

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANAS



TESIS DOCTORAL

Relación de la Escala de Apgar con hipoxia del lóbulo temporal

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Roberto Alejandro Lugo Guillén

Directores

María Isabel Arenas Jiménez
María José Blázquez Layunta
Fermín Viejo Tirado

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANAS



Relación de la Escala de Apgar con Hipoxia del Lóbulo Temporal

TESIS DOCTORAL

Roberto Alejandro Lugo Guillén

DIRECTORES:

Dra. María Isabel Arenas Jiménez

Dra. María José Blánquez Layunta

Dr. Fermín Viejo Tirado

Madrid, 2015



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Dña. **MARÍA ISABEL ARENAS JIMÉNEZ**, Profesora Titular del Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá, Dña. **MARÍA JOSÉ BLÁNQUEZ LAYUNTA**, Profesora Titular del Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y D. **FERMÍN VIEJO TIRADO**, Profesor Titular del Departamento de Anatomía y Embriología Humanas de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

INFORMAN:

Que el trabajo titulado "Relación de la Escala de Apgar con Hipoxia del Lóbulo Temporal", realizado por **ROBERTO ALEJANDRO LUGO GUILLÉN**, reúne las condiciones necesarias para ser presentado como Tesis Doctoral, y consideramos que su autor está capacitado para obtener el grado de doctor, siempre y cuando así lo considere el Tribunal designado por la Universidad Complutense de Madrid para juzgar la memoria.

Firmado en Madrid a dieciocho de febrero de dos mil quince.

Los directores de la tesis

Fdo.: María Isabel Arenas Jiménez

Fdo.: María José Blánquez Layunta

Fdo.: Fermín Viejo Tirado

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado en la realización de este trabajo y muy especialmente a las siguientes:

*al Dr. **Fermín Viejo Tirado**, Profesor Titular de Anatomía y Embriología Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, a la Dra. **María José Blánquez Layunta**, Profesora Titular de la Universidad Complutense de Madrid, y a la Dra. **María Isabel Arenas Jiménez** Profesora Titular de la Universidad de Alcalá, directores de mi Tesis Doctoral, quienes aportaron sus acertadas observaciones y sugerencias en la realización de esta tesis.*

*a los Doctores en Medicina **Santos Guzmán López**, Director de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y del Hospital Universitario y Jefe del departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la UANL, quien me ha brindado siempre su valioso apoyo, y Dr. Med. **Rodrigo Elizondo Omaña** por su orientación durante todo este proceso para realizar este protocolo de investigación clínica.*

*a **mi familia**, con mi amor y gratitud por haber sido el motor y soporte en esta etapa de trabajo y haber aceptado la inevitable merma en tiempo y atención mientras realizaba este trabajo.*

*a mis compañeros de los Departamentos de Anatomía, Radiología y Patología, por su ayuda y colaboración, Dr. **Ricardo Pinales**, Dr. **Ricardo Ramos**, Dr. **Marco Ponce**, Dra. **Raquel Garza**, Dr. **Alfonso Gil** y Dr. **Francisco García** y, muy en particular, al Dr. **Guillermo Cázares**, Dr. **Cesar Castro**, Dr. **Patricio Zarate**, Dr. **David Román**, M.I.P. **Eduardo Frías**, M.I.P. **Alan Gamboa** y Lic. **Alberto Cisneros**, sin ellos no habría podido llevar cabo este trabajo.*

DEDICATORIA:

