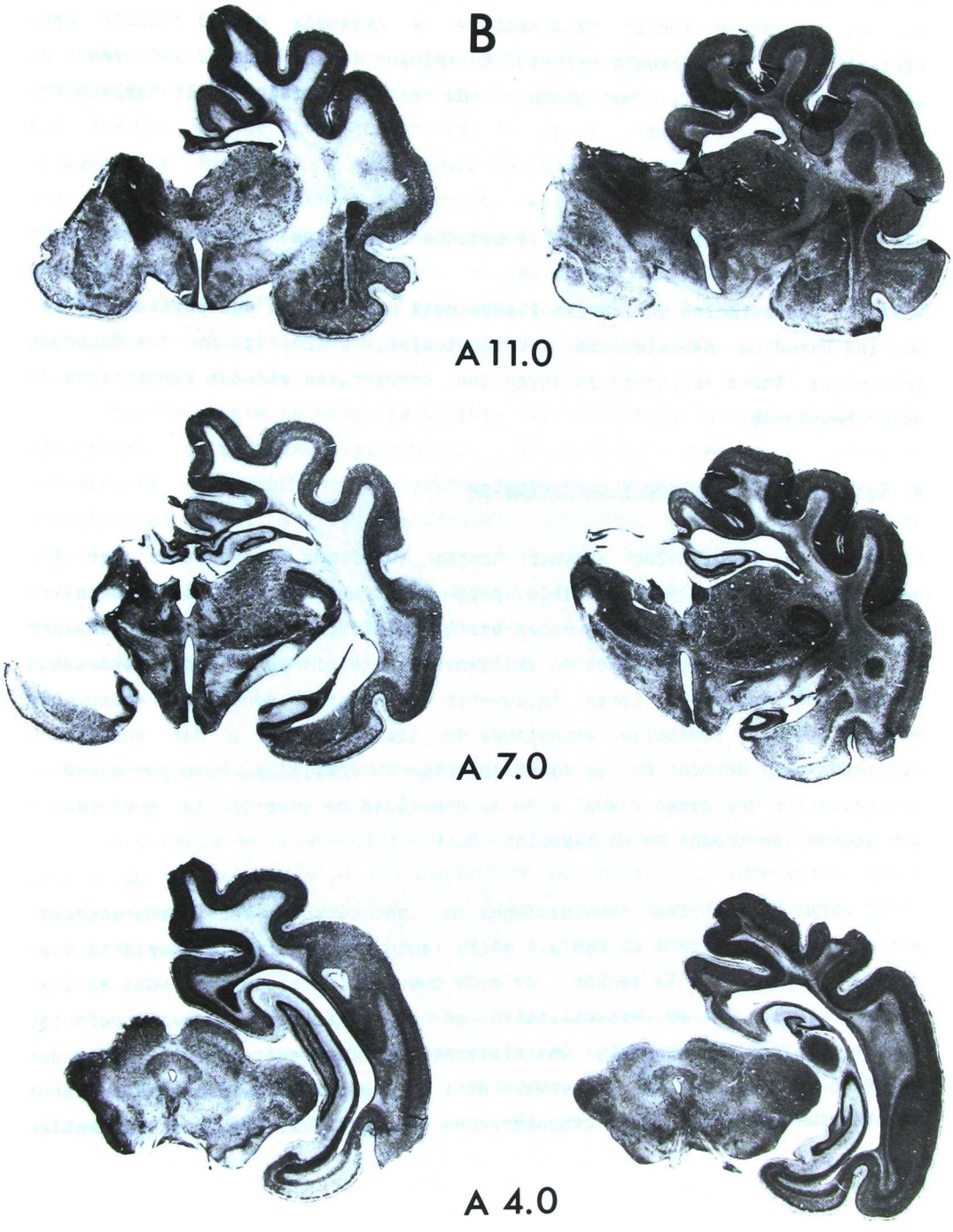


Fig. 1



medial no fueron dañados directamente, pero más lateral y caudalmente, la fimbria del fórnix fue seccionada y/o removida junto con el hipocampo dorsal. La mayor parte de la cabeza del núcleo caudado y del putamen junto con el claustrum fueron eliminados y la amígdala dorsal recibió daño variable pero generalmente extenso. El tálamo no fue dañado, incluyendo su superficie dorsal (y, de hecho, todo el diencéfalo), ni tampoco el mesencéfalo.

III. RESULTADOS (y métodos especiales)

La presentación de los resultados está dividida en dos partes: (A) la de los Estudios Neurológicos y Conductuales; y (B) la de los Estudios Anatómicos. Ambas secciones incluyen los respectivos métodos específicos de experimentación.

A. Estudios neurológicos y conductuales.

La estrategia fue evaluar tantas funciones perturbadas por la hemisferectomía como fuese posible, para poder obtener una visión completa y fidedigna de posibles diferencias entre los efectos de la lesión temprana y la tardía. Consecuentemente, aplicamos un total de 30 pruebas a ambos grupos de animales. Estas incluyeron mediciones sencillas, como por ejemplo, de la tendencia espontánea de los animales a dar vueltas a izquierda o a derecha en un campo abierto; o complejas, como por ejemplo, la evaluación del campo visual o de la capacidad de invertir la preferencia por uno de los brazos de un laberinto en T.

Para todas las evaluaciones a ser usadas en comparaciones estadísticas, esperamos al menos 6 meses (aunque generalmente bastante más) después de infligir la lesión, de modo que los HN alcanzaran edad adulta-juvenil y los HA se estabilizaran en cuanto al curso de los efectos postquirúrgicos. En general, una misma prueba fue repetida a lo menos dos veces en cada animal con intervalo de 1 a 3 meses y el promedio de estos valores fue usado para las comparaciones estadísticas. Los animales también

fueron evaluados en los días y meses que siguieron inmediatamente después de la operación, sin embargo, en aras de la brevedad, esos resultados sólo serán mencionados de paso en la descripción que sigue.

La siguiente observación general es de interés antes de describir los resultados específicos. Los HN crecieron normalmente y su peso medio final fue similar al de los gatitos de la misma camada no lesionados. La recuperación funcional de estos animales fue extraordinaria de modo que, en edad adulta y a la simple inspección, aparecían tan normales como sus hermanos de camada no operados. Los HA, en cambio, mostraban a lo menos dos anormalidades fáciles de detectar: al caminar casi todas las vueltas eran hacia la izquierda y las extremidades derechas mostraban cierta paresia (tendencia a deslizarse hacia afuera en abducción).

En el presente trabajo resumiremos los resultados agrupándolos en las siguientes categorías funcionales: movimientos simples y postura; movimientos dirigidos de las extremidades y efectos del entrenamiento; sensibilidad somática y sistema visual; funciones "complejas". Sólo una selección de pruebas en cada categoría será incluida en la presente descripción. Las técnicas utilizadas en estas pruebas y exámenes serán mencionadas brevemente. Estas, los detalles de los resultados y los procedimientos estadísticos usados, están en 5 trabajos publicados (6, 7, 39,40, 104).

1. Movimientos simples y reacciones posturales.

La paresia de la extremidad anterior derecha fue evaluada midiendo el ángulo de abducción de la pata mientras el animal era desplazado hacia adelante por la piel del cuello. La abducción fue significativamente menor en los HN que en los HA.

La postura y el tono muscular de las extremidades anteriores, evaluados mediante movilización pasiva con el animal suspendido por la piel del cuello, demostró hipertonía extensora con ligera abducción de la extremidad anterior derecha en los HAs en tanto que en los HNs la

extremidad o no mostraba cambio alguno. o permanecía más bien flexionada o hipotónica.

En los HA la abertura palpebral del ojo derecho (medida en fotografías especiales) fue más grande. midiendo 18% más que la del ojo izquierdo en tanto que en los HN la diferencia fue sólo del 2.6%: esta medida reveló una paresia significativa del orbicular de los párpados en los HA.

Analizamos las huellas de las patas pintando con tinta la planta de las mismas. haciendo caminar a los animales sobre papel blanco colocado en el piso de un corto sendero enmarcado y midiendo los parámetros que se muestran en la Fig. 2. Demostramos que en los HA la huella de la extremidad posterior derecha fue un promedio de 0.8 cm más ancha ($P<.01$). que la distancia entre dos huellas de esta extremidad fue 5.7 cm más corta ($P<.02$) y que el ángulo del paso de esta extremidad se redujo en 10%. en relación con los gatos normales. En los HN estas medidas no fueron significativamente alteradas. Esto indicó debilidad de los músculos plantares. conjuntamente con abducción e hipertonía muscular en esa extremidad de los HA.

Reacciones de colocación de las extremidades. La colocación por estimulación táctil (los pelos de la pata tocan el borde de una superficie y esto determina la colocación de la pata en la superficie) permaneció ausente en las extremidades derechas de todos los animales lesionados: la colocación visual y por contacto con la mandíbula estuvo presente solamente en los HN: la colocación por estimulación propioceptiva y la marcha a lo largo de una tabla angosta fueron significativamente mejores en los HN que en los HA. De hecho. los HA apenas se podían mantener parados en la tabla angosta y al intentar caminar. se caían.

En conjunto. estas pruebas demostraron mayor paresia facial y de las extremidades en los HN que en los HA. Tanto o más importante para la actividad diaria de los animales fue el defecto. más marcado en los HA. de las reacciones de colocación de las extremidades. En ausencia de estas

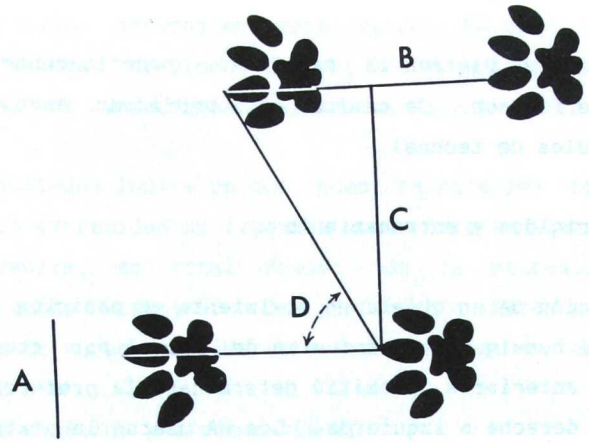


Fig. 2 - Esquema de las mediciones hechas en las huellas de las patas posteriores (obtenidas con el método descrito en el texto). Las variables medidas fueron: A, anchura de la pata; B, distancia entre dos huellas de la misma extremidad; C, distancia entre las huellas de las patas de ambos lados; D, ángulo de cada paso.

Fig. 3 - Muestra un animal hemisferectomizado tratando de usar la extremidad anterior derecha (afectada por la lesión) en la prueba de obtención de alimento. Notar: (a) que el alimento está en una caja transparente colocada en posición tal que, en condiciones normales, haría más fácil obtener el alimento con la pata derecha; (b) que la pata izquierda está cubierta con vendas de modo que no quepa en la abertura de la caja con el alimento. Para detalles ver texto.

reacciones, los gatos pierden la habilidad, prácticamente refleja y tan importante en los felinos, de caminar en superficies angostas (como ramas de árboles o ángulos de techos).

2. Movimientos dirigidos y entrenamiento

La presentación de un objeto en movimiento en posición variable en el campo visual y el consiguiente esfuerzo del animal por cogerlo con una de las extremidades anteriores, permitió determinar la preferencia por el uso de la extremidad derecha o izquierda. Los HA usaron la extremidad derecha significativamente menos (36.1% del total) que los animales intactos, en tanto que en los HN esta preferencia fue significativamente menos marcada (43,4% del total) que en los HA. La presentación repetida del estímulo solamente en el campo visual derecho determinó la inversión de esta preferencia por el no uso de la extremidad impedida y tal inversión tomó menos tiempo en obtenerse en los HN que en los HA. La inversión fue robusta; por ejemplo, después de varias semanas de entrenamiento el uso de la extremidad derecha en los HA subió del 36,1% al 55,7%, indicando un cambio de la preferencia (de izquierda a derecha).

El uso de la extremidad impedida (derecha) fue evaluada en condiciones experimentales aún más difíciles (Fig. 3). Para esto, el animal fue colocado en una jaula amplia, insonorizada, en la cual podía obtener alimento sólo de una caja con paredes de plástico transparente de 20 cm de ancho y alto pero con una abertura frontal de sólo 4 cm. La caja fue colocada en una esquina de la jaula de tal forma que fuese de fácil acceso al animal sólo usando la pata anterior derecha. En estas circunstancias fue imposible conseguir que los HA usaran espontáneamente la extremidad derecha (afectada) ya que obstinadamente usaban la pata izquierda. La única forma de obtener el uso de la extremidad impedida fue usando gasa y venda para restringir la movilidad de la extremidad haciéndola a la vez demasiado voluminosa como para poder ser introducida en la caja con el alimento. Aún en estas condiciones, necesitamos un promedio de 7.6 sesiones de entrenamiento de más de una hora, además de ayuno parcial, para que los HA

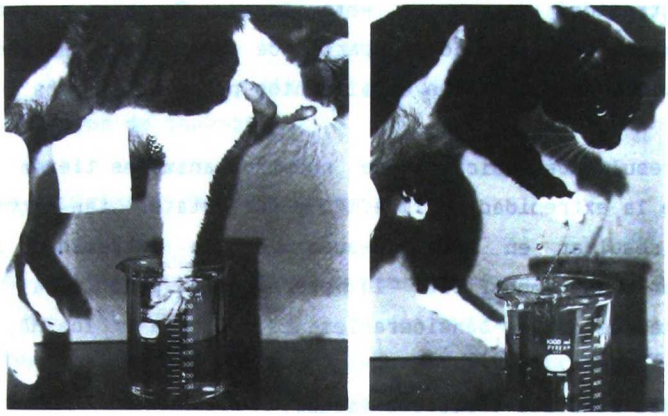
usaran la extremidad derecha en esta tarea. En gran contraste. los HN usaron la extremidad impedida a partir de la primera sesión y a lo más necesitaron limitada suspensión de alimentos para "motivarlos".

Estos resultados indicaron que nuestros animales tienen preferencia por el uso de la extremidad no impedida y que ésta es tan marcada en los HA que puede resultar en total desuso de la extremidad afectada. El entrenamiento puede modificar la preferencia pero esta flexibilidad funcional está. de nuevo. considerablemente reducida en los HA.

3. Sensibilidad somática y sistema visual.

Sensación cutánea de las patas anteriores. Esta fue medida sumergiendo cada una de las patas anteriores (hasta el nivel de la muñeca) en agua a diferentes temperaturas (entre 20º y 60º C) y midiendo la latencia de retirada. Los gatos normales retiraron la pata de inmediato (Fig. 4). Los animales hemisferectomizados mostraron un incremento en la latencia de retirada de la pata contralateral (derecha) a la lesión que alcanzó un máximo a nivel de la temperatura corporal normal para el gato (alrededor de 39º C). Sin embargo. los HA exhibieron latencias significativamente más largas que los HN hasta el punto que algunos de estos animales dejaban la pata en el agua por períodos superiores a 30 seg. En los HN la tendencia a una mayor latencia de retirada no alcanzó significancia ($<.05$).

Evaluación de la visión (40). Usamos una jaula obscurecida en la que el animal fue entrenado a beber alimento líquido de una bombilla que sobresalía de una de las paredes de la jaula (Fig. 6). En un semicírculo horizontal. en el mismo plano de la bombilla. dispusimos 7 pequeñas luces. a cada lado del campo visual del animal. y en cada uno de los siguientes ángulos: 0.15.30.45.60.75 y 90 grados (en relación con la punta de la bombilla). Cada luz podía ser encendida separadamente desde el exterior. El animal fue entrenado para interrumpir el lamido de la bombilla cada vez que una de las luces era encendida. Para esto. el gato aprendió a retirarse hacia atrás y fuera de una pequeña plataforma en el piso de la jaula cada



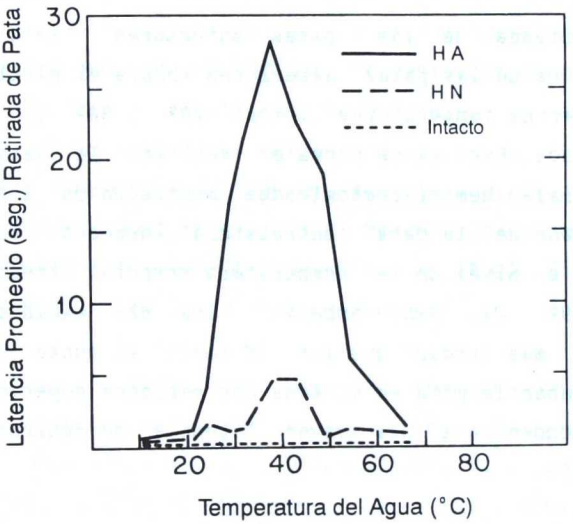


Fig. 4 - Latencia promedio (ordenada) para retirar la pata derecha (afectada por la hemisferectomía) del agua a las temperaturas indicadas en la abcisa. A la izquierda (arriba) se muestra un gato hemisferectomizado en edad adulta, que no retira de inmediato la pata derecha a temperatura termoneutral; en tanto que a la derecha, un animal con lesión neonatal sí retira la pata después de ser sumergida en el agua a la misma temperatura. Ver detalles en el texto. (Figura tomada y modificada de Villablanca. J.R., Burgess, J.W. y Olmstead, C.E. Behav. Brain Res., 19: 205-226, 1986.)

vez que veía una luz o, en caso contrario recibía un débil choque eléctrico en las patas. En otras palabras, la indicación que el gato podía ver cualquiera de las luces presentadas en su campo visual era la interrupción del lamido (de aquí que esta ingeniosa prueba se llama "prueba de la supresión del lamido", 23). Con este procedimiento, y repitiendo la pruebas muchas veces para cada animal, demostramos que (Fig. 5): a) los HA carecen completamente de visión en el campo visual derecho (o hemianopsia), tal como los pacientes con hemiplejía extensa o hemisferectomía; b) los HN, en cambio, respondieron 58%, 47% y 33% más que los HA a luces presentadas a 15,30 y 45 grados respectivamente, en el campo visual derecho. Esto demostró claramente que mientras los HA son ciegos en el campo visual opuesto a la hemisferectomía, los HN mantienen cierto grado de visión (lo que explica su mejor comportamiemto visual cuando se dejan libres en el laboratorio (104).

Es claro, por consiguiente, que tanto para la sensibilidad somática como para la sensorial, los HN exhiben mejor funcionalidad que los HA.

4. Funciones "complejas"

Actividades en "campo abierto". Los animales fueron colocados en un cuarto vacío insonorizado especial y observados desde el exterior. Evaluamos las siguientes actividades (frecuencia y duración): locomoción, olfateo, exploración parado en las patas posteriores, vocalización. Los HA mostraron disminución significativa de todas estas actividades comparados con los gatos normales, mientras que los HN no mostraron anormalidades. En las mismas condiciones experimentales evaluamos el comportamiento durante el primer contacto con otros gatos (intactos): en estas circunstancias los gatos normales no se acercan a sus congéneres más allá de una mínima distancia (1 m). Los HN no violaron esta distancia en tanto que los NA la sobrepasaron en un número significativo de veces y esta violación de la "zona neutra" resultó en un número significativo de ataques al otro gato.