*A mi compañera de viaje en esta vida, mi amada **Maribel Lourdes***

*A mis hijos: **Roberto Alejandro, Edgar Norberto y Michelle Lourdes Victoria***

*A mis padres: **Norberto (†) y Yolanda***

*A mis hermanas: **Rita y Norma***

*A mis Tías: **Rita (Erre) (†), Paulita (Tale) (†) y Rosa (Locha) (†)***

*A mis Tíos: **Marte, Samuel y Adrián***

*A **Fortunato y Consuelo**, mis padres adoptados y adoptivos*

*Quienes me han enseñado a **VIVIR***

ÍNDICE

ABREVIATURAS	<i>viii</i>
INTRODUCCIÓN	1
ESCLEROSIS MESIAL TEMPORAL, LÓBULO TEMPORAL Y ENTIDADES NOSOLÓGICAS	2
<i>Antecedentes</i>	2
HIPOXIA	7
<i>Encefalopatía Hipóxico-Isquémica</i>	8
<i>Patrones Lesionales Histopatológicos</i>	10
<i>Patrones Radiológicos</i>	11
Clasificación	11
ESCALA DE APGAR	14
EL HIPOCAMPO	20
<i>Función del Hipocampo</i>	20
<i>Generalidades</i>	21
<i>Anatomía Macroscópica y Microscópica</i>	22
Estructura Externa	32
Estructura Interna	37
<i>Anatomía Radiológica</i>	39
<i>Estudio Microscópico e Inmunohistoquímico del Hipocampo</i>	48
Muerte Celular por Apoptosis	49
Antígeno Nuclear de Proliferación Celular	51
Factor Inducido por Hipoxia (HIF-1 α)	52
Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF)	52
Esfingosina 1-Fosfato	54
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	56
MATERIAL Y MÉTODOS	58
<u>A. ESTUDIO RADIOLÓGICO</u>	59
POBLACIÓN DEL ESTUDIO RADIOLÓGICO	59
<i>Características de la Población del Estudio</i>	60

Criterios de Inclusión	60
Criterios de Exclusión	60
MÉTODOS DEL ESTUDIO RADIOLÓGICO	61
<i>Diseño del Estudio</i>	61
<i>Protocolo de Resonancia Magnética</i>	61
Preparación del Paciente	63
Recomendaciones de Seguridad	64
Obtención de Imágenes	64
Imagen de Difusión: DWI EPI	64
Difusión	66
<i>Interpretación de Imágenes</i>	66
<u>B. ANTECEDENTES CLÍNICOS</u>	66
DEFINICIÓN DE VARIABLES	66
MÉTODO ESTADÍSTICO	68
<u>C. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO</u>	69
SOLUCIONES Y REACTIVOS EMPLEADOS	69
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	70
<i>Tinción Klüver-Barrera</i>	71
Soluciones	71
Protocolo	71
Resultados	72
<i>Técnica Inmunohistoquímica</i>	72
<i>Evaluación de la Expresión Proteica</i>	73
TUNEL	74
Protocolo	74
<u>ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE</u>	
<u>INVESTIGACIÓN MÉDICA</u>	76
<u>ANEXO 2: FORMA DE DATOS GENERALES Y FAMILIARES</u>	81
RESULTADOS	84
RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS	85

<i>Cambios Histopatológicos</i>	85
<i>Estudio de la Proliferación Celular</i>	88
<i>Factor Inducido por Hipoxia (HIF-1α)</i>	90
<i>Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF)</i>	90
<i>Receptor 1 de la Esfingosina 1-Fosfato (S1PR1)</i>	91
RESULTADOS RADIOLÓGICOS	95
RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LOS ANTECEDENTES CLÍNICOS	133
DISCUSIÓN	144
CONCLUSIONES	155
RESUMEN	157
SUMMARY	167
REFERENCIAS	176

ABREVIATURAS

ADC:	Apparent Diffusion Coefficient
ATP:	Adenosina Trifosfato
CA:	<i>Cornus Ammonis</i>
CE:	Corteza Entorrinal
CO:	Monóxido de carbono
DWI:	Diffusion Weighted Imaging
EHI:	Encefalopatía Hipóxico-Isquémica
EMT:	Esclerosis Mesial Temporal
eNOS	Óxido Nítrico Sintasa Endotelial
ER:	Esfuerzo Respiratorio
FC:	Frecuencia Cardíaca
FLAIR:	Recuperación de Inversión Atenuada de Fluido
GD:	Giro Dentado
IR:	Inversión-Recuperación
IRM:	Imagen por Resonancia Magnética
Hb:	Hemoglobina
HIF:	Factor Inducido por Hipoxia
ILAE:	International Consensus Classification of Hippocampal Sclerosis in Temporal Lobe Epilepsy
iNOS:	Óxido Nítrico Sintasa Inducible
nNOS:	Óxido Nítrico Sintasa Neuronal
NO:	Óxido Nítrico
PCNA:	Antígeno Nuclear de Proliferación Celular
PET:	Tomografía de Emisión de Positrones
PO ₂ :	Presión de Oxígeno
RM:	Resonancia Magnética
RMN:	Resonancia Magnética Nuclear
RN:	Recién Nacido
S1P:	Esfingosina 1-Fosfato

S1PRs:	Receptores de Esfingosina 1-Fosfato
SK:	Esfingosina Quinasa
SN:	Sistema Nervioso
SNC:	Sistema Nervioso Central
T1/T2:	Tiempos de Relajación
TC:	Tomografía Computarizada
TNF:	Factor de Necrosis Tumoral
VEGF:	Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular

INTRODUCCIÓN

ESCLEROSIS MESIAL TEMPORAL, LÓBULO TEMPORAL Y ENTIDADES NOSOLÓGICAS

Antecedentes

El hipocampo, como estructura de sustancia gris del sistema nervioso central, se encuentra asociado a una serie de patologías diversas; aunque debe señalarse que es raro que el hipocampo sea el asiento único de enfermedad; está sujeto a las mismas patologías que afectan a otras áreas corticales, pero es particularmente vulnerable al trauma, la hipoxia e, incluso, la hipoglucemia.

La Esclerosis Mesial Temporal (EMT) es el término utilizado para la gliosis del hipocampo con pérdida de la población neuronal, particularmente de la región CA1 (Fig. 1),^{1,2} así como del subículo, giro dentado y corteza entorrinal. Se observa en pacientes ancianos con deterioro cognitivo.

Dickson *et al.*,³ en 1994, encontraron EMT en el 26% de los pacientes mayores de 80 años con demencia, en contraste con el 16% registrada en el total de individuos del mismo grupo de edad; sin embargo, esta afección se hallaba relacionada principalmente con lesiones hipocámpicas debidas a una alteración vascular. En población joven, la EMT es el sustrato patológico de enfermedades tales como la epilepsia; por lo que cabe preguntarse si realmente se trata de la misma patología para dos entidades nosológicas que comparten su etiología, o si más bien se trata de fenómenos distintos con etiologías diferentes. La EMT asociada a epilepsia podría tratarse como un fenómeno degenerativo que no depende necesariamente de hipoxia, como en los cuadros demenciales, o crisis febriles.

La EMT cobra importancia si tenemos en cuenta estudios como el de Ng *et al.*;⁴ estos autores, en un estudio abierto retrospectivo de 3100 pacientes, describen una prevalencia del 0.77% en población pediátrica. En dicho estudio, todos los casos de EMT encontrados (24/3100) correspondieron a pacientes con epilepsia o

antecedentes de crisis febriles, no habiendo casos de EMT en población pediátrica sin cuadro o antecedente de epilepsia.⁴