No es fácil explicar esta mayor agresividad y menor actividad motora en los HA (tal vez sean debidas a daño quirúrgico del sistema límbico: ver

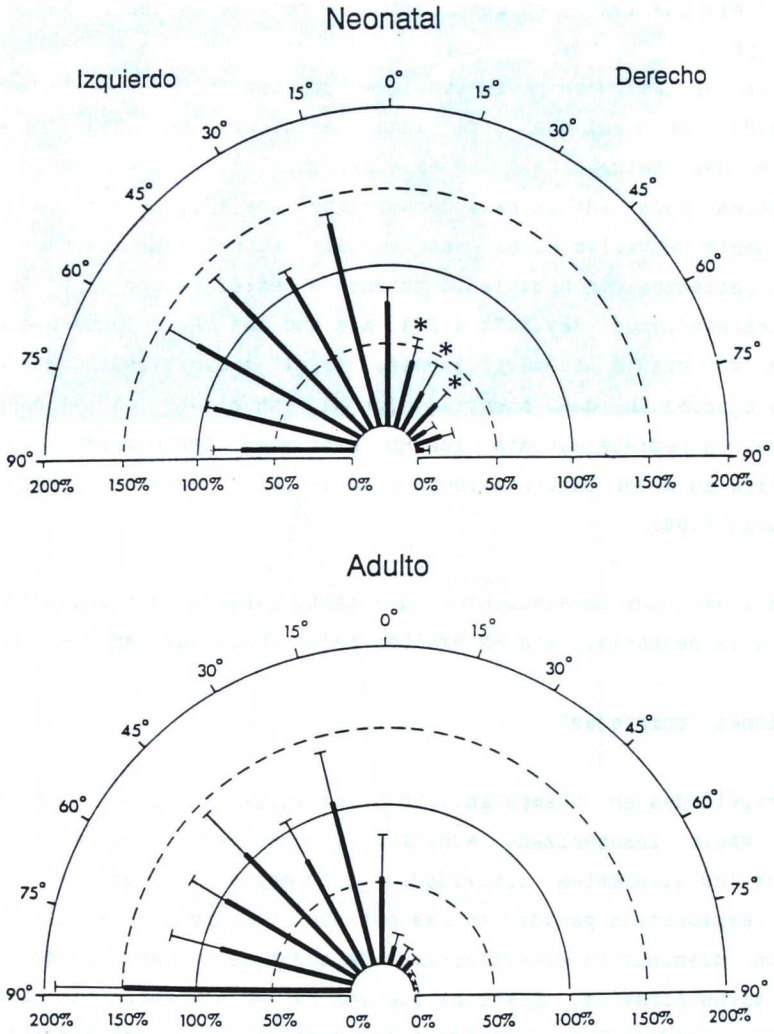


Fig. 5 - Porcentaje promedio (y desviación estándar de la media), en relación con el número de respuestas de los animales intactos en la "prueba de supresión del lamido", para gatos con lesión neonatal o en edad adulta y para cada ángulo del campo visual. Notar la dramática disminución del porcentaje de respuestas en el campo visual derecho (afectado por la hemisferectomía) en los gatos con la lesión en edad adulta (ceguera), en contraste con preservación parcial de la visión en ese mismo lado en los gatos con hemisferectomía neonatal. *P < 0.05, para la diferencia entre estos dos grupos. (Figura tomada y modificada de Hovda, D.A. y Villablanca, J.R. Behav. Brain Res., 37: 119-132. 1990.)

7).

Comportamiento en laberinto en T. La tendencia espontánea de todos los animales hemisferectomizados fue a volverse hacia el lado izquierdo del laberinto (al ofrecer alimento en los dos brazos de la T) de modo que al final de las 5 sesiones iniciales (10 intentos cada vez), casi el 95% de las vueltas era hacia la izquierda. Presentando alimento sólo en el lado derecho con el propósito de invertir esta tendencia, sólo conseguimos inversión completa y en un tiempo significativamente menor en los HN, en tanto que en los HA la inversión no sobrepasó el 50%.

El mayor defecto en el laberinto en T en los HA (y también en la prueba de ubicar alimento en filas paralelas de "copas", no descrito aquí pero sí en 7), seguramente se debió a la mayor tendencia a dar vueltas hacia la izquierda y al mayor defecto en el campo visual derecho de estos animales, comparado con los HN.

En resumen, en todas las pruebas utilizadas excepto sólo dos (reacción táctil de colocación de la pata y prueba binocular de percepción de profundidad, ver 39), los gatos con la hemisferectomía neonatal mostraron resultados significativamente, y a menudo dramáticamente, mejores que los gatos con la misma lesión, pero sufrida en edad adulta.

Los estudios que se describen a continuación proporcionan bases anatómicas a esta marcada diferencia en la recuperación funcional.

B. Estudios anatómicos

Hemos efectuado dos grupos de estudios:

- De procesos de reinervación por crecimiento axónico nuevo (o "regenerativos".
- De procesos degenerativos del tejido natural.

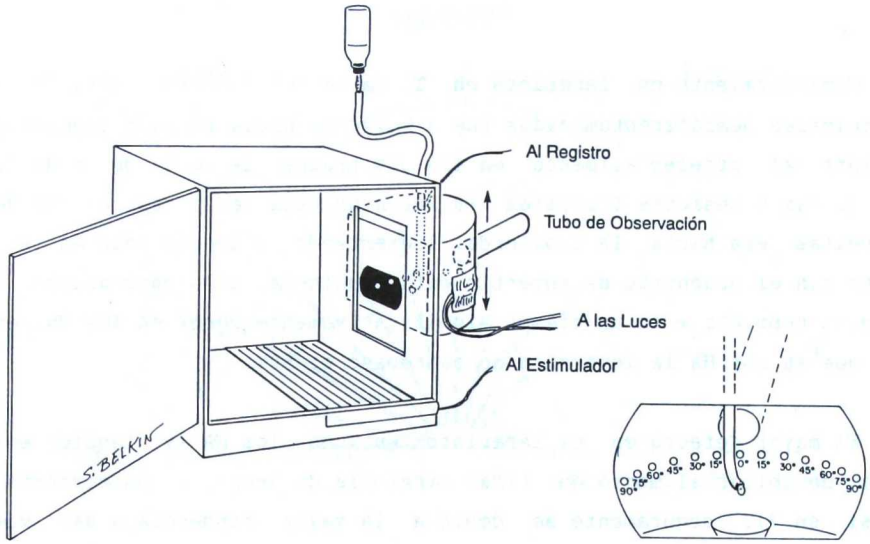


Fig. 6 - Esquema del aparato usado para evaluar el campo visual en la "prueba de supresión del lamido". El diagrama ampliado (a la derecha. abajo) de la cámara del aparato (área central más obscura en el esquema principal). muestra la bombilla de la cual el gato obtiene alimento (al centro) y las luces dispuestas a ambos lados de la misma para evaluar la visión en cada ángulo del campo visual.

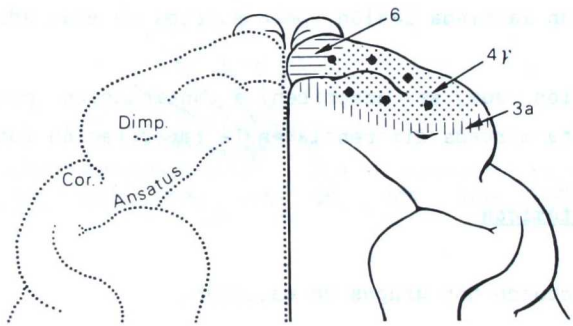


Fig. 7 - Esquema de la corteza frontal del gato que muestra los sitios de inyección (puntos negros) de los aminoácidos marcados en relación con los campos citoarquitectónicos (35) de la corteza que rodea al surco cruciatus. Ans: surco ansatus; Cor: surco coronal; Cru: surco cruciatus; dim: hendidura postcruciatus. El área 4 i corresponde a la corteza motriz primaria.

1. Procesos de reinervación.

En estos estudios investigamos la posible nueva disposición anatómica de terminales de neuronas de la corteza motora del hemisferio intacto (derecho) en los animales con hemisferectomía. Además, analizamos los terminales axónicos de los núcleos cerebelosos en el núcleo rojo y las conexiones de la corteza visual con el colículo superior. Para detalles, ver refs. 29, 38, 70, 106, 107.

a. Sistema córtico-espinal.

Métodos.

Para trazar las vías descendentes de la corteza motora usamos isótopos [3H] de leucina y prolina (mezcla 1:1, 50μCI/μl). Es sabido (17) que al ser depositados en el tejido nervioso, estos aminoácidos son incorporados a proteínas del citoplasma neuronal y luego transportados anterogradamente en el axón hasta los terminales del mismo.

Procedimientos de inyección. Usamos animales intactos adultos, HN (cuando adultos jóvenes) y HA (a lo menos 6 meses después de la lesión). Cada animal fue anestesiado y colocado en un aparato estereotáxico. El polo frontal del hemisferio derecho fue expuesto mediante una craneotomía amplia. Usando una microjeringa montada en un transportador, procedimos a inyectar los aminoácidos alrededor del surco cruciatus (Fig. 7). Partiendo a una distancia de 3 mm de la línea media, practicamos estereotáxicamente 4 a 6 inyecciones (dependiendo de la longitud del surco), a intervalos de 2 mm, 1,0 ó 1,5 por delante o por detrás del surco respectivamente, a una profundidad de 3 mm y usando un volumen de 0,3 a 0,6 μl cada vez.

Histología. Los animales fueron sacrificados después de 5 días de sobrevida, perfundidos y los cerebros procesados de acuerdo con "Métodos Generales". Una sección histológica (en el plano frontal) cada 4 (a través de todo el cerebro) fue montada en un portaobjeto gelatinizado con emulsión fotográfica y sometida a auto-radiografía (método de Cowan et al., 17).

Después de un período de exposición de 6 semanas, los cortes fueron desarrollados fotográficamente, teñidos con tionina y cubiertos con cubreobjetos. Este fue el material usado para el análisis que sigue.

Análisis. Bajo microscopía de campo obscuro las áreas del tejido expuestas a la radioactividad de las proteínas marcadas aparecen como áreas brillantes (**Figs. 8 y 14**) y bajo alta amplificación microscópica, las partículas mismas de la emulsión fotográfica aparecen como puntos brillantes cuya densidad se puede cuantificar.

Primero analizamos los sitios corticales de inyección. Usando microscopía corriente y también de fondo obscuro y con la ayuda de un microscopio estereoscópico, reconstruimos los sitios de inyección dibujando cortes seriados a través del área de la inyección. Las áreas de inyección fueron expresadas en mm2 y comparadas entre animales. Sólo aquellos animales de cada grupo que mostraron áreas de inyección de extensión similares fueron usadas para los cálculos estadísticos.

Para el análisis del trayecto de las fibras nerviosas y de sus terminales axónicos, estudiamos 4 niveles del sistema nervioso: tálamo (núcleos intralaminares y complejo ventrobasal), núcleo rojo, núcleo gracile y médula espinal cervical (alta, C2-3; baja, C7-8). Con un estereomicroscopio, examinamos todos los cortes a nivel de cada una de estas cuatro estructuras para determinar, primero la ubicación, curso y topografía de las fibras y terminaciones marcadas. Para el recuento de las partículas terminales marcadas usamos un microscopio de alto poder y un sistema de ordenador especializado (ver refs. 29, 107). Con este sistema, el investigador seleccionaba los sitios exactos del tejido adonde efectuar la cuantificación, incluyendo la amplificación microscópica adecuada. Luego, una cámara de televisión y un procesador de imágenes digitalizaban directamente la imagen microscópica "contando" las partículas marcadas contenidas en los campos de terminales axónicos. Para poder hacer comparaciones entre los grupos de animales, expresamos los resultados en términos de número de partículas por 1.000 μ2 (restando las cuentas de trasfondo). Los métodos estadísticos empleados están en 29, 106, 107.

Sería largo describir en detalle los sitios de muestreo. Baste decir que en cada una de las estructuras indicadas más arriba analizamos un número suficiente de sitios y de muestras como para tener una idea precisa de la distribución y número de terminales. El análisis más detallado fue en el núcleo rojo en donde analizamos (107) un total de 24 sitios en cada lado en 3 planos frontales (8 por cada plano). Además, para este núcleo aplicamos otro procedimiento de análisis topográfico que será mencionado más adelante.

Resultados.

Para resumir los resultados (Figs. 9, 10, 11) seguimos los procedimientos siguientes:

- Los valores promedios para cada sitio de muestreo en cada estructura fueron combinados con el objeto de poder mostrar sólo valores promedios globales: éstos son los números promedio de partículas por 1.000 um2 que aparecen en forma de barras en las Figs. 9, 10, y 11.

- Para comparaciones entre el lado izquierdo y derecho, a los valores del lado con la inervación más densa en los gatos normales, que en adelante llamaremos "inervación dominante", les otorgamos el valor máximo de 100%: como nuestras inyecciones fueron en la zona motora derecha, la inervación dominante para el tálamo y el n. rojo fue la del lado derecho, en tanto que para el n. gracile y la médula espinal fue la del lado izquierdo (ya que las fibras correspondientes normalmente cruzan hacia el lado opuesto a su origen para inervar estos dos niveles). La inervación del lado opuesto, o "no dominante", fue entonces expresada como un porcentaje de este 100%. Esta estrategia permite apreciar fácilmente en los gráficos de las Figs. 9, 10, y (11) la distribución esencialmente unilateral de los terminales en los gatos intactos, como así mismo, el grado que alcanza la inervación bilateral en los gatos hemisferectomizados.

- Para dar una idea de la significación estadística de la inervación "nueva" en los animales lesionados, mostramos con asteriscos arriba de las

Fig. 8 - Fotografías de secciones histológicas a través del núcleo rojo para mostrar terminales córtico-rubrales marcados con aminoácidos radioactivos en gatos adultos (A) con cerebro intacto, o (B) con hemisferectomía neonatal. Amplificación, 12 X. En estas imágenes de microscopía en fondo obscuro, las fibras y terminales aparecen de color blanco (brillante) dentro del trasfondo azul obscuro correspondiente al parénquima del mesencéfalo. En (A) y (B) las fibras marcadas en el ángulo inferior derecho corresponden al pedúnculo cerebral (vías descendentes motrices) ipsilateral a la inyección (corteza motriz del hemisferio derecho); éstas han transportado los aminoácidos marcados desde la corteza hasta el tronco cerebral y n. rojo. Notar: que en el animal control, sólo el n. rojo del lado de la inyección aparece con terminales marcados. En contraste, en el gato con la hemisferectomía neonatal el n. rojo de ambos lados aparece marcado indicando que el núcleo del lado izquierdo (ipsilateral a la hemisferectomía) ha sido ahora reinervado por fibras nerviosas que han cruzado desde el pedúnculo cerebral derecho.

Fig. 8

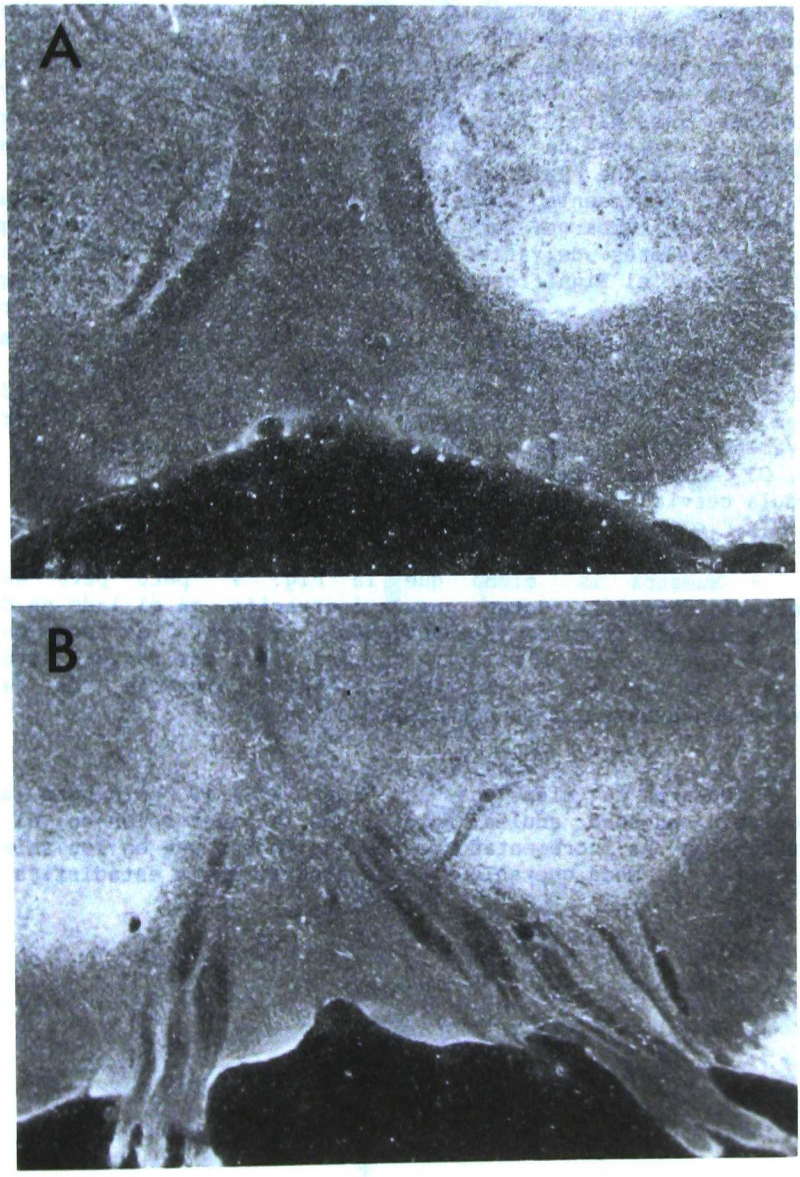


Fig. 9 - Esta (animales intactos) y las dos ilustraciones que siguen (**Figs. 10, 11**) muestran, esquemáticamente, la densidad de terminales de axones que descienden de la corteza motriz del lado derecho (el lado intacto en los gatos hemisferectomizados) en el tálamo, núcleo rojo, en los núcleos gracile-cuneatus y en la médula espinal. En cada figura las barras representan el número promedio de partículas marcadas (por 1.000 um2) en las áreas indicadas después de inyecciones de aminoácidos radiactivos en la corteza motora derecha. Las barras en negro representan la inervación dominante (en los gatos intactos) en tanto que las barras punteadas representan la inervación no dominante (que es la que incrementa por reinervación después de hemisferectomía). La columna numerada a la derecha de cada panel representa la calibración de las cuentas de partículas radioactivas (sin embargo, los valores que se muestran aquí representan combinación de valores de varios sitios de muestreo en cada estructura y, por esta razón, el significado estadístico que se exhibe es aproximado (para valores exactos, ver nuestros trabajos publicados). Para las comparaciones, a la inervación dominante en el animal intacto se le ha asignado el valor de 100%. Abreviaciones: Thal = tálamo (A 10, A 9.5 y A 8. representan los planos frontales a nivel de los cuales se hicieron las mediciones para los núcleos intraláminares y ventrobasales respectivamente); RN = núcleo rojo; Gra = núcleo gracile; Cun = núcleo cuneatus; C3 = tercer segmento de la médula cervical; C8 = octavo segmento de la médula cervical; * <0.05; ** < 0.01.

Fig. 10 - Muestra lo mismo que la **Fig. 9** pero para gatos con **hemisferectomía neonatal**. Notar: que la inervación en el lado no dominante ahora ha aumentado considerablemente hasta el punto de ser, en algunos casos, cuantitativamente similar a la del lado dominante: esto indica reinervación, por parte de la corteza motriz intacta, de las áreas parcialmente denervadas por la hemisferectomía.

Fig. 11 - Muestra lo mismo que las **Figs. 9** y **10** pero para gatos con **hemisferectomía en edad adulta**. Notar: que la inervación en el lado no dominante también ha incrementado pero mucho menos que en los animales con lesión neonatal de modo que sólo alcanzó significancia estadística en el n. rojo.

Fig. 9

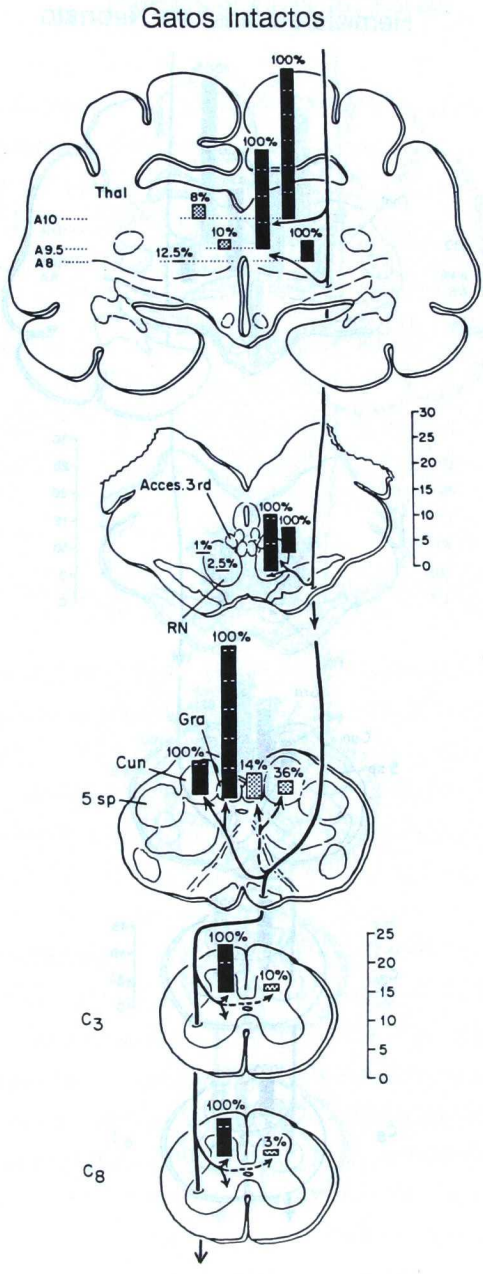

Gatos Intactos
100%
100%
Thal
8%
A10
10%
100%
A9.5
A8
12.5%
30
25
20
15
10
5
0
Acces.3rd
100%
100%
1%
2.5%
RN
100%
Gra
Cun
100%
14%
36%
5 sp
100%
25
20
15
10
5
0
10%
C3
100%
3%
C8

Fig. 10

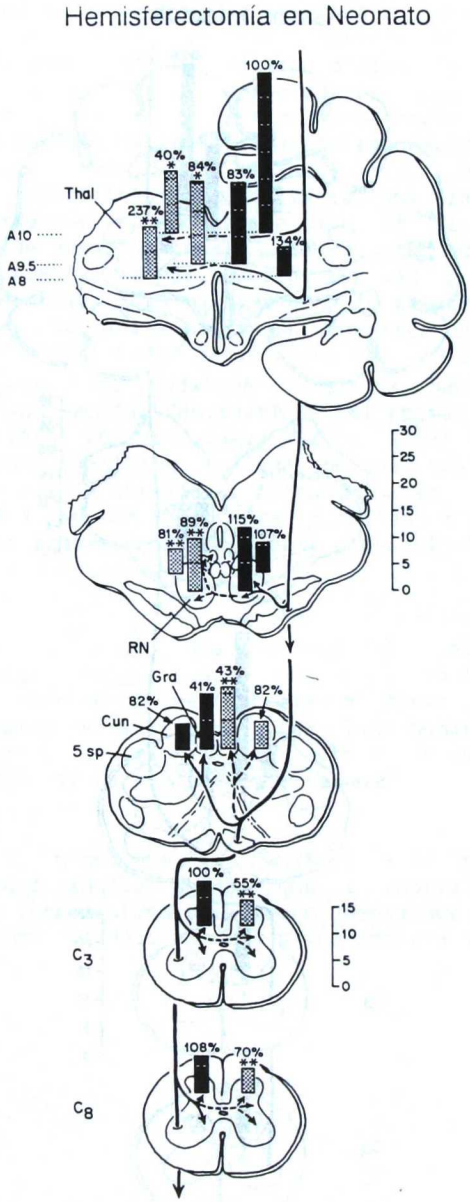
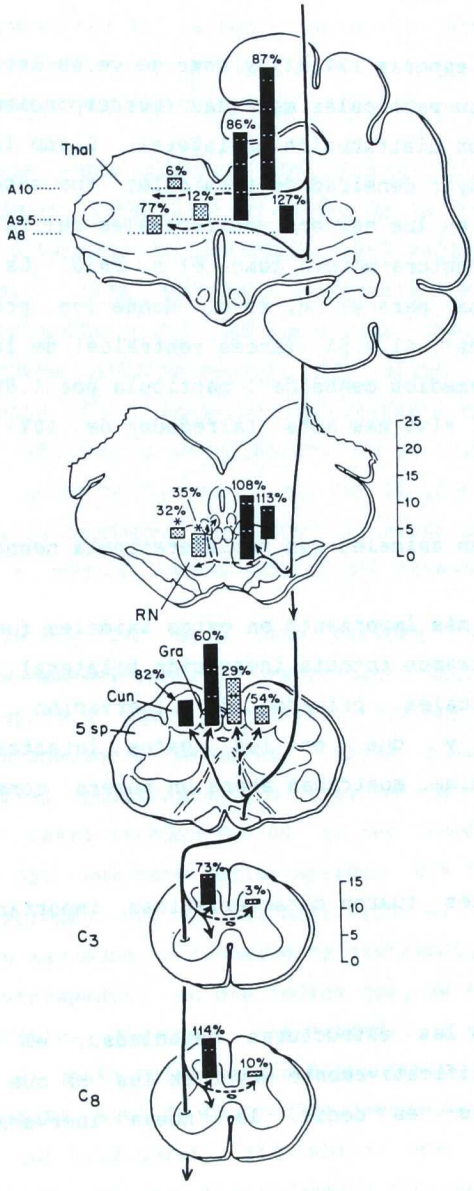

Hemisferectomía en Neonato
100%
40%
84%
83%
Thal
237%
134%
A10
A9.5
A8
30
25
20
15
10
5
0
89%
115%
81%
107%
RN
Gra
43%
41%
82%
82%
Cun
5 sp
100%
55%
15
10
5
0
C3
108%
70%
C8

Fig. 11

Hemisferectomía en Adulto



barras, el nivel aproximado de significancia (transposición desde los gráficos originales en refs. 29, 106, 107).

Resultados en gatos normales

Como era de esperar (71,81) y como se ve en los gráficos (Fig. 9), la gran mayoría de las partículas marcadas (correspondiente a terminales axónicos) mostraron distribución unilateral. Llamó la atención el hecho que encontramos la mayor densidad de terminales fue encontrada en estructuras sensoriales, como en los núcleos ventrobasales del tálamo y el n. gracile, y no en una estructura motora como el n. rojo. La inervación en el lado opuesto fue mínima para el n. rojo, donde los promedios fueron del 1% (porciones dorsales) al 2.5% (áreas ventrales) de la inervación dominante (y las cuentas promedios menos de 1 partícula por 1,000 um2). La inervación contralateral fue algo más alta (alrededor de 10%) par el tálamo y el n. gracile.

Resultados en animales con hemisferectomía neonatal

El hallazgo más importante en estos animales fue que en los 4 niveles examinados encontramos robusta inervación bilateral. En otras palabras, los núcleos subcorticales privados de inervación descendente por la hemisferectomía, y que en los gatos intactos reciben inervación contralateral mínima, mostraban ahora un número considerable de terminales axónicos (Fig. 10).

Las siguientes fueron características importantes de esta "nueva" inervación:

- En todas las estructuras estudiadas, el número de partículas marcadas fue significativamente mayor en los HN que en el lado homónimo de los gatos intactos; es decir, la "nueva" inervación fue uniformemente significativa.

- Para el n. rojo la reinervación fue proporcionalmente máxima

alcanzando cerca del 90% (con un promedio de alrededor de 7,5 partículas por μm^2) con respecto al lado de la inervación dominante (derecho) en los gatos normales; la médula espinal y el tálamo ventral también recibieron un alto porcentaje de reinervación (aunque ver explicación más adelante), en tanto que los n. intralaminares del tálamo y el n. gracile sólo llegaron a alrededor del 40%. La excepcional reinervación del n. rojo se ve claramente aún en cortes individuales a través del mismo, como se muestra en la Fig.8.

- Nos preocupamos especialmente de evaluar la topografía de distribución de los nuevos terminales en vista de la posibilidad de que ésta fuese totalmente diferente a la normal. Este problema fue estudiado cuantitativamente en el n. rojo. Para esto analizamos 8 secciones frontales del n. rojo con una distancia de 0,5 mm entre cada una (cubriendo, por lo tanto, toda la extensión anteroposterior del mismo) usando un método descrito en la referencia 107 y explicado parcialmente en la Fig. 12. Así pudimos demostrar (Fig. 13) que la distribución de la inervación nueva fue idéntica a la presente normalmente en el lado con la inervación dominante. Lo mismo sucedió (cualitativamente) en todos los otros núcleos estudiados excepto en un caso, el n. ventral posteromedial del tálamo izquierdo.

Como se ve en la Fig. 14, en el lado derecho, tanto en el animal intacto como en el HN, en el complejo ventrobasal talámico hay un área lateral (flecha) que aparece obscura, esto es, con muy pocos terminales, rodeada por áreas intensamente marcadas (áreas blancas); dicha área corresponde al n. ventral posteromedial el cual recibe proyecciones de la circunvolución coronal (esta circunvolución no fue inyectada en nuestros experimentos y es por eso que este núcleo aparece sin terminales, 30). En el lado de la hemisferectomía, por el contrario, todo el tálamo ventrobasal aparece con terminales marcados uniformemente distribuidos, sin omitir el área del n. ventral posteromedial lo que indica que, en este único caso, la inervación fue heterotípica, es decir, se extendió a un área a la que normalmente no llega (es esta reinervación heterotípica la que explica el porcentaje excepcionalmente alto de partículas marcadas encontrado en este sitio, Fig. 10). Hay que considerar, sin embargo, que la función de los diferentes núcleos ventrobasales es relativamente similar, de modo que esta heterotipia es relativa.

Fig. 12 - Gráfico producido por una ordenadora para mostrar la topografía de distribución de partículas marcadas (terminales axónicos) a lo largo del n. rojo del lado izquierdo (a la izquierda de la línea punteada) y derecho (derecha de la línea punteada) luego de inyección de aminoácidos marcados en la corteza motriz del hemisferio derecho en un gato intacto. Los números a la izquierda indica los 8 planos estereotáxicos frontales que se utilizaron para el análisis (desde A 6.5 hasta A 3.0). Para este análisis el n. rojo, en cada sección histológica, se consideró dividido en dos cuadrantes dorsales (paneles superiores) y dos cuadrantes ventrales (paneles inferiores) con, en cada caso, un cuadrante lateral y otro medial. El área total (en unidades arbitrarias) para cada cuadrante en cada plano está representada por el número bajo cada uno de los bloques. La proporción mediana del área de cada cuadrante que fue ocupada por cada una de 4 densidades estimadas de terminales (ningún terminal =1, pocos =2, mediana cantidad =3, muchos =4) está representada en cada bloque por diferentes tonos del blanco-negro. La microfotografía en el ángulo inferior derecho muestra una sección histológica representativa de la densidad de terminales en el n. rojo derecho. Notar que prácticamente no hay terminales en el n. rojo del lado izquierdo (opuesto al lado de la inyección) y que en el lado derecho los terminales son más abundantes en los cuadrantes ventrales. I = izquierdo; D = derecho; Lat = lateral; Med = medial. (Figura tomada y modificada de Villablanca, J.R., Gómez-Pinilla, F., Sonnier, B.J. y Hovda, D.A. Brain Res., 453: 17-31, 1988.)

Fig. 13 - Es similar a la Fig. 12 pero la información pertenece al cerebro de un gato con hemisferectomía neonatal. Notar: a) que ahora los dos núcleos rojos aparecen inervados indicando que la corteza motriz del hemisferio intacto ha reinervado al n. rojo de la izquierda; b) que la topografía de distribución de los terminales es muy similar en los dos n. rojos indicando que la distribución de terminales nuevos en el izquierdo es completamente normal. (Figura tomada y modificada de Villablanca, J.R., Gómez-Pinilla, F., Sonnier, B.J. y Hovda, D.A. Brain Res., 453: 17-31, 1988.)

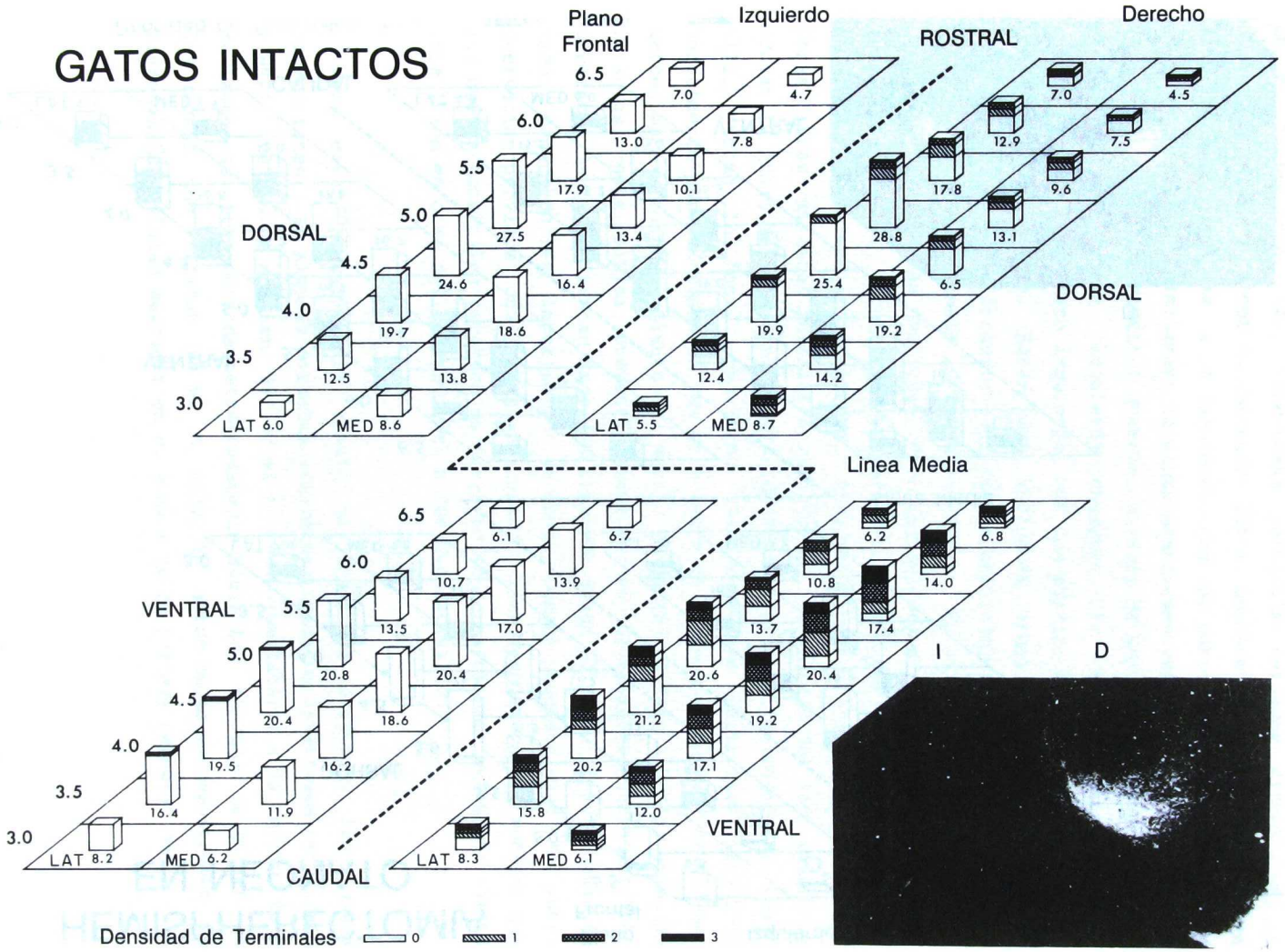

GATOS INTACTOS
Plano Frontal
Izquierdo
Derecho
ROSTRAL
DORSAL
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
7.0
4.7
13.0
7.8
17.9
10.1
27.5
13.4
24.6
16.4
19.7
18.6
12.5
13.8
LAT 6.0
MED 8.6
7.0
4.5
12.9
7.5
17.8
9.6
28.8
13.1
25.4
6.5
19.9
19.2
12.4
14.2
LAT 5.5
MED 8.7
DORSAL
Linea Media
VENTRAL
CAUDAL
6.1
6.7
10.7
13.9
13.5
17.0
20.8
20.4
20.4
18.6
19.5
16.2
16.4
11.9
LAT 8.2
MED 6.2
6.2
6.8
10.8
14.0
13.7
17.4
20.6
20.4
21.2
19.2
20.2
17.1
15.8
12.0
LAT 8.3
MED 6.1
VENTRAL
I
D
Densidad de Terminales
0
1
2
3

Fig. 12

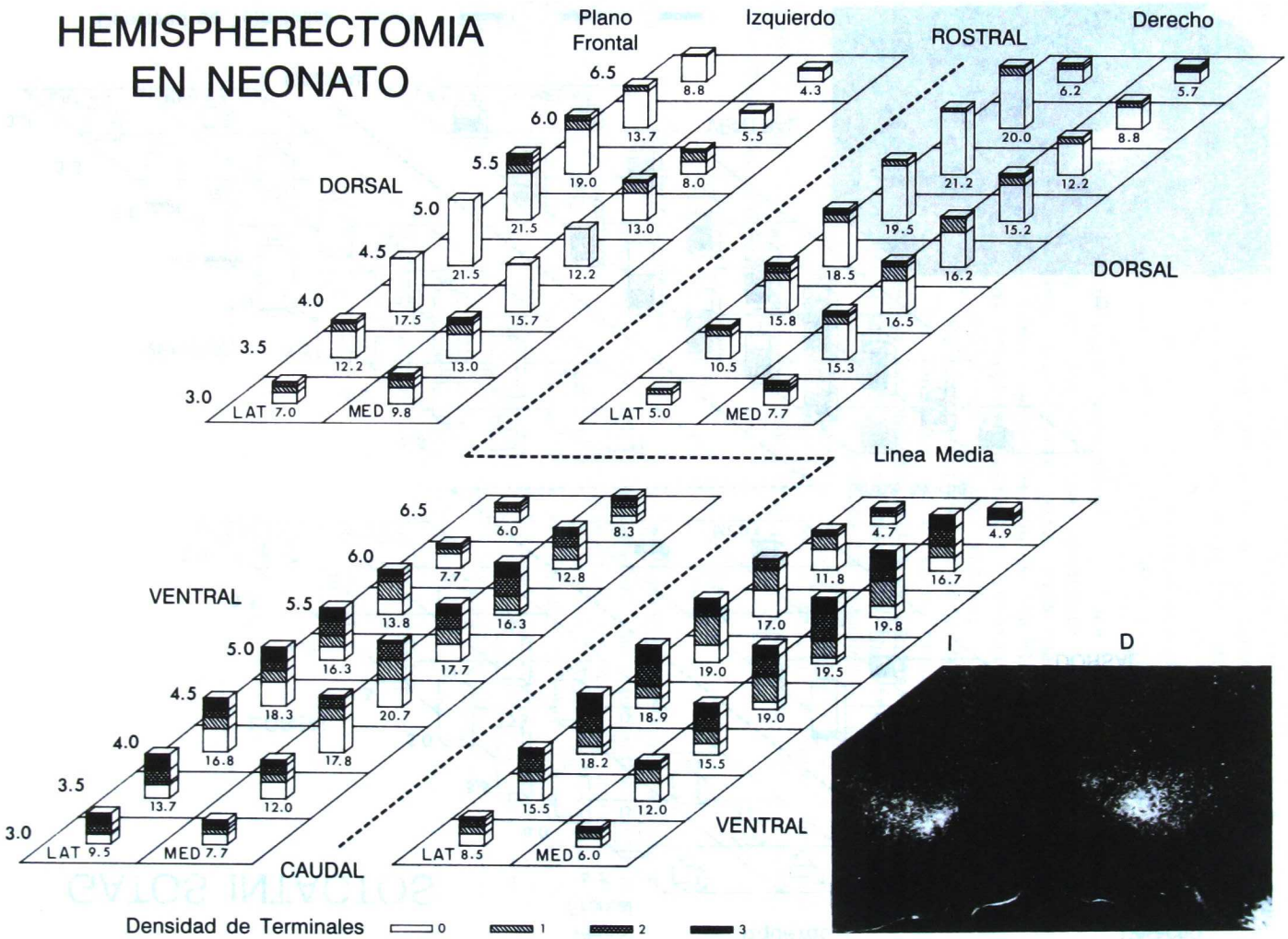

HEMISPHERECTOMIA
EN NEONATO
Plano
Frontal
Izquierdo
ROSTRAL
Derecho
DORSAL
DORSAL
Linea Media
VENTRAL
VENTRAL
CAUDAL
I
D
LAT 7.0
MED 9.8
LAT 5.0
MED 7.7
LAT 9.5
MED 7.7
LAT 8.5
MED 6.0
Densidad de Terminales
0
1
2
3

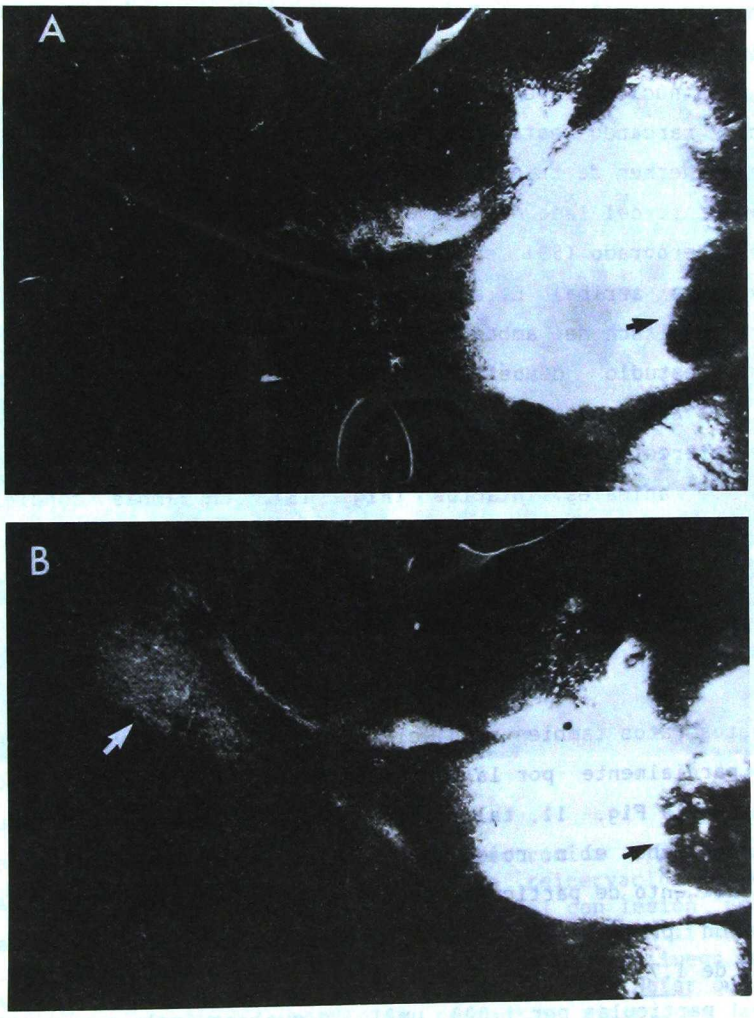
Fig. 13

En cuanto al lugar de origen de la nueva inervación, en todos los niveles encontramos evidencia de que provenía del hemisferio no lesionado. En el tálamo (Fig. 14), observamos partículas marcadas distribuidas en "fila india" (sugiriendo su ubicación intra axónica) que cruzaban la línea media para confundirse, a la izquierda, con las partículas dispersas dentro de los núcleos intralaminares; lo mismo observamos ventralmente, donde a partir del pedúnculo cerebral derecho, hileras de partículas marcadas continuaban hacia la izquierda cruzando la masa intermedia para confundirse, en el tálamo izquierdo, con las partículas distribuidas en los núcleos ventrobasales. Estos dos sitios de cruce de fibras se pueden observar (aunque no claramente) aún con la amplificación baja usada en la Fig. 14. Lo mismo sucedió en las otras áreas. En el n. rojo, por ejemplo, observamos partículas marcadas que aparentemente se originaban en el pedúnculo cerebral derecho, para continuar debajo del n. rojo ipsilateral, cruzar la línea media para llegar, finalmente, al n. rojo del lado opuesto. Otras fibras marcadas parecían originarse en el n. rojo del lado intacto y cruzar la línea media para perderse dentro del n. rojo contralateral. Desde allí, y como lo hemos comunicado (96), numerosas partículas ascendían dorsalmente para terminar en un área justo en frente y ventral al n. del tercer par y correspondiente al núcleo de Darkschewitsch. En los animales intactos, esta última proyección también es básicamente unilateral. La presencia de estas fibras marcadas cruzando desde el lado intacto hacia el lado denervado es importante, no sólo porque sugiere que la nueva inervación proviene del lado no lesionado, sino también porque muestra que los nuevos terminales recorren un trayecto de considerable extensión (hasta unos 15/mm en caso del tálamo y del n. de Darkschewitsch).