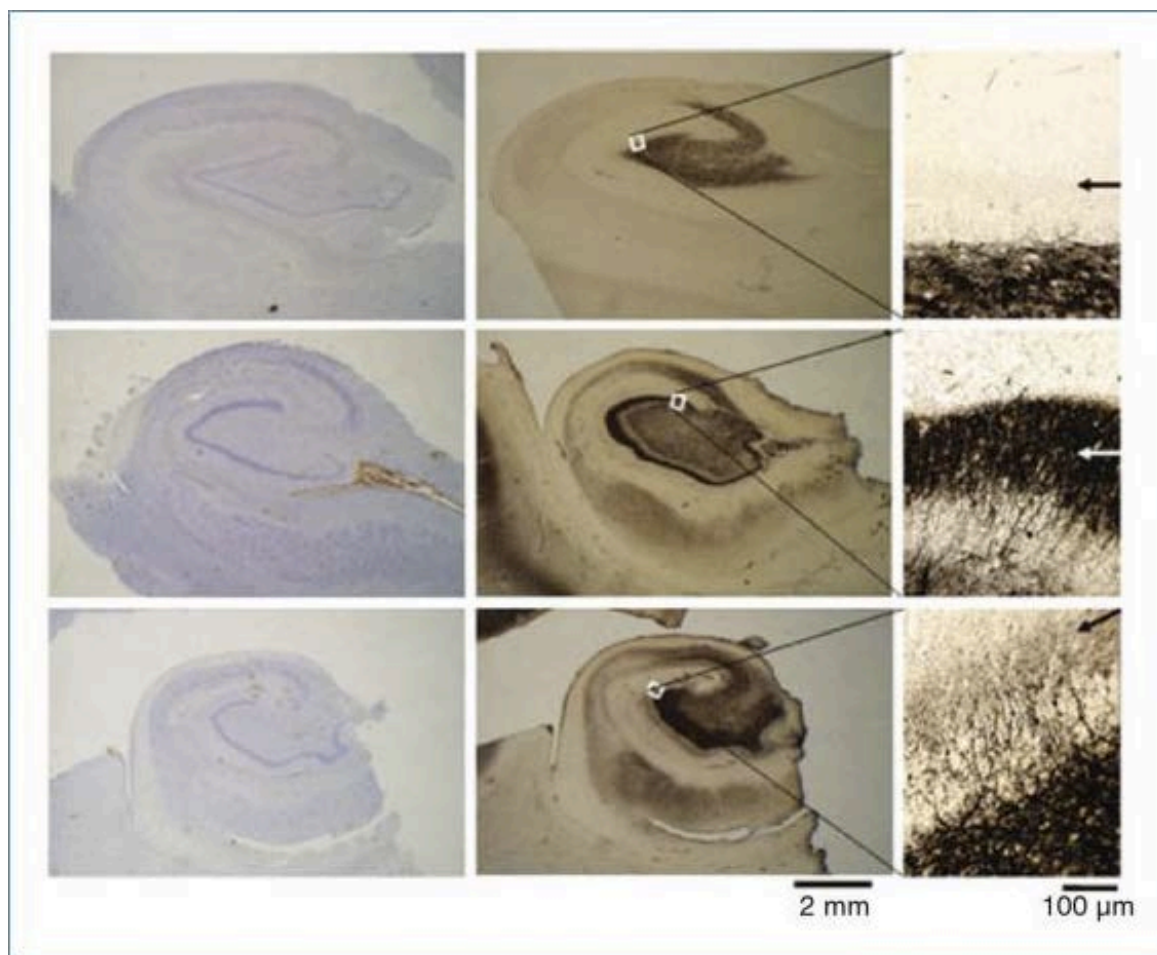


Figura 1. Imágenes de Hipocampo. Lado izquierdo: tinción de Nissl; columnas media y derecha: Neo-Timm. (Tomado de Panayiotopoulos¹ y Andradé-Valença *et al.*²).

Arriba: Hipocampo normal

Medio: Esclerosis Mesial Temporal. Caso de EMT Esporádico, se observa pérdida celular y dispersión de la fascia dentada, además de abundante arborización de las fibras musgosas en la capa molecular interna.

Abajo: Esclerosis Mesial Temporal Familiar, se observa también la pérdida celular y la dispersión de la fascia dentada pero con pobre arborización de las fibras musgosas.

En estudios previos, Ng *et al.*⁵ evaluaron la prevalencia de la EMT en niños; revisaron 390 IRM por indicaciones diversas y encontraron 12 casos (3.1%) de EMT. Al analizar únicamente las Imágenes de Resonancia Magnética (IRM) realizadas por un cuadro de Epilepsia, observaron 12 casos de EMT entre 99 pacientes, dando una

prevalencia del 12.1% y corroborando que en todos los casos con EMT había un cuadro de epilepsia. Farina *et al.*⁶ demostraron que en pacientes pediátricos con crisis epilépticas prolongadas existen cambios en la secuencia de difusión de la IRM de encéfalo, y posteriormente (de 2 a 18 meses) desarrollan EMT.⁶

En general, las epilepsias parciales focales son las más frecuentes,⁷ ya sean parciales simples, parciales complejas o parciales secundariamente generalizadas y, de estas, la localización más frecuente es en el lóbulo temporal, con un 60%.⁸ (Fig. 2).