Para mayor precisión en cuanto al lugar de origen de las nuevas proyecciones, en algunos animales hemisferectomizados inyectamos peroxidasa ("HRP", método de Mesulam, 59) en el n. rojo ipsilateral a la lesión. Esta sustancia es transportada retrógradamente hacia las neuronas de origen de los axones que terminan en el n. rojo. En estos animales demostramos la presencia de células marcadas en el área 4 de la corteza cerebral del

Fig. 14 - Fotografía (microscopía de fondo obscuro) de secciones histológicas a nivel del tálamo (plano frontal A 10.0) para mostrar terminales y vías córtico-talámicas marcados con aminoácidos radioactivos en gatos adultos con cerebro intacto (A) o con hemisferectomía neonatal (B). En ambas fotografías las fibras marcadas (en color blanco) en el ángulo inferior derecho corresponden a la cápsula interna. En el cerebro del animal intacto prácticamente todas las fibras marcadas se detienen en la línea media (excepto por unas pocas que continúan brevemente hacia el lado izquierdo a nivel del núcleo centralis medialis). En el gato hemisferectomizado, las proyecciones corticales continúan hacia el tálamo izquierdo luego de cruzar la línea media a niveles dorsal y ventral para reinervar el tálamo izquierdo (ver texto). Los axones que cruzan continúan hacia la izquierda también a dos niveles: dorsalmente para terminar en el complejo centralis lateralis-parafascicular (tálamo intralaminar) y ventralmente, en forma difusa, en el complejo ventrobasal. En (A) y (B) la flecha marca, a la derecha, la ubicación del n. ventral posteromedial en donde se ven pocos terminales marcados; sin embargo, en el tálamo reinervado (izquierda flecha), todo el complejo ventrobasal se ve homogéneamente inervado (lo que sugiere que el n. ventral posteromedial recibe reinervación heterotípica: ver texto). (Figura tomada y modificada de Villablanca, J.R., Burgess, J.W. y Sonnier, B.J. The Behavioral Biology of Early Brain Damage. Vol. 2. S. Finger and C.R. Almli (Eds.) New York: Academic Press, 1984. pp. 179-210.)

Fig. 14



hemisferio intacto. Todas éstas eran neuronas piramidales de las capas 5 y 6 de la corteza motora (112).

¿Cuál es la verdadera naturaleza de estos terminales que hasta el momento hemos llamado "nuevos"?: ¿son realmente verdaderos terminales que forman sinapsis normales con las neuronas que llegan a inervar "de novo"?: ¿o son simplemente "brotes" de axones que quedan, por decir así, "flotando" dentro de cada núcleo? Para contestar estas preguntas empleamos microscopía electrónica "marcando" esta vez los terminales con peroxidasa unida a aglutinina de germen de trigo (WGA-HRP 59). Esta sustancia fue inyectada en la corteza motora del lado derecho en animales intactos y HN, para su transporte anterógrado (59), en la misma forma que la mezcla [H3] leucina-prolina (ver más arriba). El análisis fue efectuado en el n. rojo y en el n. de Darkschewitsch de ambos lados (para detalles ver 25, 95, 96). En breve, este estudio demostró que la ultraestructura de las nuevas arborizaciones axónicas terminales en los núcleos parcialmente denervados por la hemisferectomía era idéntica a aquella observada para los mismos terminales de animales intactos (Fig. 15). En ambas condiciones las sinapsis eran asimétricas y consistían, preferentemente, en contactos axodendríticos y en un número reducido de contactos axosomáticos.

Resultados en animales hemisferectomizados en edad adulta

En estos gatos también hubo cierto grado de reinervación de núcleos denervados parcialmente por la hemisferectomía. Sin embargo, como se puede ver examinando la Fig. 11, tal reinervación fue bastante más reducida que en los HN. De hecho, el n. rojo del lado izquierdo fue la única estructura en que el recuento de partículas marcadas indicó valores significativamente más altos (un promedio de 4 partículas por 1.000 um2, para la porción ventral, y de 1,7, para la región dorsal) que en los animales intactos (menos de 1 partículas por 1.000 um2), lo cual equivale a una reinervación de alrededor del 35%. También encontramos un número considerable de partículas marcadas en el n. grácile derecho; sin embargo, debido a la variabilidad entre animales, estos valores no fueron estadísticamente significativos.

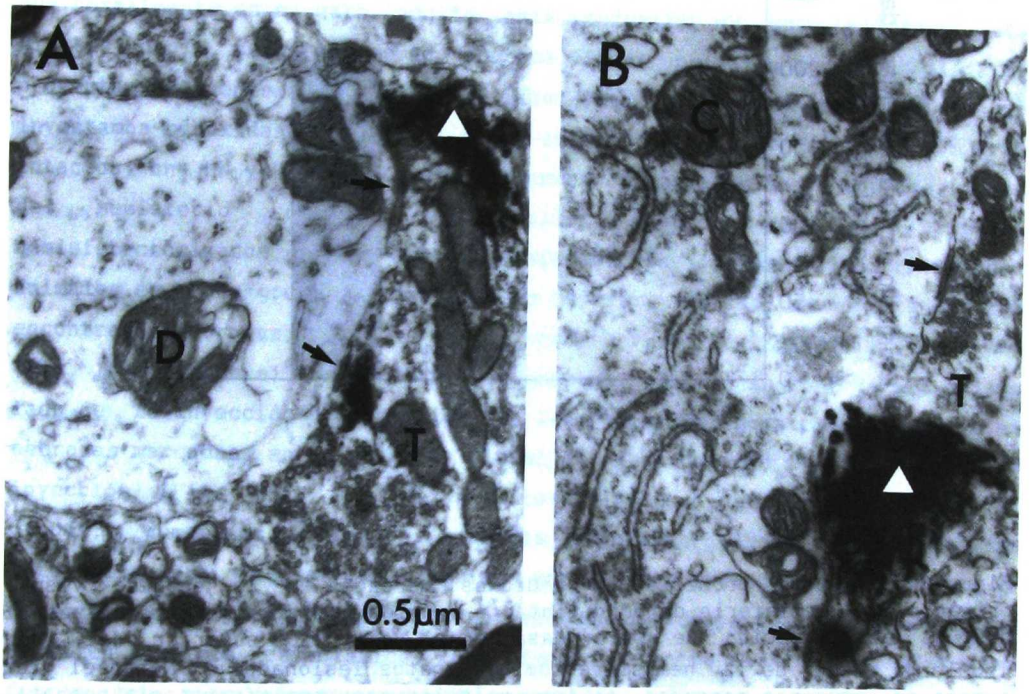


Fig. 15 - Imágenes de microscopía electrónica para mostrar la ultraestructura de los terminales axónicos de reinervación en el núcleo rojo del lado de la hemisferectomía en un animal con lesión neonatal. El origen de estos terminales presinápticos (T) fue identificado por la presencia de peroxidasa en su interior (triángulo blanco) luego de inyectar esta sustancia en la corteza motriz del lado opuesto. Notar que: en (A). estos terminales establecen múltiples contactos sinápticos asimétricos (flechas) con dentritas (D) de células rubrales: en (B). los contactos son con los cuerpos celulares (CC) de neuronas rubrales (identificables por el aspecto típico del retículo endoplasmático).

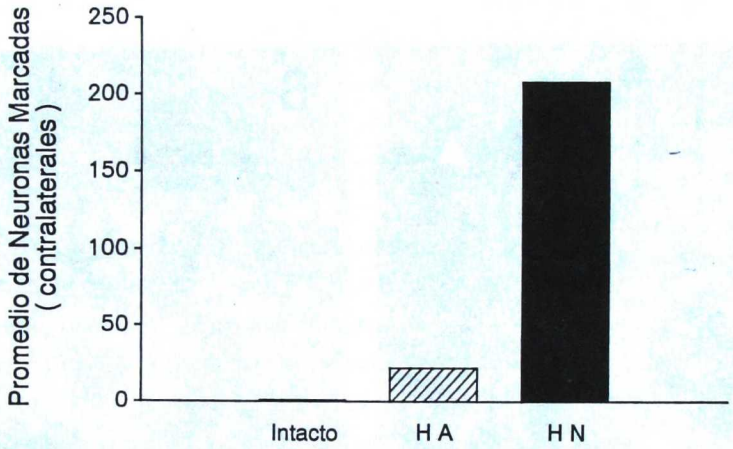


Fig. 16 - Número promedio de neuronas marcadas en la corteza visual primaria del hemisferio derecho (intacto en los gatos hemisferectomizados) después de inyección de peroxidasa en el colículo superior del lado izquierdo (lado de la hemisferectomía en gatos lesionados). Notar el gran número de neuronas marcadas en los animales con hemisferectomía neonatal comparado con la ausencia de neurona marcadas en los gatos controles y con sólo un pequeño incremento en los gatos hemisferectomizados en edad adulta. Esto indica reinervación por neuronas del hemisferio intacto del colículo superior parcialmente denervado por la hemisferectomía en los animales con lesión a temprana edad.

b. Sistema visual

La demostración de mejor visión en los HN que en los HA descrita en la sección anterior, nos hizo sospechar que en la corteza visual de los HN tal vez suceda lo mismo que en la corteza motora de estos animales; esto es, que después de la hemisferectomía, neuronas de la corteza visual del hemisferio intacto inerven bilateralmente el colículo superior. Es sabido que normalmente en el gato adulto, esta inervación es sólo unilateral (40, 91); es decir, neuronas de la corteza visual primaria de un hemisferio proyectan solamente al CS del mismo lado. Para probar esta hipótesis inyectamos peroxidasa en el colículo superior izquierdo en gatos adultos intactos, en HN y HA y contamos las neuronas marcadas en la corteza visual del hemisferio derecho (el único intacto) en los animales hemisferectomizados, y en ambos hemisferios en los gatos controles (dos animales en cada grupo). Como era de esperar, en los gatos intactos no encontramos neuronas marcadas en la corteza visual del hemisferio derecho (Fig. 16), aunque sí, abundantes neuronas marcadas en la corteza del mismo lado de la inyección. En cambio, en los gatos HN encontramos abundantes neuronas marcadas en la corteza visual del lado derecho (opuesto al de la inyección) (Fig. 16). Además, en estos animales, pero no en los otros grupos, numerosas fibras marcadas cruzaban ahora la comisura intercolicular. En los HA, también encontramos neuronas marcadas en la corteza opuesta pero en muy escaso número. Aunque dos animales por grupo no permiten análisis estadístico, las diferencias entre los HN y los intactos fueron tan marcadas que parece razonable concluir que la proyección corticotectal se hace bilateral en los gatos con hemisferectomía neonatal.

c. Vía cerebelo talámica

En otra serie de experimentos, que no describiremos aquí pero que han sido expuestos detalladamente en las refs. 70 y 105, estudiamos las proyecciones de los núcleos cerebelosos al n. rojo y tálamo.

Demostramos lo siguiente:

- En los HA, las proyecciones del núcleo interpósito derecho, que en animales intactos terminan sólo en regiones ventrales del n. rojo del lado izquierdo, se expandieron para ocupar también las áreas dorsales de dicho n. rojo (70). Sin embargo, estas proyecciones no se hicieron bilaterales después de hemisferectomía cerebral (112) (aunque sí después de hemicerebelectomía, al menos en la rata, 34).

- Las proyecciones de este mismo núcleo cerebeloso al tálamo contralateral, no sólo persistieron, sino que aumentaron a pesar de la intensa degeneración que ocurre en esos núcleos talámicos (58).

2. Procesos de degeneración

Es sabido que después de una lesión cerebral localizada, sea ésta extensa o pequeña, ocurren cambios anatómicos degenerativos en sitios no directamente dañados por el agente etiológico primario. Dos son los mecanismos más importantes de estos efectos a distancia: a) degeneración de axones de proyección pertenecientes a neuronas destruidas por la lesión, o degeneración anterógrada; b) degeneración de axones destruidos directamente por la lesión pero que se originan en neuronas situadas en áreas no directamente dañadas; generalmente en estos casos la neurona de origen degenera total o parcialmente y este proceso constituye la degeneración retrógada directa. Dependiendo de la magnitud de dicha degeneración, los axones que hacen sinapsis con las neuronas que mueren pueden a su vez degenerar indirectamente constituyendo la degeneración retrógrada transináptica. En vista que gran número de neuronas talámicas proyectan directamente a la corteza cerebral eliminada por nuestra lesión, numerosos núcleos talámicos muestran, como es bien sabido (9, 55), considerable degeneración retrógada post hemisferectomía. Así mismo, otras áreas subcorticales que proyectan al tálamo, como por ejemplo los cuerpos mamilares, sufren indirectamente degeneración retróqada transináptica. En nuestros estudios hemos examinado ambos tipos de degeneración retrógrada.

Las áreas estudiadas fueron las siguientes: tálamo (núcleos ventrobasales), geniculados lateral y medial, colículo superior y cuerpos

mamilares (estos dos últimos núcleos fueron usados para los estudios de degeneración transináptica). El estudio de tantas áreas pudiese parecer redundante; sin embargo, adoptamos esta estrategia en vista que nuestros resultados iniciales fueron diferentes a los comunicados en la mayor parte de los trabajos hechos en roedores (ver Discusión) y, por lo tanto, era necesario que tuviésemos absoluta certeza en cuanto a los resultados.

Métodos

Histología y análisis morfométrico. Usamos cortes cerebrales frontales teñidos con tionina y de 50 µm de espesor. Las mediciones fueron hechas con un sistema de ordenador descrito en 41, 88, 103. En cada núcleo medimos el área total del núcleo en 2 o más planos frontales (amplificación X6) y expresamos los valores promedios en mm2. Luego, usando mayor amplificación microscópica, dibujamos todas las células (neuronas y glía) contenidas en un área constante de 100,5 x 140 µm con la condición, para las neuronas, que aparecieran normales y poseyeran nucleolo (103). Estas áreas fueran coqidas de sitios de muestreo de posición constante para cada estructura examinada. Después de contar las células, medimos el área del cuerpo celular (a nivel del nucleolo) y expresamos los valores promedios en µm2. En esta forma fue posible distribuir las células en varias categorías de tamaños (ver Resultados) - Las células más pequeñas - de tamaño inferior a 50 o 30 µm2 - fueron consideradas glía (aunque admitimos que este grupo pudiese haber incluido algunas neuronas pequeñas). Las medidas fueron hechas en los dos lados del cerebro en vista que, desde el comienzo, nos dimos cuenta que los efectos eran bilaterales. Por la misma razón, las principales comparaciones fueron hechas entre un lado de los cerebros lesionados y el mismo lado de cerebros intactos (y además, por supuesto, entre los valores de los HN y HA.

Resultados

En estos estudios hemos analizado un total de cerca de 65.000 células y hemos comunicado los resultados en 4 trabajos (41, 88, 103, 108). Para abreviar, y en vista que los resultados han sido muy similares en todas las

estructuras estudiadas, resumiremos nuestros resultados en el tálamo y en el colículo superior, como ejemplos de degeneración retrógada directa y transináptica respectivamente. Sin embargo, un resumen de los resultados en todas las áreas analizadas aparece en las Figs. 17 y 18. En estas Figs., las barras muestran porcentajes promedios para áreas de estructuras, número de neuronas y número de células gliales en relación con los valores para el mismo lado del cerebro en animales intactos (a todos los cuales se les otorgó el valor de 100%). Las significancias estadísticas son aproximadas en vista que los porcentajes representan valores agrupados de mediciones en varios sitios en cada estructura (para los valores absolutos, ver nuestras publicaciones detalladas).

a. Degeneración retrógrada directa: tálamo

En los HA el área del hemitálamo ipsilateral a la hemisferectomía midió considerablemente menos (un promedio de 60.3%, $P < 0.01$ que la misma área en animales controles en ambos planos frontales analizados (A 7.5 and 8.5). En los HN también hubo atrofia pero ésta fue significativamente menor (un promedio de 47.8%) que en los HA ($P < 0.01$).

Los estudios citológicos fueron hechos en los núcleos ventrobasales. En estos núcleos concomitantemente con la atrofia hubo una pérdida considerable de neuronas de tamaño superior a 100 μm2 en ambos grupos hemisferectomizados; sin embargo, aunque esta pérdida fue de 80.7% en los HA, en los HN fue de sólo de 52% ($P < 0.05$) (Fig. 19). No hubo cambios significativos en el número de las neuronas de tamaño intermedio-pequeño (30 a 100 μm2) en ninguno de los animales hemisferectomizados. La población glial de los HA, pero no de los HN, aumentó significativamente hasta casi doblar (aumento a 186%) el promedio en los animales controles.

Estos cambios numéricos fueron acompañados por desplazamientos en el tamaño de los cuerpos celulares (Fig. 20). En los HA todas las categorías celulares disminuyeron significativamente de tamaño y tal reducción fue máxima para las neuronas grandes (34.8%) y para la glía (39.2%). En los HN también hubo reducción significativa de estos valores (de 21.5% para las

Fig. 17 - El esquema superior representa la atrofia y degeneración en los núcleos ventrobasales del tálamo (VThn), cuerpo geniculado lateral dorsal (LGd) y cuerpos mamilares (Mmb) en el hemitálamo del mismo lado de la lesión (izquierdo) en gatos con hemisferectomía en edad adulta. El dibujo inferior representa degeneración y atrofia en el cuerpo geniculado medial (MGn) y colículo superior (Scoll). Los esquemas también muestran los cambios en las mismas estructuras del hemisferio intacto (a la derecha). Las barras muestran porcentajes promedios para áreas de estructuras, número de neuronas y número de células gliales en relación con los valores para el mismo lado del cerebro de animales intactos (a todos estos últimos valores se les otorgó el valor de 100%). Las significancias estadísticas representan diferencias entre los gatos hemisferectomizados y los controles (asteriscos) y entre los animales hemisferectomizados en edad adulta o neonatal (triángulos); estos porcentajes representan valores agrupados de mediciones en varios sitios en cada estructura (para los valores absolutos, ver nuestras publicaciones detalladas). Notar: (a) para los núcleos que sufren degeneración retrógrada directa (tálamo, geniculado lateral y geniculado medial), la marcada reducción en el área de los núcleos (atrofia) y la extensa pérdida neuronal en contraste con marcado incremento en el número de células gliales (gliosis); (b) que también hay claros cambios en el hemisferio no lesionado (ver texto).

Fig. 18 - Es similar a la Fig. 17 pero para gatos con hemisferectomía neonatal. Notar la considerable menor atrofia y pérdida neuronal con ausencia de o menor gliosis en el hemitálamo ipsilateral a la lesión (y en comparación con los animales hemisferectomizados en edad adulta). Los cambios en el hemisferio intacto son también menos marcados que en estos últimos animales. Los asteriscos indican diferencias significativas respecto a los gatos normales. Las abreviaciones son las mismas que para la Fig. 17.

Fig. 17
HEMISFERECTOMÍA EN ADULTO

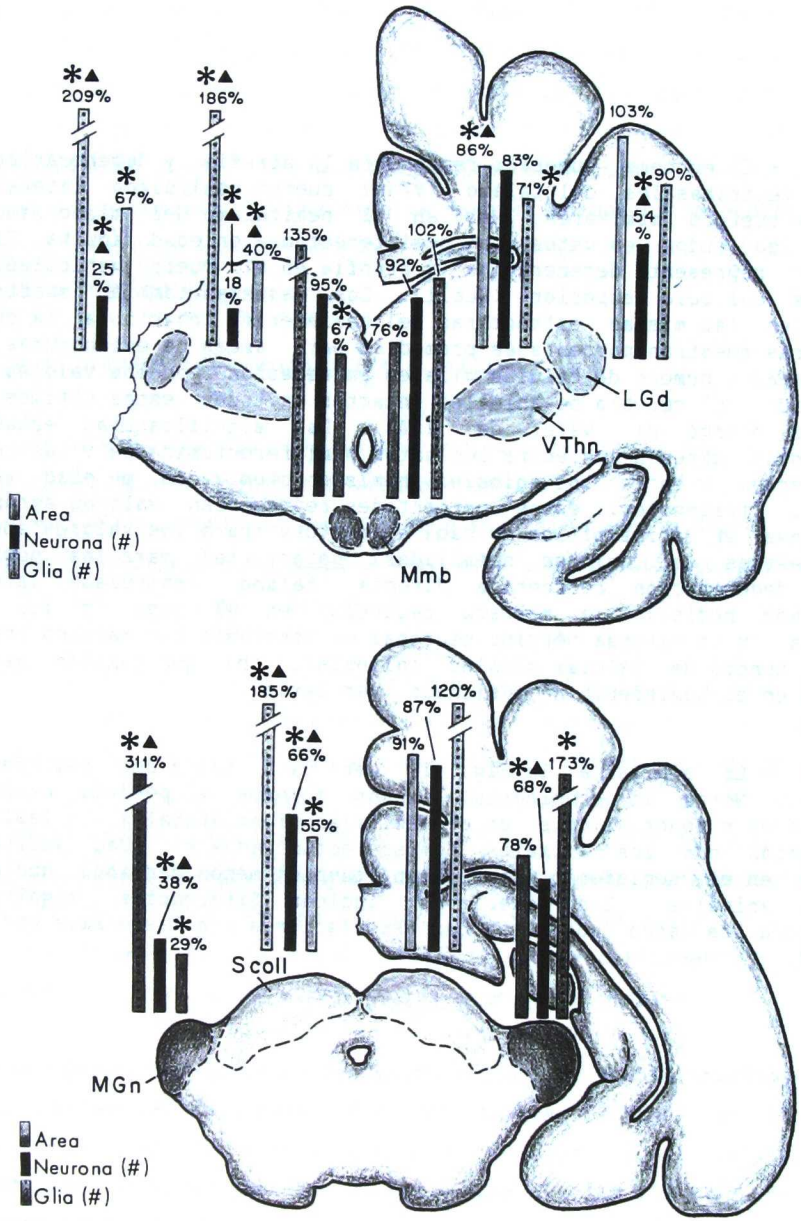
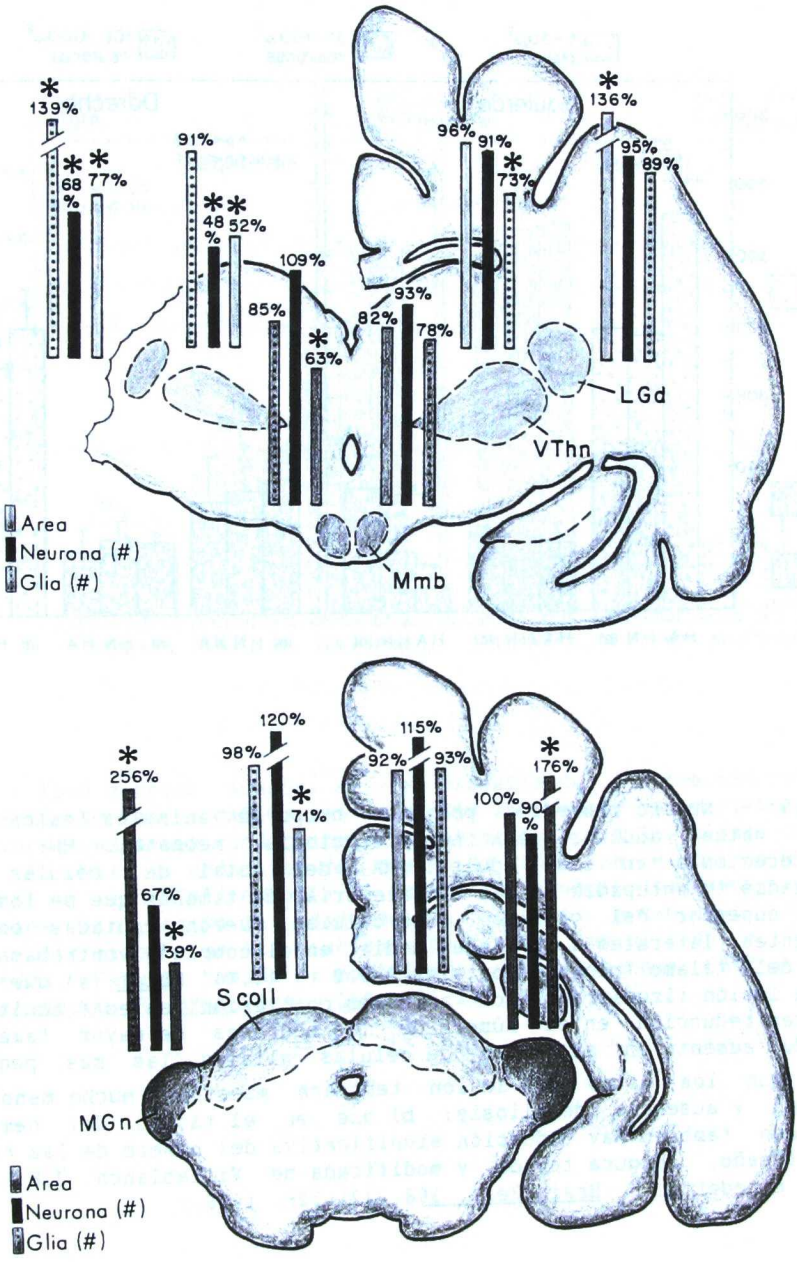


Fig. 18
HEMISFERECTOMÍA EN NEONATO



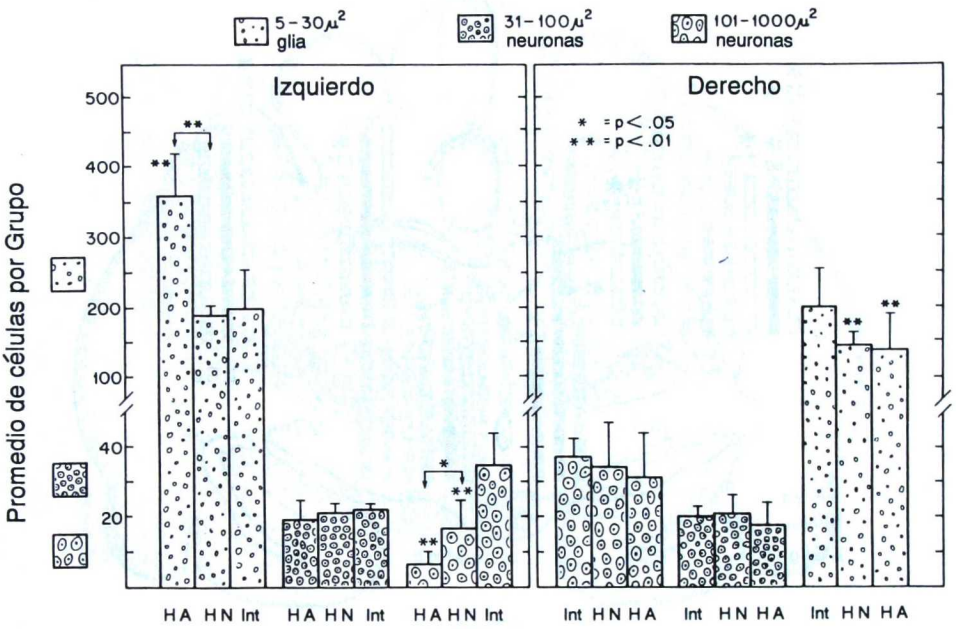


Fig. 19 - Número promedio, por cada grupo de animales (gatos intactos. Int.; gatos adultos con hemisferectomía neonatal. HN: gatos con hemisferectomía en edad adulta. HA) del total de células talámicas estudiadas (y agrupadas en las 3 categorías de tamaños que se indican en la parte superior del gráfico). Las células fueron contadas en 3 sitios diferentes laterales a la línea media, en el complejo ventrobasal de ambos lados del tálamo (planos frontales A 8.0 y 10.0). Notar: a) que en el lado de la lesión (izquierdo), los animales con lesión en edad adulta muestran una gran reducción en el número de las neuronas de mayor tamaño con un marcado aumento en el número de células gliales (las más pequeñas), en tanto que los gatos con lesión temprana muestran mucho menor pérdida neuronal y ausencia de gliosis: b) que en el tálamo del hemisferio no lesionado también hay reducción significativa del número de las neuronas de mayor tamaño. (Figura tomada y modificada de Villablanca, J.R., Burgess, J.W. y Benedetti, F. Brain Res., 368: 221-225. 1986.)

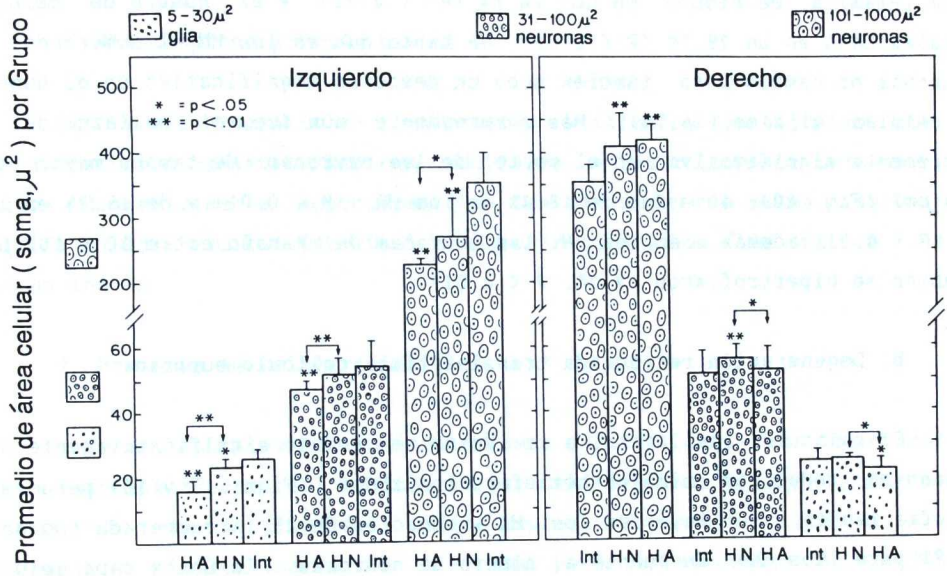


Fig. 20 - Este gráfico muestra el área promedio de los cuerpos celulares. para cada una de las 3 categorías de tamaño indicadas en la parte superior de la figura. Las demás condiciones y abreviaciones son las mismas que para la Fig. 19. Notar la reducción del tamaño de todas las células en el tálamo ipsilateral a la hemisferectomía la cual fue significativamente mayor en los animales con lesión en edad adulta. Notar el aumento de tamaño celular. especialmente de las neuronas más grandes. en el lado no lesionado del cerebro. (Figura tomada y modificada de Villablanca. J.R., Burgess, J.W. y Benedetti. F. Brain Res., 368: 221-225. 1986.)

neuronas de más de 100 um2 y de 10.3% para los elementos gliales) pero ésta, de nuevo, fue significativamente menor que en los HA.

De gran interés a la vez que sorprendente, fue el hecho que también encontramos cambios en el tálamo del hemisferio no dañado. En los HA el área talámica se redujo en un 14.1% ($P < 0.01$) y el número de células gliales bajó en un 29.2% ($P < 0.01$), en tanto que en los HN el número de neuronas no cambió pero también hubo un descenso significativo en el número de células gliales (26.7%). Más sorprendente aún fue el hallazgo de un incremento significativo en el porte de las neuronas de tamaño mayor que 100 μm2 (Fig. 20); éste fue de 18.4% en los HA ($P < 0.01$) y de 15.2% en los HN ($P < 0.01$; además, en los HN, las neuronas de tamaño entre 30 y 100 μm2 también se hipertrofiaron (9.2%, $P < 0.01$).

b. **Degeneración retrógrada transináptica: colículo superior**

El colículo ipsilateral a la lesión se redujo significativamente de tamaño en todos los animales hemisferectomizados (Figs. 17 y 18) pero esta atrofia tendió a ser mayor en los HA (reducción de 45.1% comparada con sólo 28,7% para los HN). En cuanto al número de neuronas, la única capa celular que experimentó una pérdida significativa fue la capa intermedia en los HA. Sin embargo, en todos los gatos hemisferectomizados hubo una tendencia a reducción de tamaño de las neuronas más grandes en todas las capas celulares, aunque sólo en los HA las células mayores de 400 μm2 prácticamente desaparecieron. El número de células gliales no cambió en los HN pero en los HA hubo un incremento considerable de estas células en las 3 capas del CS (91,2%, 72,2% y 52,7% para las capas superficial, intermedia y profunda respectivamente).

En el lado opuesto a la lesión, hubo una tendencia a reducción de tamaño del colículo y del tamaño de las neuronas más grandes en ambos grupos de animales hemisferectomizados con una tendencia a gliosis en los HA, sin embargo ninguno de estos cambios fue estadísticamente significativo.

En resumen, los cambios degenerativos transinápticos en el CS fueron similares aunque de menor magnitud que los cambios de naturaleza retrógrada directa observados en los núcleos talámicos.

C. Resumen de resultados

1. Neurológicos y conductuales

En la gran mayoría de las pruebas utilizadas los animales con la hemisferectomía neonatal muestran resultados estadísticamente mejores y, a menudo, dramáticamente superiores que los gatos con la misma lesión pero sufrida en edad adulta. Esto indica mayor recuperación funcional en los HN que en los HA.

2. Procesos de reinervación

- En los animales con hemisferectomía neonatal las vías descendentes de la corteza motora del hemisferio intacto terminan bilateralmente en el tálamo, n. rojo, n. gracile y médula espinal cervical. En los HA hay una tendencia a similar inervación bilateral pero ésta alcanza significancia estadística sólo en el n. rojo. En los gatos adultos intactos la inervación es virtualmente sólo unilateral.

- Los terminales "nuevos" hacen contactos sinápticos con las neuronas en donde terminan y las especializaciones sinápticas de los axones terminales son idénticas a las de los gatos normales.

- Los "nuevos" terminales se originan, en su mayor parte, de fibras provenientes del hemisferio intacto que cruzan la línea media (tálamo, n. rojo), permanecen en el mismo lado (n. gracile), o recruzan la línea media (médula espinal). Algunas de estas fibras atraviesan distancias de más de 10 mm para llegar a sus nuevas metas.

- En todos los núcleos examinados la distribución topográfica de los terminales nuevos fue en todo semejante a la observada en animales intactos

(excepto en porciones de los núcleos talámico ventrales en que observamos distribución heterotípica).

- Resultados preliminares en el sistema visual demuestran que neuronas de la corteza visual del hemisferio intacto inervan bilateralmente el colículo superior en los HN, en tanto que tal inervación es estrictamente unilateral en los gatos intactos con sólo una tendencia a bilateralidad en los HA.

- Otra indicación de plasticidad en estos animales (lado de la hemisferectomía) fue la expansión hacia áreas dorsales del n. rojo de los terminales cerebelo-rubrales, que normalmente sólo inervan áreas ventrales, y la persistencia e incremento de terminales cerebelo-talámicos en áreas degeneradas del tálamo.

3. Procesos degenerativos.

- En gatos, la hemisferectomía cerebral produce atrofia tisular y muerte neuronal subcorticales que son más pronunciadas en los animales con lesión en edad adulta que en gatos con hemisferectomía neonatal.

- Los efectos consisten en degeneración retrógrada directa y transináptica que se expresan en reducción de tamaño de núcleos subcorticales, descenso en el número de neuronas por unidad de área y reducción del tamaño del cuerpo celular de la neuronas que sobreviven. El número de elementos gliales aumenta en los HA y o no cambia, o disminuye, en los HN.

- Estos efectos son bilaterales aunque considerablemente más marcados ipsilateralmente. En el lado opuesto a la lesión la tendencia de las células gliales es a un descenso numérico. En algunas áreas, hay hipertrofia neuronal.

- Estos hallazgos no concuerdan con el "Efecto Gudden" (34) que establece que la degeneración post lesional es mayor en animales recién nacidos que en adultos con la misma lesión.

IV. DISCUSION

Nuestros resultados permiten concluir que, a consecuencia de una lesión neonatal cerebral extensa, el cerebro del gato experimenta una dramática reorganización anatómica que incluye todos sus niveles. Esta reorganización consiste en fenómenos "regenerativos", como crecimiento y redistribución de axones terminales de reinervación e hipertrofia neuronal, y también fenómenos degenerativos, incluyendo pérdida de neuronas acompañada de reducción del tamaño de las neuronas sobrevivientes y cambios en la glía. En los animales adultos con la misma lesión, los fenómenos regenerativos son de mucha menor magnitud y, por el contrario, los fenómenos degenerativos son más pronunciados.

En ambos grupos de animales lesionados la recuperación funcional es estrictamente paralela a los fenómenos anatómicos y es también proporcional a la magnitud de los mismos. En otras palabras, en los HN la mayor reinervación de núcleos parcialmente denervados y la menor degeneración neural coexisten con una mayor recuperación funcional, en tanto que lo inverso ocurre en los HA. Esta correlación estricta entre los fenómenos anatómicos y los funcionales es la mejor evidencia para proponer que, en nuestro modelo, hay una relación causa-efecto entre la recuperación conductual-neurológica y los cambios anatómicos demostrados.

La breve discusión que sigue tiene como principales objetivos: (A) ubicar nuestros hallazgos dentro del contexto de la literatura científica pertinente; (B) entender el por qué de las diferencias determinadas por el factor edad en el momento de la lesión; y (C) discutir el significado de los resultados incluyendo sus implicaciones para el futuro.

El conjunto de nuestros resultados representa, en tanto cuanto nos hemos podido asegurar revisando las publicaciones existentes, la descripción más completa y extensa de reorganización post lesional del

sistema nervioso en mamíferos. Sin embargo, otros laboratorios han comunicado resultados fragmentarios que se relacionan, a veces estrechamente, con los nuestros. Proporcionaremos breves ejemplos y comentarios sobre estos resultados, aunque separadamente para procesos de reinervación y de degeneración y limitándonos solo al sistema motor (u, ocasionalmente, incluyendo sistemas sensoriales).