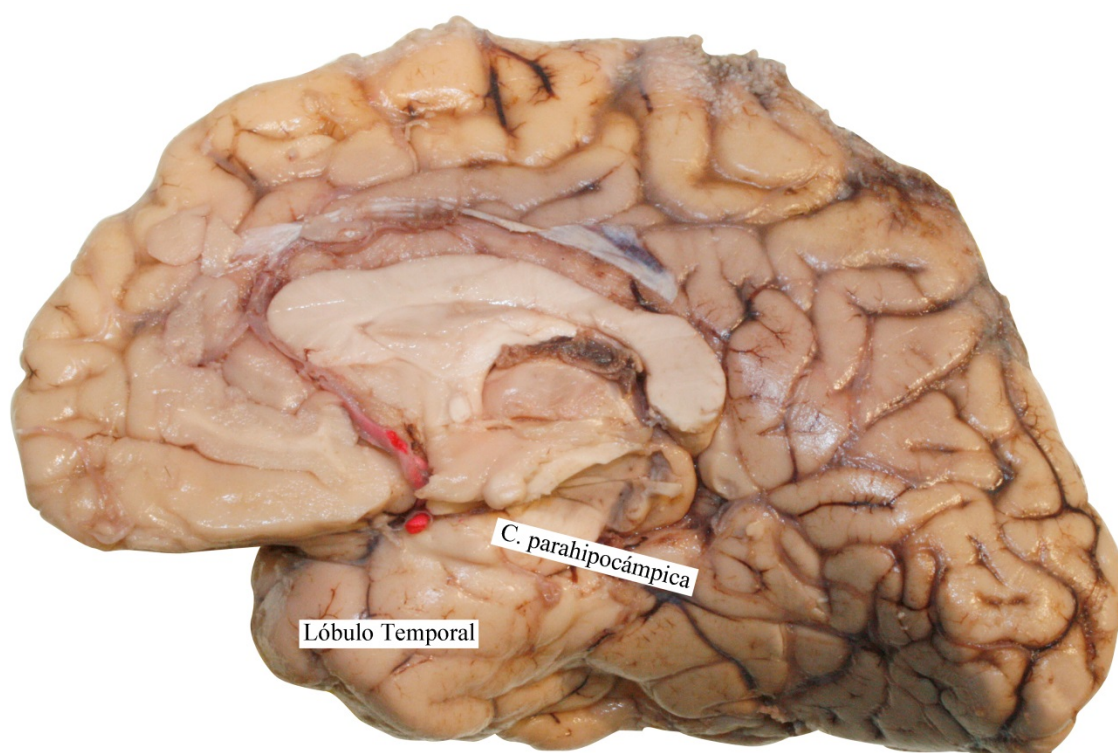


Figura 2. Vista medial del encéfalo, lóbulo temporal. Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Estudios de población con epilepsia han demostrado que, en el adulto, las crisis parciales complejas son las predominantes (55%),⁹ y, de éstas, el 60% se origina en el lóbulo temporal.⁹ Por otro lado, la epilepsia de lóbulo temporal se encuentra relacionada con la EMT, que consiste en atrofia del hipocampo (formación del hipocampo), en el 50% de los casos.⁸ (Fig. 3).



Figura 3. Gliosis hipocámpica (pieza quirúrgica). Nótese la atrofia en el hipocampo. (Cortesía Dr. S. Pérez).

La EMT se presenta en un 35% a 65% de los casos quirúrgicos por epilepsia en dicho lóbulo; suele asociarse a crisis parciales complejas, siendo más frecuente la presentación unilateral, pero puede encontrarse en forma bilateral hasta en un 10 a 15% de los casos.⁸

La factibilidad quirúrgica estriba en el hecho de tratarse de una lesión circunscrita, bien localizada y accesible al cirujano con una buena tasa de éxito quirúrgico; entendiéndose por esto control de crisis e incluso curación de la epilepsia.

La Esclerosis Mesial Temporal puede ser focal o difusa, unilateral o bilateral; su etiología se ha relacionado históricamente con sufrimiento fetal y, por ende, con afección hipóxico-isquémica, cuadros de meningitis o encefalitis previa.¹⁰ En estudios retrospectivos se ha observado que un daño cerebral en edad temprana, tal como una crisis epiléptica prolongada o una crisis febril, puede asociarse con la presencia de una EMT posterior a un periodo de latencia, en donde a partir de una lesión irreversible ocurren cambios estructurales y funcionales del hipocampo,¹¹ existiendo aparentemente una mayor predisposición en estas edades tempranas (relacionada

con la edad);¹² sin embargo, sólo del 2 al 7% de los niños con crisis febriles desarrollan epilepsia¹³ y muestran la evolución de la EMT posterior a la presencia de crisis febriles prolongadas en estudios seriados de IRM.¹⁴

En adultos, se reconoce la aparición de EMT posterior a episodios de estado epiléptico.^{15,16} En los últimos años se ha desarrollado una teoría basada en la existencia de una malformación de base en el hipocampo como anomalía primaria que predispone a esclerosis hipocámpica y crisis febriles.^{17,18} Además, se ha observado que los cerebros con esclerosis hipocámpica muestran una persistencia anormal de células Cajal-Retzius calretinin positivas, éstas células desempeñan un papel principal en la organización neuronal del cerebro en desarrollo a través de la secreción de la reelina, detectándose un incremento de las mismas en los casos de EMT y crisis febriles que podrían corresponder a una respuesta de lesión en etapa temprana que altera el desarrollo del hipocampo.¹⁹

Recientemente, se ha llevado a cabo un trabajo conjunto en la *International Consensus Classification of Hippocampal Sclerosis in Temporal Lobe Epilepsy* (ILAE) para clasificar histológicamente la esclerosis del hipocampo, determinándose 3 tipos con las siguientes características:

- Tipo 1: pérdida neuronal en las regiones CA1 y CA4; en general tiene buen pronóstico y suele presentarse con cuadros de epilepsia antes de los 5 años.
- Tipo 2: pérdida neuronal en la región CA1.
- Tipo 3: pérdida neuronal predominando en la región CA4.