A. Nuestros resultados y la literatura científica

1. Procesos de reinervación

Tanto en el gato (61, 99) como en roedores (45, 64, 67, 75), se ha demostrado que a continuación de ablación neonatal restringida a la corteza motora de un hemisferio, terminales sinápticos de axones originados en la corteza contralateral indemne, reinervan el n. rojo (64, 99) y el tálamo (75) del lado de la lesión, o la médula espinal del lado opuesto (86), tal como en nuestra exclusiva demostración para todas estas áreas (más el n. gracile) conjuntamente en una misma especie animal (aquellos resultados fueron publicados dentro del mismo período que los nuestros). En los casos en que se ha examinado el factor edad (49), también se ha encontrado que esta reinervación no ocurre, u ocurre de manera limitada en el animal adulto. En nuestros trabajos, y en algunos de los otros citados, ha habido tres puntos importantes de discusión: a) cuál es la modalidad de origen axónico de los nuevos terminales: b) hasta qué punto son estos terminales normales: c) tienen ellos un papel funcional.

Respecto al punto (a), se han sugerido tres hipótesis relativas a los terminales nuevos (16, 93):') se originan de axones que normalmente llegan sólo a estructuras de un lado y que, a consecuencias de la lesión, o se desprenden de ese lado para trasladarse al otro o desarrollan "brotes" que después de crecer por cierta distancia, llega finalmente a su nueva meta (esta manera de reinervación se ha llamado "brotes colaterales"):") se originan dentro de la misma estructura reinervada gracias a proliferación "in situ" de terminales existentes en esa estructura antes de la lesión y a cualquiera que sea la edad del animal (o "sinaptogénesis reactiva"):"') o

los terminales nuevos estaban presentes allí antes de la lesión y habrían desaparecido durante la maduración normal del cerebro pero fueron "mantenidos" debido a la lesión misma; la base para esta hipótesis es que en algunos casos (42, 47, 61) se ha demostrado que en animales recién nacidos existe inervación bilateral de núcleos subcorticales (llamada "inervación exhuberante") la cual más tarde desaparece o disminuye marcadamente [la hipótesis en (") requiere la persistencia de al menos algunos de estos terminales].

Nuestros resultados, apoyados por otras publicaciones, sugieren que el principal mecanismo en nuestros HN es reinervación por brotes colaterales con una contribución modesta de sinaptogénesis reactiva. Las razones son:

- En nuestro material no queda duda, ya que son claramente visibles, que en los HN, numerosas fibras marcadas cruzan la línea media para dirigirse al lado parcialmente denervado a nivel del tálamo, núcleos rojo-Darkschewitsch y médula espinal; estas fibras no existen (o son mínimas) en los animales intactos.

- Hemos observado (ver. 25) que, en gatitos de la edad en que practicamos la hemisferectomía, no existe inervación exhuberante del n. rojo en el lado de la lesión; estos resultados han sido confirmados por otros investigadores (47, 61) y en conjunto sugieren que la proyección córtico-rubral contralateral en el gatito recién nacido no es superior a un 10% de la proyección ipsilateral.

- Además del n. rojo, en todos los niveles examinados en nuestros animales intactos encontramos sólo una pequeña proyección en el lado de la inervación "no dominante"; es posible que estos terminales proliferen "in situ" luego de la lesión y que esto pueda explicar parte de la reinervación demostrada; sin embargo, parece difícil que esta sinaptogénesis reactiva pueda ser la principal explicación de la abundante reinervación que hemos demostrado para la vía descendente motora (sin embargo, este mecanismo es seguramente el más importante en la expansión de los terminales cerebelorubrales que también demostramos; 70).

- En el único caso de inervación heterotípica (aunque parcial) que encontramos en nuestros animales (n. ventral posteromedial del tálamo), el único mecanismo posible de reinervación es por brotes colaterales, ya que ni en los animales intactos ni en el lado derecho de los hemisferectomizados existen terminales de la corteza motora en este núcleo (30).

El aspecto recién discutido es importante ya que si el mecanismo principal de reinervación es, como acabamos de argumentar, por crecimiento axónico desde el lado intacto del cerebro, esto significa que las fibras de reinervación tienen que recorrer largos trayectos para llegar a su nueva meta. Este proceso implica un mecanismo de guía que oriente a los nuevos terminales hacia su novel destino. Tal mecanismo de guía es probablemente humoral (19, 36, 68) y el descubrimiento de la composición química de la sustancia hipotética implicada (54) podría ser importante en los esfuerzos por encontrar medios de estimular los procesos reparativos (en vista, especialmente, que tal potencial existe, aunque disminuido, en los animales adultos).

En cuanto al punto (b), esto es, a cuán normales son los terminales de reinervación, en este trabajo hemos demostrado por primera vez cuantitativamente la completa normalidad de su distribución topográfica. Demostramos además, a nivel de ultraestructura, la normalidad de los nuevos contactos sinápticos (observación que ha sido repetida en ratas para nuevas conexiones corticorubrales, 67). En cuanto al papel funcional de las nuevas conexiones (punto C), continuaremos la discusión en la sección C (bajo Procesos Degenerativos).

2. Procesos de degeneración.

Nuestra conclusión más importante en este aspecto de los estudios, esto es, que los efectos degenerativos del daño cerebral son menos marcados cuando la lesión ocurre en el recién nacido que cuando tiene lugar en edad

adulta, está en aparente contradicción con los estudios de Gudden (36) y de Nissl (ver 4). Estos autores fueron los primeros en proponer el concepto justamente opuesto, es decir, que la degeneración retrógrada, directa y transináptica, es más acentuada si el daño cerebral ocurre cerca del nacimiento; lo que también se ha llamado "Efecto Gudden" (5, 33, 50). Trabajos posteriores han confirmado estos antiguos resultados pero, prácticamente todos, han sido obtenidos en roedores (4, 13, 31, 52, 74, 83) y, con escasas excepciones, han sido sólo cualitativos.

En gatos, numerosos investigadores han estudiando el efecto de la edad sobre la degeneración retrógrada en el cerebro rostral pero sólo en el sistema visual (15, 44, 56, 60, 63). Los resultados de estos trabajos apoyan nuestra conclusión de que el "Efecto Gudden" no se aplica a lesiones del cerebro en esta especie animal.

Parece, por lo tanto, haber una discrepancia entre diferentes especies animales de manera tal que, para los roedores, la degeneración neural es mayor si la lesión ocurre cerca del nacimiento mientras que para los felinos sucede justamente lo inverso. Más adelante veremos que ésta no es una diferencia fundamental y depende más bien del diferente estado de maduración cerebral en diferentes especies animales cuando las comparaciones se hacen con referencia al día del nacimiento.

3. Efectos en el hemisferio no lesionado.

Otro resultado importante y original de nuestros estudios, fue el hallazgo de efectos en el hemisferio no dañado directamente por la hemisferectomía. Hubo principalmente dos: a) pérdida y atrofia de neuronas en todas las estructuras estudiadas; b) hipertrofia de las neuronas más grandes que alcanzó significancia estadística en los núcleos talámicos ventrobasales y en el geniculado lateral. Ninguno de estos efectos ha sido comunicado en estudios previos de degeneración retrógrada en sujetos con lesión cerebral unilateral (ver, por ejemplo, 9, 55) ya que, simplemente, se ha dado por sentado que el lado no lesionado del cerebro debería ser anatómicamente normal. Analizaremos los dos efectos por separado y sólo

para las tres áreas con degeneración retrógrada directa (n. ventrobasal del tálamo, núcleos geniculado lateral y medial).

a. Degeneración y atrofia. Ninguno de los 3 núcleos implicados posee proyecciones conocidas contralaterales, esto es a la corteza del hemisferio eliminado, que pudieran ser responsables de degeneración retrógrada directa. Por lo tanto, la degeneración en dichos núcleos debe ser de naturaleza transináptica.

En el caso del complejo ventrobasal talámico, se han descrito proyecciones recíprocas, entre los núcleos de ambos lados, (22, 55) que aunque escasas, podrían ser responsables de que la pérdida neuronal en el lado de la hemisferectomía repercutiese, mediante generación retrógrada transináptica, en los núcleos homónimos del lado derecho. En el caso del geniculado lateral, una posibilidad es a través de la retina. Se ha comunicado que hay degeneración bilateral de células ganglionares de la retina luego de ablación unilateral de la corteza visual (8, 44). Se sabe, además, que algunas de estas neuronas proyectan bilateralmente al geniculado lateral (14, 93) lo cual explicaría que su degeneración (o atrofia) afectara también al geniculado del lado derecho.

Una posibilidad común para los 3 núcleos es a través del cuerpo calloso. Es sabido que la corteza cerebral somatosensorial, auditiva y visual (primaria y/o asociativa) de un lado, proyectan hacia áreas corticales homólogas del lado opuesto a través del cuerpo calloso. Por lo tanto, debido a la hemisferectomía izquierda, neuronas de proyección de la corteza derecha deben sufrir degeneración o atrofia retrógrada directa (debido a la interrupción de sus axones a nivel del c. calloso). Dicha degeneración, a su vez, depriva de neuronas terminales, o de aferencias, a estructuras subcorticales interconectadas con esas áreas de la corteza, con lo cual éstas pueden sufrir efecto degenerativo (que, por supuesto, es transináptico).

A pesar de estas explicaciones hipotéticas, nuestra impresión en vista que en el los gatos HA la degeneración contralateral fue tan

pronunciada, es que otros factores importantes pero aún desconocidos tal vez contribuyen a ella.

b. Hipertrofia neuronal. El hallazgo de hipertrofia de neuronas contralaterales a la hemisferectomía en nuestros estudios de degeneración fue extraordinariamente interesante pero no inesperado. Interesante, porque degeneración evoca atrofia o hipotrofia pero no aumento del tamaño neuronal. No inesperado, porque sólo ocurrió en el hemisferio no lesionado y en consideración de los posibles mecanismos que pueden explicarla. En este sentido, existe información que indica que el tamaño de los cuerpos neuronales está relacionado con la extensión y/o funcionalidad de la inervación aferente o eferente. Por ejemplo, se ha demostrado (28) que células de la corteza entorrinal que reinervan la circunvolución dentada del hipocampo de rata (previamente deaferentada por una lesión), aumentan de tamaño progresivamente en la medida que producen "brotes colaterales" de reinervación. Por esta misma razón, es probable que en nuestros animales con hemisferectomía neonatal exista hipertrofia de las neuronas piramidales de la corteza motora del hemisferio intacto que, como hemos demostrado, reinervan núcleos subcorticales en los animales lesionados (actualmente estamos estudiando si dichas células realmente se hipertrofian). En cuanto a la hipertrofia neuronal que hemos demostrado en los núcleos ventrales talámicos, ésta podría ser la consecuencia de reinervación de neuronas del lado de la hemisferectomía por neuronas talámicas homólogas del lado "intacto".

En cuanto aumento de aferencias como posible mecanismo de hipertrofia neuronal, en estudios electrofisiológicos de neuronas del geniculado lateral que sobreviven a decorticación visual, se ha demostrado (62) que éstas exhiben campos receptivos extraordinariamente grandes, lo que sugiere que axones provenientes de la retina convergen sobre neuronas del geniculado en números mucho mayores que los normales. La interpretación de los autores es que, en vista de la pérdida por degeneración retrógrada de muchas células del geniculado, los mismos axones retinianos ahora convergen en un número menor de neuronas lo cual resulta en hiperinervación. Sería tal hiperinervación la que permite que estas neuronas subsistan e incluso

aumenten de tamaño (para acomodar el mayor número de sinapsis). Del mismo modo, en nuestros animales, las aferencias no destruidas por la lesión pueden haber hiperinervado, por convergencia, algunas neuronas del tálamo y geniculado lateral determinando la hipertrofia de las mismas (por ejemplo, provenientes de los núcleos gracile - cuneatus para el complejo ventrobasal, o del colículo superior, para el geniculado lateral).

B. <u>El factor edad en el momento de la lesión</u>.

El presente trabajo y el conjunto de la literatura (ver. 102, 104, 109) demuestran categóricamente que la edad del ser humano o del animal experimental en el momento de sufrir daño cerebral es un factor de gran importancia en determinar las consecuencias finales de la lesión. Para los procesos "regenerativos" es también claro que, al menos después del nacimiento, estos son tanto más vigorosos cuanto más joven es el individuo (16, 24, 92, 102). No existe suficiente información para afirmar lo mismo en relación con daño cerebral prenatal (27, 87).

1. Procesos regenerativos

Para explicar el por qué estos procesos son más activos en el recién nacido y o no existen o son mínimos en el ser adulto, se ha propuesto como principal hipótesis, que los axones de neuronas jóvenes tienen, simplemente, más potencial, que los de neuronas adultas sea para crecer de nuevo luego de ser seccionados (44, 78), sea para reaccionar mediante brotes colaterales o sinaptogénesis local (ver. 73, 92, 102). Aún no hay explicación para esta diferencia.

Es posible proponer otros factores que, hipotéticamente, pueden contribuir a una mejor expresión del potencial de crecimiento en el recién nacido:

a. La ausencia o reducida magnitud de la proliferación astrocítica postlesional en el recién nacido comparado con el animal adulto. Este ha sido un hallazgo muy claro en nuestros resultados y es apoyado por

publicaciones, aunque escasas (3, 94, 98) de experimentos en roedores. En vista que es sabido que la gliosis cicatricial puede servir de barrera al crecimiento axónico (21, 53, 77, 78, 79), es lógico proponer que la intensa proliferación glial que hemos demostrado en el animal adulto podría impedir cualquier potencial residual de crecimiento en tanto que, su ausencia, en el recién nacido favorecería la reinervación. Si esta hipótesis fuese verídica, todo agente capaz de inhibir la proliferación glial podría favorecer la reparación neural.

b. Factores humorales. Investigaciones recientes indican que en el cerebro joven existe abundancia de factores neurotróficos cuya concentración declina en edad adulta (84, 114). Además, estudios in vitro han demostrado que durante la maduración cerebral, neuronas subcorticales en "espera" de inervación pueden producir sustancias quimotróficas difusibles que orientan hacia ellas el crecimiento de los terminales axónicos que normalmente las suplen (36). Si la producción de estas sustancias disminuye o cesa en edad adulta, ésta podría ser una razón más que explica la pobreza de los procesos de reinervación en esa etapa de la vida.

2. Procesos degenerativos

Como lo hemos hecho notar más arriba, en relación con los procesos degenerativos, el factor edad tiene una influencia diferente dependiendo de la especie animal considerada. Para explicar estas diferencias hemos propuesto (103, 108) que las consecuencias degenerativas del daño cerebral a temprana edad dependen del estado de maduración del cerebro de la especie en estudio, en el momento de la lesión y considerado independientemente del nacimiento. En vista que, como lo describimos en la Introducción, existen diferencias en el estado de maduración cerebral al nacer entre el hombre, simios, felinos y roedores, de acuerdo con nuestra hipótesis sería de esperar que también hubiese diferencias en el grado de degeneración postlesional cuando el nacimiento es considerado como punto de referencia para comparaciones entre especies. De hecho, es sabido que el cerebro del mono exhibe menor plasticidad estructural luego de daño neonatal (73, 89)

que el de un animal como el gato con un sistema nervioso menos maduro durante el mismo período. Sin embargo, el cerebro del mono parece mostrar considerable plasticidad postlesional en la última parte de la gestación (27) cuando su estado de madurez es, probablemente, comparable al del cerebro del gato al nacer. A mayor abundamiento, los roedores, con un cerebro al nacer aún menos maduro que el del gato, parecen exhibir el máximo de plasticidad postlesional postnatal (al menos cuando ésta se mide por la magnitud de los procesos regenerativos 73, 85).

¿Cuáles son los acontecimientos anatómicos específicos que determinan que una neurona muera, sobreviva indemne o sólo se atrofie parcialmente luego de una lesión cerebral temprana? Existen varias posibilidades:

- Se ha demostrado que durante cierta etapa del desarrollo, los núcleos subcorticales pueden tener un número mayor de neuronas que las que existen en los mismos en edad adulta (18, 101). Por lo tanto, podríamos postular que en el momento de la hemisferectomía en nuestros gatitos, en los núcleos estudiados existía un exceso de neuronas; éstas estarían destinadas a desaparecer durante el desarrollo normal, pero persisten, en cambio, en vista de la lesión. Por ejemplo, estudios recientes en el colículo superior de gatitos (113), demuestran que la génesis de neuronas en las capas intermedia y profunda continua a lo menos hasta 14 días después del nacimiento y que hasta el día P45 aún se encuentran neuronas inmaduras o en proceso de degeneración. En el n. geniculado lateral, por otra parte, la densidad sináptica aumenta considerablemente durante el primer mes de vida y conos de crecimiento de axones se encuentran aún presentes durante este período. Por lo tanto, la población neuronal del cerebro del gatito no se estabiliza hasta pasado el primer mes de vida permitiendo así la puesta en juego del mecanismo de preservación recién propuesto.

- Es posible que en etapas tempranas del desarrollo postnatal del gatito neuronas de núcleos subcorticales envíen colaterales axónicos a áreas cerebrales que no son eliminadas por la hemisferectomía. En condiciones normales de desarrollo, estas proyecciones desaparecerían, pero

debido a la hemisferectomía, tal vez podrían sobrevivir y contribuir a mantener a las neuronas de origen. Este fenómeno se ha observado en el sistema cerebeloso de la rata (32) y también ha sido propuesto para explicar la menor degeneración subcortical en monos con lesiones prenatales (27).

- Otra posibilidad es que la inervación aferente de neuronas en degeneración desempeñe algún papel en la regulación del proceso degenerativo (51). Por ejemplo, se ha demostrado (113) que en el gatito la capa superficial del colículo superior proyecta difusamente a todas las láminas del geniculado lateral en vez de sólo a la lámina C, como en el adulto. Tal proyección sólo comienza a declinar entre los días postnatales 12-14. De acuerdo con la presente hipótesis, es posible que después de hemisferectomía esta proyección exhuberante no desaparezca y su presencia contribuya a atenuar la degeneración en ese núcleo. El mismo mecanismo tal vez participe en la menor degeneración del tálamo ventrobasal ipsilateral a la hemisferectomía que hemos demostrado en los HN. En efecto, solo en nuestros HN encontramos que fibras procedentes del hemisferio intacto cruzan la línea media para reinervar este área. La coincidencia de la presencia de esta nueva inervación y la menor degeneración en los HN, en contraste con la casi ausencia de reinervación acompañada con mayor degeneración en los HA, sugiere una relación causa-efecto entre la presencia de nueva inervación y la preservación neuronal en los gatitos.

- Finalmente, es sabido que algunos factores tróficos se encuentran en mayor concentración en el cerebro del recién nacido que en el adulto (84, 114). Es posible que estos factores protejan a neuronas en degeneración y, por lo tanto, desempeñen un papel en el fenómeno de preservación neuronal en nuestros animales jóvenes.

C. <u>Significado presente y futuro con énfasis en retardo mental y minusvalías del desarrollo.</u>

Hemos demostrado una importante reorganización estructural de prácticamente todo el cerebro consecutiva a hemisferectomía cerebral en

edad temprana. En esta reestructuración destacan:

a. los procesos de reinervación por neuronas del hemisferio no dañado principalmente en el sistema motor córticoespinal, y también en los sistemas visual y cerebelo-rubro-talámico;

b. el dinamismo de las fluctuaciones en el tamaño de los cuerpos neuronales y, especialmente, la hipertrofia de neuronas en el hemisferio intacto que sugieren incremento en eferentes o/y aferentes de estas neuronas;

c. la atenuación de la pérdida y atrofia neuronales en relación con lo que se observa en el adulto;

d. los procesos dinámicos de la glía, particularmente la ausencia de gliosis después de la lesión a temprana edad.

En su conjunto, esta fenomenología demuestra una plasticidad cerebral insospechada hasta muy recientemente. Aunque nuestros estudios demuestran considerable reducción de esta plasticidad en edad adulta, dejan ver muy claramente que el potencial de reestructuración está también presente en el cerebro maduro. Esto proporciona esperanzas para futuros esfuerzos de exteriorizar o incrementar, de alguna manera, este potencial.

Aunque no hay razones para pensar que la reestructuración anatómica esté desprovista de consecuencias funcionales, esto es, que no sirva el propósito de proporcionar la base para la recuperación de funciones perdidas por la lesión cerebral, es necesario recapitular las razones por las cuales pensamos que, en nuestro modelo experimental, la reestructuración anatómica sí tiene un papel funcional. Nuestro principal argumento general ya ha sido citado: la correlación, repetida a través de numerosas pruebas neurológicas y conductuales e igualmente numerosas mediciones anatómicas, entre el mayor grado de recuperación funcional en los HN y la mayor reinervación con menor atrofia, versus el menor grado de recuperación funcional y la menor reinervación con mayor atrofia en los animales con la lesión en edad adulta.

En cuanto a razones específicas, citaremos las siguientes de nuestra propia experiencia y de la literatura científica.

1. Procesos de regeneración.

Nuestros estudios han demostrado un requisito sine qua non para afirmar un papel funcional de las nuevas conexiones, esto es, que morfológicamente son normales en topografía de distribución, homotipia de reinervación y tipo de contactos sinápticos. Estas características de la reinervación son importantes, en vista que si las nuevas conexiones son normales morfológicamente, lo lógico es que también lo sean funcionalmente. Además, por lo menos en un estudio (85, ver 102) se demostró que la reinervación por brotes puede ser morfológicamente anómala en el sentido que los nuevos terminales inervan estructuras distintas de las denervadas por la lesión. Sin embargo, fue de gran interés, en ese mismo estudio, que la conducta resultante fue también anormal, confirmando así el principio de "estructura normal función normal" y viceversa.

Trabajos de otros autores han aportado observaciones adicionales que apoyan la funcionalidad de las conexiones de reinervación. Por ejemplo:

- Estudios electrofisiológicos (47, 99) de nuevas conexiones corticorubrales en gatitos han demostrado que éstas trasmiten normalmente los impulsos nerviosos originados en la corteza motora y que, además, poseen una organización somatotópica totalmente normal.

- En ratas con ablación unilateral de la corteza motora, la microestimulación eléctrica de la corteza motora del lado intacto induce movimientos de los miembros ipsilaterales (a la estimulación) con el mismo bajo umbral y precisión somatotópica que los requeridos para evocar los movimientos contralaterales normales (45).

- La estimulación eléctrica cortical efectuada en condiciones

similares a las recién descritas (86), produce incremento bilateral del metabolismo energético (medido con la técnica de la 2-deoxiglucosa) en varios núcleos motores del tronco cerebral; en tanto que éstos son activados sólo unilateralmente en animales sin lesiones de la corteza motora. Este hallazgo implica que las sinapsis de reinervación son responsables de la activación metabólica, lo cual confirma su funcionalidad.

- Algunos investigadores han interrumpido quirúrgicamente fibras de reinervación consideradas responsables de recuperación de funciones perdidas después de la lesión (78, 85). En estos casos las funciones nuevas o recuperadas desaparecieron de nuevo demostrando así su papel funcional de las nuevas vías. Respecto a este fenómeno, es interesante hacer notar que, en el caso citado más arriba de reinervación morfológicamente anormal con conducta también anómala, la interrupción quirúrgica de las fibras de reinervación eliminó la conducta anómala (85, ver 102). En otras palabras, parece claro que si hay reinervación ésta siempre tiene una consecuencia funcional, de tal forma que si la reinervación es morfológicamente normal, como sucede la mayor parte de la veces, la función es también normal (y viceversa).

En conjunto, por lo tanto, la información discutida apoya decididamente nuestra hipótesis que la extensa reinervación demostrada en nuestros animales con daño cerebral neonatal posee un papel funcional efectivo y que éste contribuye a la mayor recuperación postlesional demostrada en tales sujetos.

2. Procesos de degeneración.

De nuevo aquí, no hay razones para siquiera proponer que neuronas que no sufren degeneración luego de lesiones cerebrales y que se ven morfológicamente normales cesen de tener un papel funcional. Sin embargo, a mayor abundamiento, al menos dos estudios (62, 100) han demostrado claramente la veracidad de esta afirmación. En el más reciente (100), los autores demostraron que las respuestas electrofisiológicas a la

estimulación visual eran normales en neuronas residuales del geniculado lateral en gatos con ablación previa de la corteza visual (en edad adulta o durante la infancia).

¿Cuáles son las áreas del sistema nervioso central que, luego de la reestructuración descrita en los HN, serían capaces de mediar funciones afectadas hasta el punto de hacerlas tanto mejores que en los HA? Postulamos que, para las funciones preferentemente motrices, las principales serían el n. rojo y la médula espinal.

En cuanto al n. rojo, existe considerable similitud entre la organización anatómica y la electrofisiológica (incluyendo resultados de estimulación eléctrica) de los sistemas córtico-espinal y córtico-rubro-espinal (2, 26, 48, 57, 82). Esto sugiere que el n. rojo pudiese reemplazar funciones del sistema piramidal luego de lesiones unilaterales de la corteza motriz. Nuestros animales hemisferectomizados exhibieron defectos de movimientos dirigidos que afectaban especialmente la musculatura distal de las patas anteriores. Estos defectos son típicos de daño del sistema córticoespinal y, como lo hemos descrito, fueron mucho más acentuados en los HA que en los HN. A mayor abundamiento, lesiones del n. rojo mismo o de la vía rubro-espinal producen defectos de las extremidades muy similares a los observados en nuestros HA (48, 97). Por lo tanto, es muy posible que el mejor control motor observado en los gatos con lesión temprana versus en aquellos con lesión en edad adulta, hubiese sido mediado parcialmente por la reinervación más abundante del n. rojo deaferentado por la hemisferectomía.

En cuanto a la médula espinal, sólo en los gatos con lesión neonatal encontramos reinervación significativa de la médula espinal por fibras córtico-espinales provenientes del hemisferio intacto. Seguramente estas nuevas conexiones también contribuyeron a la recuperación motriz puesto que, como es bien sabido, la vía córticoespinal es la más directa para la ejecución de movimientos dirigidos de las extremidades. Sin embargo, como lo describimos en Resultados, la reinervación del n. rojo fue proporcionalmente mayor que la de la médula espinal y esto permite suponer

una mayor contribución del sistema rubro-espinal. De hecho, si la reinervación espinal hubiese sido igualmente completa, tal vez la recuperación motriz de los HN habría sido total.

La recuperación de funciones somatosensoriales o sensoriales específicas, probablemente se debe a la menor degeneración, en los animales con la lesión a temprana edad, de estructuras subcorticales que normalmente conducen las aferencias sensoriales hacia la neocorteza. Tal sería el caso del tálamo ventrobasal, en relación con la sensibilidad somatosensorial (como por ejemplo, los mejores resultados en los HN en la prueba de inmersión de la pata en agua), y del colículo superior y geniculado lateral en la mejor visión de los gatos con lesión temprana. Sin embargo, la reinervación observada en algunas de estas estructuras, aunque sólo en los HN, seguramente también contribuyó a la mejor función (como por ejemplo, la reinervación del colículo superior ipsilateral a la lesión por la corteza visual intacta).

Finalmente, no queremos dejar la impresión de que, de forma simplista, estimamos que toda la recuperación funcional observada en nuestros animales se deba solamente a los cambios anatómicos demostrados; o, peor aún, <u>sólo</u> a cambios anatómicos. Pronosticaríamos que en el hemisferio intacto ocurren más cambios anatómicos que los descritos aquí; por ejemplo, en la naturaleza de las conexiones y extensión de los circuitos neuronales corticales que participan en el control del movimiento, en vista que las áreas motrices que normalmente controlan los movimientos de sólo un lado del cuerpo, de acuerdo con lo propuesto aquí, ahora deberían controlar ambos lados. Así mismo, hay otros procesos fisiológicos (66), y de adaptación funcional (ver. 6, 104) a los impedimentos, que pueden haber contribuído a la recuperación de funciones en nuestros gatos con lesión temprana o tardía. En aras de la brevedad y en vista que estos factores adicionales han sido discutidos en detalle en nuestras publicaciones, hemos preferido no discutirlos aquí. Cabe señalar, sin embargo, que mientras la mayor parte de esos otros procesos son preferentemente hipotéticos, aquí nos hemos referido a factores que hemos demostrado fehacientemente y que, además, en general tienen una relación

más directa que aquellos con las funciones conductuales y neurológicas estudiadas.

3. El futuro.

Como lo anticipamos en la Introducción, los estudios resumidos aquí constituyen la primera etapa de un programa a largo plazo en que la meta es la prevención o el tratamiento de las consecuencias del daño cerebral temprano, que dependiendo de su naturaleza, conduce a retardo mental, y/o minusvalías del desarrollo y/o impedimento neurológico. Esta etapa, que aunque laboriosa era indispensable, nos ha mostrado procesos claves de reestructuración que el cerebro, por decir así, "emplea" en intentos exitosos de recuperación.

En una segunda etapa, empezamos a aplicar este nuevo conocimiento en intentos dirigidos a aprovechar este potencial reparativo del cerebro. Con este propósito, estamos usando los que llamamos "procedimientos de intervención". Estos, hipotéticamente al menos, podrían influir simultáneamente los procesos de reinervación y de degeneración. Específicamente, las "intervenciones" que estamos aplicando a nuestros animales hemisferectomizados, a la vez neonatales y adultos, son: a) ejercicio y entrenamiento motores (utilizando los resultados descritos en "Movimientos Dirigidos y Entrenamiento"); b) administración de monosialoganglíosido; y, c) en un futuro cercano, una mezcla de Factores de Crecimiento de Nervio. La hipótesis que guía esta estrategia, es que las intervenciones mencionadas incrementarán los procesos regenerativos, disminuirán los degenerativos y, ambos hechos, repercutirán en una mayor recuperación funcional. Nuestra gran ventaja, es que ahora estamos en condiciones de medir todos estos resultados, compararlos con los obtenidos en los animales no "intervenidos" y concluir, científicamente, acerca de la eficacia de las intervenciones.

También estamos, iniciando la evaluación de otra hipótesis surgida de los estudios resumidos aquí: que un incremento marcado en la reinervación de las estructuras en proceso de degeneración después de la lesión

cerebral, pudiese detener o retardar la atrofia. Con este propósito hemos usado la técnica del transplante de tejido cerebral. En experimentos iniciales, que ya comunicamos (111), demostramos, por primera vez, que el transplante de tejido cerebral es posible en gatos y gatitos y que, aún en estos primeros intentos, aparentemente la atrofia del geniculado lateral puede ser atenuada mediante transplante de tejido cortical embrionario.

Finalmente, en otro grupo de experimentos estamos intentando responder a dos preguntas de los neurocirujanos que practican hemisferectomía como tratamiento de epilepsia infantil que no responde a medicamentos (ver Introducción). Estas preguntas son: a) ¿cuál sería la edad más apropiada para intervenir de modo que los procesos reparativos demostrados aquí operen a un nivel óptimo?; b) ¿sería posible establecer correlaciones entre los hallazgos con tomografía de emisión de positrones y los cambios anatómicos antes y después de hemisferectomía? Para contestar estas preguntas estamos estudiando los procesos anatómicos analizados en este trabajo pero usando gatitos hemisferectomizados a diferentes edades después del nacimiento; en los mismos animales estudiaremos el metabolismo cerebral de la glucosa (equivalente a tomografía de emisión de positrones del hombre) y lo correlacionaremos con la reorganización anatómica. La lógica de estos experimentos reside, no sólo en los resultados expuestos aquí sino en estudios que están demostrando que en los niños con hemisferectomía (12) parecen existir los mismos procesos reorganizativos que en nuestros gatos, y además en nuestros estudios metabólicos que demuestran (10, 37, 46) que el metabolismo cerebral del gato normal parece madurar al mismo paso que en los niños (11).

Lo ideal sería poder prevenir la deficiencia mental y las minusvalías del desarrollo antes que el agente etiológico produzca daño cerebral. Esto es posible en numerosos casos, como por ejemplo, cuando la etiología es desnutrición u otras deprivaciones. Desgraciadamente, en otras circunstancias, especialmente cuando el daño cerebral sucede sin poder ser previsto, debido a noxas ambientales (como trauma encefálico) o internas (como tumor cerebral), la prevención sólo puede ocurrir a posteriori. En tales casos sólo estrategias como la adoptada en el presente estudio pueden

ofrecer esperanzas concretas de prevención de las consecuencias del daño cerebral.

V. RESUMEN

El presente trabajo resume estudios efectuados en el Laboratorio del autor durante los últimos 10 años. El propósito ha sido descubrir posibles procesos que participen en la reparación, o mayor deterioro secundario, del cerebro dañado en edad adulta o neonatal y que contribuyan a la mayor o menor recuperación funcional. Con el objeto de facilitar comparaciones con la patología humana empleamos hemisferectomía cerebral y el gato, como la lesión y animal experimental respectivamente. Usando modernos métodos cuantitativos estudiamos: (a) la recuperación neurológica y conductual: (b) procesos reparativos de reinervación de estructuras parcialmente denervadas por la lesión: (c) procesos degenerativos. Los resultados fueron: (a) En 28 de 30 pruebas funcionales utilizadas, los gatos con lesión neonatal mostraron mayor recuperación neurológica-conductual que los animales hemisferectomizados en edad adulta. (b) En los animales con lesión neonatal las vías de la motilidad que descienden desde la corteza cerebral del hemisferio intacto inervaron los dos lados del tálamo, núcleo rojo, núcleo gracile y médula espinal cervical, en circunstancia que en gatos intactos esta inervación es unilateral. En los gatos con hemisferectomía en edad adulta hubo sólo una tendencia a reinervación. Los nuevos terminales axónicos hicieron contacto sináptico con las neuronas que reinervan: éstos y la topografía de distribución, fueron normales. Observamos similar reinervación para las proyecciones de la corteza visual del lado intacto al colículo superior. En la vía cerebelo-rubral, hubo expansión hacia áreas dorsales de los terminales en el núcleo rojo del lado de la lesión. Demostramos además, hipertrofia de neuronas en varias estructuras del hemisferio intacto. (c) En relación con procesos degenerativos, los animales hemisferectomizados mostraron muerte y/o atrofia neuronal en núcleos subcorticales bilateralmente, aunque con mayor intensidad en el lado de la lesión. Sorprendentemente, estos efectos fueron menos marcados en los animales con la lesión temprana, en los cuales, además, hubo ausencia de gliosis postlesional.

Concluimos, luego de extensa discusión, que: (a) hemos demostrado una importante e insospechada reorganización estructural del cerebro en respuesta a daño en edad temprana; (b) en vista que mayor reinervación con menor degeneración corresponden a mayor recuperación funcional en el animal con hemisferectomía neonatal y, viceversa, en el animal con lesión en edad adulta, que esta reorganización anatómica es la base de la recuperación funcional diferencial demostrada (otros hallazgos y la literatura apoyan esta conclusión). Este conocimiento no sólo permite entender la recuperación funcional observada en caso de lesiones cerebrales, especialmente a temprana edad, sino que abre la posibilidad de usar intervenciones experimentales que estimulen los procesos reparativos y/o inhiban los procesos degenerativos. Estas, de ser exitosas, contribuirían a prevenir las consecuencias del daño cerebral conducente a deficiencia mental, minusvalías del desarrollo y variados síndromes neurológicos.

VI. REFERENCIAS

Aquellas marcadas con * son publicaciones del autor que forman parte de este trabajo.

1. Almli, C.R. Early brain damage and time course of behavioral dysfunction: Parallels with neural maturation. IN: Early Brain Damage. Volume 2. Almli C.R., and Finger S. (Eds.), New York: Academic Press, pp. 99-116, 1984.

2. Amalric, M., Conde, H., Dormont, J.F., Farin, D., and Schmeid, A. Cat red nucleus changes of activity during the motor initiation in a reaction time task. Exp. Brain Res., 52:210-218, 1983.

3. Berry, M., Maxwell, W.L., Logan, A., Mathewson, A., McConnell, P., Ashhurst, D.E., and Thomas, G.H. Deposition of scar tissue in the central nervous system. Acta Neurochirg., 32:31-53, 1983.

4. Bleier, R. Retrograde transsynaptic cellular degeneration in mammillary and ventral tegmental nuclei following limbic decortication in rabbits of various ages. Brain Res., 15:365-393, 1969.

5. Bryz-Gornia, Jr., W.F., Stelzner, D.J. Ascending tract neurons survive spinal cord

transection in the neonatal rat. Exp. Neurol. 93:195-210, 1986.

6. *Burgess, J.W., and **Villablanca, J.R.** Recovery of function after neonatal or adult hemispherectomy in cats. II. Motor deficits: Limb bias and development, paw usage, locomotion and rehabilitative effects of motor training. Behav. Brain Res., 20:1-18, 1986.

7. *Burgess, J.W., and **Villablanca, J.R.** Recovery of function after neonatal or adult hemispherectomy in cats. III. Complex functions: open field exploration, social interactions, maze and holeboard performance. Behav. Brain Res. 20:17- 230, 1986.

8. Callahan, E.C., Tong, L., and Spear, P.D. Critical period for the marked loss of retinal X-cells following visual cortex damage in cats. Brain Res., 323:302-306.

9. Carreras, M., Lechi, A., Zampollo, A., and Juvarra, G. Residual neurons of the thalamic ventrobasal nuclei: A histological and electrophysiological study in the cat. Arch. Ital. Biol, 107:570-603, 1969.

10. *Chugani, H.T., Hovda, D.A., **Villablanca, J.R.**, Phelps, M.E., and Xu, W.F. Metabolic maturation of the brain: A study of local cerebral glucose utilization in the developing cat. Cerebr. Blood Flow Metab., En prensa.

11. Chugani, H.T., and Phelps, M.E. Maturational changes in cerebral function in infants determined by [18]FDG positron emission tomography. Science, 23:840-843, 1986.

12. Chugani, H.T., Shewmon, D.A., Peacock, W.J., Shields, W.D., Mazziotta, J.C., and Phelps, M.E. Surgical treatment of intractable neonatal-onset seizures: The role of positron emission tomography. Neurology, 38:1178-1188, 1988.

13. Combs, C.M. Fiber and cell degeneration in the albino rat brain after hemidecortication . J. Comp. Neurol., 90:373-401, 1949.

14. Cooper, M.L., and Pettigrew, J.D The decussation of the retino-thalamic pathways in the cat, with a note on the major meridians of the cat's eye. J. Comp. Neurol., 187:285-312, 1979.

15. Cornwell, P., Overman, W., and Ross, C. Extent of recovery from neonatal damage to the cortical visual system in cats. J. Comp. Physiol. Psych., 92:255-270, 1975.

16. Cotman, C.W. Synaptic Plasticity. New York: The Guilford Press, 1985.

17. Cowan, W.M., Gottlieb, D.I., Hendrickson, A.E., Price, J.L., and Woolsey, T.A. The autoradiographical demonstration of axonal conections in the central nervous

system. Brain Res., 37:21-51, 1972.

18. Cunninghamm, T.J. Naturally occurring neuronal death and its regulation by developing neural pathways. Int. Rev. Cytol., 74:163-185, 1982.

19. Davis, J.N. Target regulation of neuronal sprouting. IN: Nerve, Organ, and Tissue Regeneration: Research Perspectives. Seil F. (Ed.), New York: Academic Press, pp. 157-169, 1983.

20. Dobbing, J., and Sands, J. Quantitative growth and development of human brain. Arch. Diseases of Childhood, 48:757-767, 1973.

21. Eng, L.R., Reier, P.J., Houle, J.D. Astrocyte activation and fibrous gliosis: Glial fibrillary acidic protein immunostaining of astrocytes following intraspinal cord grafting of fetal CNS tissue. Prog. Brain Res., 71:439-455, 1987.

22. Fadiga, E., and Manzoni, T. Relationships between the somatosensory thalamic relay-nuclei of the two sides. Arch. Ital. Biol., 107:604-632, 1969.

23. Feeney, D.M. and Wier, C.S. Sensory neglect after lesions of substantia nigra or lateral hypothalamus: differential severity and recovery of function. Brain Res., 178:329-346, 1979.

24. Finger, S., and Almli, C.R. Early Brain Damage. Vol. 2. New York: Academic Press, 387 pp., 1984.

25. *Fisher, R.S., Sutton, R.L., Hovda, D.A., and **Villablanca, J.R.** Corticorubral connections: Ultrastructural evidence for homotypical synaptic reinnervation after developmental deafferentation. J. Neurosci. Res., 21:438-446, 1988.

26. Ghez, C., and Kubota, K. Activity of red nucleus neurons associated with a skilled forelimb movement. Brain Res., 129:383-388, 1977.

27. Goldman, P.S., Galkin, T.W. Prenatal removal of frontal association cortex in the fetal rhesus monkey: Anatomical and functional consequences in postnatal life. Brain Res., 152:451-485, 1978.

28. Goldschmidt, R.B., and Steward, O. Timecourse of increase in retrograde labeling and increase in cell size of entorhinal cortex neurons sprouting in response to unilateral entorhinal lesions. J. Comp. Neurol., 189:180-359, 1980.

29. *Gómez-Pinilla, F., **Villablanca, J.R.**, Sonnier, B.J., and Levine, M.S. Reorganization of pericruciate cortical projections to the spinal cord and dorsal column nuclei after neonatal or adult cerebral hemispherectomy in cats. Brain Res., 385:343-355, 1986.

30. *Gómez-Pinilla, F. and **Villablanca, J.R.** Motor cortex projections to the thalamus. An autoradiographic study in the cat. Arch. Ital Biol., 127:109-114, 1989.

31. Goshgarian, H.G., Koistenan, J.M., and Schmidt, E.R. Cell death and changes in the retrograde transport of horseradish peroxidase in rubrospinal neurons following spinal chord hemisection in the adult rat. J. Comp. Neurol.,214: 251-257, 1983.

32. Gramsbergen, A., and Ijkema-Paassen, J. Do early lesions affect cell death in the central nervous system? A study on the effects of early cerebellar hemispherectomy in rats. J. Comp. Neurol., 255:617-624.

33. Grant, G. Retrograde neuronal degeneration. IN: Golgi Centennial Symposium: Perspectives in Neurobiology. Santini M. (Ed.), Raven Press, pp. 195-200, 1975.

34. Gudden, B. Beitrag zur kenntniss des Corpus Mammillare und der sogenannten schenkel des Fornix. Arch. Psychiat., 11:428-452, 1880.

35. Hassler, R., and Muhs-Clement, K. Architektonischer aufbau des sensomotoischen und parietalen Cortex der Katze. J. Hirnforsch.,377-420, 1964.

36. Heffner, C.D., Lumsden, A.G.S., O'Leary, D.D.M. Target control of collateral extension and directional axon growth in the mammalian brain. Science, 247: 217-

220, 1989.

37. *Hovda, D.A., Chugani, H.T., Badie, B., Phelps, M.E., and **Villablanca, J.R.** Cerebral maturation of oxidative metabolism in the cat. Soc. Neurosci. Abst., 14: 48, 1988.

38. *Hovda, D.A., and **Villablanca, J.R.** Bilateral corticotectal projection following neonatal cerebral hemispherectomy in the cat. Soc. Neurosci. Abst., 15(2): 1338, 1989.

39. *Hovda, D.A., and **Villablanca, J.R.** Depth perception in cats after cerebral hemispherectomy: comparisons between neonatal and adult-lesioned animals. Behav. Brain Res., 32:231-240, 1989.

40. *Hovda, D.A., and **Villablanca, J.R.** Sparing of visual field perception in neonatal but not adult cerebral hemispherectomized cats. Relationship with oxidative metabolism of the superior colliculus. Behav. Brain Res., 37:119-132, 1990.

41. *Hovda, D.A., and **Villablanca, J.R.** A quantitative study of degeneration following neonatal or adult cerebral hemispherectomy in cats. I. Retrograde effects in the medial geniculate thalamic nucleus. Brain Dysfunct.,2:221-236, 1989.

42. Innocenti, G.M., Fiore, L., and Caminiti, R. Exuberant projection into the corpus callosum from the visual cortex of newborn cats. Neurosci. Lett., 4:237-242, 1977.

43. *Jabour, B.A., Hovda, D.A., Korogi, Y., Lufkin, R., and **Villablanca, J.R.** Thalamic changes in neonatal and adult hemispherectomized cats: Evaluation by MRI. SMRI Seventh Annual Meeting, Magn. Reson. Imaging, 7, Suppl. 1: 127, 1989.

44. Kalil, R.E. Removal of visual cortex in the cat: Effeccts on the morphological development of the retino-geniculo-cortical pathway. IN: Development of Visual Pathways in Mammals. Stone J., Dreher B., Rapaport D.H. (Eds.), New York: Alan R. Liss, pp. 257-274, 1984.

45. Kartje-Tillotson, G., Neafsey, E.J., and Castro, A.J. Electrophysiological analysis of motor corticofugal plasticity after lesions in newborn rats. Brain Res., 332:103-111, 1985.

46. Kerrigan, J.F., Chugani, H.T., Hovda, D.A., **Villablanca, J.R.**, Huang, S.C., Barrio, J., and Phelps, M.E. Local cerebral protein synthesis in the cat during normal development. Soc. Neurosci. Abst., 15(1): 854, 1989.

47. Kosar, E., Fujito, Y., Murakami, F., and Tsukahara, N. Morphological and

electrophysiological study of sprouting of corticorubral fibers after lesions of the contralateral cerebrum in kitten. Brain Res., 347:217-224, 1985.

48. Lawrence, D.G., and Kuypers, H.G.J.M. The functional organization of the motor system in the monkey. Brain, 91:1-36, 1986.

49. Leonard, C.T., and Goldberger, M.E. Consequences of damage to the sensorimotor cortex in neonatal and adult cats. II. Maintenance of exuberant projections. Dev. Brain Res., 32:15-30, 1980

50. Lieberman, A.R. The axon reaction: A rearview of the principal features of perikaryal responses to axon injury. Int. Rev. Neurobiol., 14:49-124, 1971.

51. Linden, R., and Perry, V.H. Retrograde and anterograde-transneuronal degeneration in the parabigeminal nucleus following tectal lesions in developing rats. J. Comp. Neurol., 218: 270-281.

52. Linden, R., and Piñon, L.G. Dual control by targets and afferents of developmental neuronal death in the mammalian central nervous system : A study in the parabigeminal nucleus of the rat. J. Comp. Neurol., 266:141-149, 1987.

53. Lindsay, R.M. Reactive Gliosis. IN: Astrocytes. Vol. 3. Federoff S., and Vernadakis S. (Eds.), New York: Academic Press, pp. 231-262, 1986.

54. Lockerbie, R.O. The neuronal growth cone: A review of its locomotory, navigational and target recognition capabilities. Neurosci., 20:719-729, 1987.

55. Macchi, G., Quattrini, A., Chinzari, P., Marchesi, G., and Capocchi, G. Quantitative data on cell loss and cellular atrophy of intralaminar nuclei following cortical and subcortical lesions. Brain Res., 89:43-59, 1975.

56. Madarasz, M. Somogyi, J., Silakor, V.L., and Hamori, J. Residual neurons in the lateral geniculate nucleus of adult cats following chronic disconnection from the cortex. Exp. Brain Res., 52:363-374, 1983.

57. Massion, J. The mammalian red nucleus. Physiol. Rev., 47:383-436, 1967.

58. *McAllister, J.P., Olmstead, Ch.E., **Villablanca, J.R.**, and Gómez, F. Residual cerebellothalamic terminal fields following hemispherectomy in the cat. Neurosci. Lett. 29:25-29, 1982.

59. Mesulam, M.M. Principles of horseradish peroxidase neurohistochemistry and their applications for tracing neural pathways-axonal transport, enzyme histochemistry and light microscopic analysis. IN: Tracing Neuronal Connections with Horseradish Peroxidase. Mesulam M.M. (Ed.), John Wiley and Sons, 1982.

60. Mize, R.R., and Murphy, E.H. Alterations in receptive field properties of superior

colliculus cells produced by visual cortex ablation in infant and adult cats. J. Comp. Neurol., 168:393-424, 1976.

61. Murakami, F. Higashi, S. Presence of crossed corticorubral fibers and increase of crossed projections after unilateral lesions of the cerebral cortex of the kitten: A demonstraion using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. Brain Res., 447:98-108, 1988.

62. Murphy, E.H., and Kalil, R. Functional organization of lateral geniculate cells following removal of visual cortex in the newborn kitten. Science, 206:713-716, 1979.

63. Murphy, E.H., Mize, R.R., and Schechter, P.B. Visual discrimination following infant and adult ablation of cortical areas 17, 18, and 19 in the cat. Exp. Neurol., 49:380-405.

64. Nah, S.H., and Leong, S.K. Bilateral corticofugal projection to the red nucleus after neonatal SNC lesions in the albino rat. Brain Res., 107:433-436, 1976.

65. Nah, S.H., Ong, L.S., and Leong, S.K. Is sprouting the result of a persistent neonatal connection. Neurosci. Lett., 19:39-44, 1980.

66. Nation, W.M., and Humphrey, D.R. Re-organization of the motor cortex of the

rat following neonatal ablation of the opposite motor cortex. Anat. Rec., 205: 140A-141A, 1983.

67. Naus, C.G., Flumerfelt, B.A., Hrycyshyn, A.W. Ultrastructural study of remodeled rubral afferents following neonatal lesions in the rat. J. Comp. Neurol., 259:131-139, 1987.

68. Nieto-Sampedro, M., Cotman, C.W. Growth factor induction and temporal order in central nervous system repair. IN: Synaptic Plasticity. Cotman M. (Ed.), New York: Guilford Press, pp. 407-455, 1985.

69. Obrador, S. Nervous integration after hemispherectomy. IN: Cerebral Localization and Organization. Schaltenbrand G., and Woolsey C.N. (Eds.), Madison: University of Wisconsin Press, pp. 133-154, 1964.

70. *Olmstead, C.E., **Villablanca, J.R.**, Sonnier, B.J., McAllister, J.P., and Gómez, F. Reorganization of cerebellorubral terminal fields following hemispherectomy in adult cats. Brain Res. 274:336-340, 1983.

71. Padel, Y., Smith, A.M., and Armand, J. Topography of projections from the motor cortex to rubrospinal units in the cat. Exp. Brain Res., 17: 315-332, 1973.

72. Parmelee, A.H., Sigman, M.D. Perinatal brain development and behavior. IN:

Handbook of Child Psychology. Mussen P.H. (Ed.), Haith M., and Campos J. (Volume Eds.), John Wiley and Sons, pp. 95-155, 1983.

73. Passingham R.E., Perry, V.H., Wilkinson, D. The long-term effects of removal of sensorimotor cortex in infant and adult monkeys. Brain, 106:675-705, 1983.

74. Prendergast, J., Stelzner, D.J. Changes in the magnocellular portion of the red nucleus following thoracic hemisection in the neonatal and adult rat. J. Comp. Neurol., 166:163-172, 1976.

75. Pritzel, M., and Huston, J.P. Unilateral ablation of telencephalon induces appearance of contralateral cortical and subcortical projections to thalamic nuclei. Behav. Brain Res., 3:43-54, 1981.

76. Purpura, D.P. Morphogenesis of the visual cortex in preterm infants. IN: Growth and Brain Development. Brazier, M.A. (Ed.), New York: Raven Press, 1975.

77. Ramón y Cajal, S. Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso. Madrid: Imp. Nicolás Moya, 1914.

78. Reh, T., and Kalil, K. Functional role of growing pyramidal tract fibers. J. Comp. Neurol., 211:276-283, 1982.

79. Reier, P.J. Gliosis following CNS injury: The anatomy of astrocytic scars and their influences on axonal elongation. IN: Astrocytes. Vol. 3. Federoff S., and Vernadakis A. (Eds.), New York: Academic Press, pp. 263-324, 1986.

80. Reinoso-Suárez, F. Topographischer Hirnatlas der Katze. E. Merck, 1961.

81. Rinvik, E., and Walberg, F. Demonstration of a somatotopically arranged corticorubral projection in the cat. J. Comp. Neurol., 120: 393-407, 1963.

82. Robinson, F.R., Houk, J.C., and Gibson, A.R. Limb specific connections of the cat magnocellular red nucleus. J. Comp. Neurol., 257:553-577, 1987.

83. Romanes, G.J. Motor localization and the effects of nerve injury on the ventral horn cells of the spinal cord. J. Anat., 80:117-131, 1946.

84. Schatteman, G.C., Bibbs, L., Lanahan, A.A., et al. Expression of NGF receptor in the developing and adult primate central nervous system. J. Neurosci.,8:860-873, 1988.

85. Schneider, G.E., Jhaveri, S., Edwards, M.A., So, K. Regeneration, Re-routing, and redistribution of axons after early lesions: Changes with age, and functional impact. IN: Recent Achievements in Restorative Neurology: Upper Motor Neuron Functions and Dysfunctions. Eccles J., and Dimitrijevie M.R. (Eds.), Switzerland: S

Karger AG, 1985, pp. 291-310.

86. Sharp, F.R., And Evans, K.L. Bilateral 2-deoxyglucose uptake by motor pathways after unilateral neonatal cortex lesions in the rat. Dev. Brain Res., 6:1-11, 1983.

87. *Shook, B.L., **Villablanca, J.R.**, and Hovda, D.A. Prenatal unilateral frontal cortex ablation in cats. Soc. Neurosci. Abst., 13(2): 1116, 1987.

88. *Shook, B.L., and **Villablanca, J.R.** Quantitative cytoarchitectural analysis of cellular degeneration in the dorsal lateral geniculate nuclei of cats and kittens with cerebral hemispherectomy. Exp. Neurol., En prensa.

89. Sloper, J.J., Brodal, P., and Powell, P.S. An anatomical study of the effects of unilateral removal of sensorimotor cortex in infant monkeys on the subcortical projections of the contralateral sensorimotor cortex. Brain, 106:707-716, 1983.

90. Smith, A., and Sugar, O. Development of above normal language and intelligence 21 years after left hemispherectomy. Neurol., 25(9):813-818, 1975.

91. Sprague, J.M. Interaction of cortex and superior colliculus in mediation of visually guided behavior in the cat. Science, 153:1544-1547, 1966.

92. Steward, O. Lesion-induced neuroplasticity and the sparing or recovery of

function following early brain damage. IN: Early Brain Damage. Vol. 1. Finger S., and Almli C.R. (Eds.), New York: Academic Press, 1984, pp. 59-77.

93. Stone, J., and Fukuda, Y. The nasotemporal division of the cat's retina re-examined in terms of Y-, X- and W- cells. J. Comp. Neurol., 155:377-394, 1974.

94. Sumi, S.M., and Hager, H. Electron microscopic study of the newborn rat brain to injury. Acta Neuropath., 10:324-335, 1968.

95. *Sutton, R.L., Hovda, D.A., Fisher, R.S., and **Villablanca, J.R.** Ultrastructural evidence that the decussated corticorubral projection in cats with neonatal hemispherectomy is synaptic. Anat. Rec., 200(4): 1145, 1988.

96. *Sutton, R.L., and **Villablanca, J.R.**, Reorganization of cortical projections to the nucleus of Darkschewitsch in cats with neonatal or adult cerebral hemispherectomy, Brain Dysfunct., En prensa.

97. Sybirska, E., and Gorska, T. Effects of red nucleus lesions on forelimb movements in the cat. Acta Neurobiol. Exp., 40:821-841, 1980.

98. Top, K.S., Faddis, B.T., and Vijayan, V.K. Trauma-induced proliferation of astrocytes in brains of young and aged rats. Glia, 2:201-211, 1989.

99. Tsukahara, N. Synaptic plasticity in the red nucleus and its possible behavioral correlates. IN: Synaptic Plasticity. Cotman C.W. (Ed.), New York: The Guilford Press, pp. 201-229, 1985.

100. Tumosa, N., McCall, M.A., Guido, W., and Spear, P.D. Responses of lateral geniculate neurons that survive long-term visual cortex damage in kittens and adult cats. J. Neurosci., 9(1): 280-298, 1989.

101. Valverde, F., and Facal-Valverde, M.V. Transitory population of cells in the temporal cortex of kittens. Dev. Brain Res., 32:283-288, 1987.

102. *Villablanca, J.R. El Daño Cerebral y la Investigación Neurológica Básica: Perspectivas para el Futuro. IN: Retardo Mental. Asociación Venezolana de Padres y Amigos de Niños Excepcionales; Imprenta de la Universidad Central, Caracas, Venezuela, pp. 357-372, 1985.

103. ***Villablanca, J.R.**, Burgess, J.W., and Benedetti, F. There is less thalamic degeneration in neonatal-lesioned than in adult-lesioned cats after cerebral hemispherectomy. Brain Res., 368:211-225, 1986.

104. ***Villablanca, J.R.**, Burgess,J.W., and Olmstead, C.E. Recovery of function after neonatal or adult hemispherectomy in cats. I. Time course movement, posture and sensory tests. Behav. Brain Res., 19:205-226, 1986.

105. ***Villablanca, J.R.**, Burgess, J.W., and Sonnier, B.J. Neonatal cerebral hemispherectomy: A model for post-lesion reorganization of the brain. IN: The Behavioral Biology of Early Brain Damage, Vol. 2 S. Finger and C.R. Almli (Eds.). New York: Academic Press, 1984. pp. 179-210.

106. ***Villablanca, J.R.**, and Gómez-Pinilla, F. Novel crossed corticothalamic projections after neonatal cerebral hemispherectomy. A quantitative autoradiography study in the kitten. Brain Res., 410:219-231, 1987.

107. ***Villablanca, J.R.**, Gómez-Pinilla, F., Sonnier, B.J., and Hovda, D.A. Bilateral pericruciate cortical innervation of the red nucleus in cats with adult or neonatal cerebral hemispherectomy. Brain Res., 453:17-31, 1988.

108. ***Villablanca, J.R.**, and Hovda, D.A. A quantitative study of neural degeneration following neonatal or adult cerebral hemispherectomy in cats. II. Transsynaptic effects in the superior colliculus and mammillary nuclei. Brain Dysfunct.,2:237-254, 1989.

109. ***Villablanca, J.R.**, Olmstead, Ch.E. Factores que modifican los efectos neurológicos y comportamentales del daño cerebral experimental temprano. IN: Estimulación Precoz. Jornadas Internacionáles. I. Villa-Elizaga (Ed.), Madrid: Egraf, pp. 25-40, 1983.

110. ***Villablanca, J.R.**, Olmstead, Ch.E., Sonnier, B.J., McAllister, J.P., and Gómez, F. Evidence for a crossed corticorubral projection in cats with one cerebral hemisphere removed neonatally. Neurosci. Lett. 33:241-246, 1982.

111. **Villablanca, J.R.**, Shook, R.L., Hovda, D.A., and Sutton, R.L. Transplantation of fetal frontal cortex onto decrticate thalamus of cats and kittens. Dev. Neurosci.,12: 1-10, 1990.

112. ***Villablanca, J.R.**, Shook, B.L., Sonnier, B.J., and Burgess, J.W. Deep cerebellar nuclei and motor cortex projections to the red nucleus after neonatal or adult cerebral hemispherectomy. Soc. Neurosci. Abst., 12(1): 510, 1986.

113. Warton, S.S., and Jones, D.G. Postnatal development of cat superior colliculus. I. Presumptive neurons and degenerating cells in the intermediate and deep layers. Dev. Brain Res., 14:101-111, 1984.

114. Yan, Q., Johnson, E.M. EM: An immunohistochemical study of the nerve growth factor receptor in developing rats. J. Neurosci., 8:3481-3498, 1988.

VII. AGRADECIMIENTOS Y RECONOCIMIENTOS

En orden cronológico, los siguientes investigadores jóvenes hicieron estudios postdoctorales en mi laboratorio durante los últimos diez años y mientras los estudios resumidos aquí estaban en ejecución. Agradezco muy sinceramente las valiosas contribuciones de cada uno de ellos. Estas han sido explícitamente reconocidas en la nómina de autores de cada uno de los trabajos publicados:

Charles E. Olmstead, Ph.D.
James P. McAllister, Ph.D.
Fernando Gómez, Ph.D. (de Santiago, Chile; obtuvo su doctorado).
Bobby Jo Sonnier, Ph.D.
J. Wesley Burgess, Ph.D., M.D.
Fabrizio Benedetti, M.D. (Turín, Italia)
Richard L. Sutton, Ph.D.
David A. Hovda, Ph.D.

Estos estudios han sido financiados por las siguientes donaciones competitivas ("Grants") de los "National Institutes of Health", Washington, D.C.: PO1 - HDO5958 ("National Institute Child and Human Development"); RO1 NS15654 ("National Institute Neurological, Communicative Diseases and Stroke"); HD - 04612 ("National Institute Child and Human Development") que contribuye a mantener la infraestructura de nuestro "Mental Retardation Research Center" en la Universidad de California, Los Angeles.

Agradezco especialmente a Sharon Belkin por su ayuda con las ilustraciones de este trabajo, a Carol Gray por su ayuda con el material fotográfico, y a mi Secretario John M. Murphy, quién, a pesar de desconocer el idioma Español, me ayudó considerablemente a concluir este manuscrito.

Mis agradecimientos más sentidos y cariñosos van a mi esposa Guillermina Nieto García por su increíble comprensión durante las numerosas horas extra que he pasado con mis gatos, en vez de con ella, y por su inagotable apoyo moral durante los momentos difíciles inherentes a toda empresa científica

de largo alcance. Nuestros cinco hijos también participaron en este generoso sacrificio familiar.

Los Estados Miembros deben tomar medidas apropiadas para la prevención de deficiencias y discapacidades y para asegurar la divulgación de los conocimientos y la tecnología pertinentes.

Naciones Unidas: **Programa de acción mundial para las personas con discapacidad** (Párrafo 95).

REAL PATRONATO DE PREVENCION
Y DE ATENCION A PERSONAS CON MINUSVALIA
Serrano 140. 28006 MADRID. Tel. 262 73 37