Los tipos 2 y 3 están menos estudiados pero parecen conformar síndromes clínicos diferentes.²⁰ En cualquier caso y con estos antecedentes es fácil reconocer la importancia de identificar la EMT y tratar de evidenciar los factores que influyen o no en su aparición en forma temprana.

Con relación a las otras patologías mencionadas, en el caso del cuadro de Alzheimer la pérdida neuronal se observa principalmente en la región CA1, subículo y giro dentado,³ en tanto que en la lesión asociada a hipoglucemia suelen observarse alteraciones citoarquitectónicas en la región del giro dentado, respetando las regiones de CA1 a CA4.²¹

HIPOXIA

Históricamente la lesión hipóxico-isquémica se ha relacionado con la presencia de EMT;²² este hecho obliga a llevar a cabo ciertas consideraciones fisiopatológicas.

La neurona, como todas las células del organismo, requiere un adecuado aporte de nutrientes, particularmente oxígeno; se sabe que el sistema nervioso (SN) es el más susceptible a daño celular por hipoxia, ocurriendo lesión celular a partir de 3 minutos con disminución de la concentración de oxígeno o de la perfusión cerebral. Se entiende por hipoxia al estado de un organismo, tejido o célula sometido a un nivel bajo de oxígeno.

Los mecanismos generales que pueden originar hipoxia se han clasificado de la siguiente manera:

- Hipoxia anémica. Cualquier decremento de la Hemoglobina (Hb) disminuye la capacidad de transporte de oxígeno.
- Intoxicación por monóxido de carbono (CO). En este caso la unión de CO con la hemoglobina (Hb) vuelve a esta última indisponible para transportar el oxígeno, ya que existe una afinidad 400 veces mayor al CO que al oxígeno.
- Hipoxia respiratoria. Asociada a fallo pulmonar, puede ocurrir por hipoventilación, shunts (cortocircuitos) y por alteración de la relación perfusión-ventilación alveolar.

- Hipoxia asociada a cortocircuitos extrapulmonares. Como los asociados a malformaciones cardíacas congénitas.
- Hipoxia circulatoria. Como en la anemia hipóxica la PO_2 es normal, pero la PO_2 tisular está disminuida a consecuencia de una perfusión tisular disminuida.
- Hipoxia por un incremento de los requerimientos de oxígeno. Como en la tirotoxicosis y el ejercicio intenso.
- Hipoxia por uso inapropiado de oxígeno. Como el asociado a envenenamiento por cianuro y otros venenos, también conocida como hipoxia histotóxica.
- Hipoxia órgano-específica. Asociada a una disminución en la circulación de un órgano específico por obstrucción arterial o vaso-espasmo. Ésta es la que nos atañe particularmente para nuestro estudio.

Encefalopatía Hipóxico–Isquémica

La encefalopatía hipóxico–isquémica (EHI) se considera la causa más frecuente de daño neurológico,²³⁻²⁶ y ha sido definida como el síndrome que presenta el recién nacido secundario a hipoxia o isquemia, debido a la disminución del oxígeno y flujo sanguíneo en el sistema nervioso central. Este síndrome cursa con alteración de las funciones neurológicas en los primeros días de vida, dificultad para iniciar y mantener la respiración, depresión del tono muscular y de los reflejos, estados anormales de la conciencia y, en algunos casos, presencia de convulsiones.

En infantes (forma tardía), el daño neurológico perinatal es considerado como la lesión del cerebro que altera la integridad estructural y funcional del sistema nervioso en desarrollo, secundario a un evento perinatal y que condiciona deficiencias neurológicas no progresivas.²⁰ Representa una causa frecuente de secuelas neurológicas, tales como: epilepsia, parálisis cerebral, retardo mental, alteraciones sensoriales y trastornos del aprendizaje en pre-escolares.

Se estima que entre 2 y 9 de cada 1.000 recién nacidos a término sufren asfixia antes o durante el parto.²⁶ Aproximadamente entre el 15 y el 20% de ellos fallecen en el periodo neonatal. De los que sobreviven, el 25% presenta déficit neurológico. La incidencia de encefalopatías del recién nacido en diversos estudios epidemiológicos de neurología neonatal refieren entre 1.9 y 3.8 por cada 1.000 nacidos vivos.^{25,27} En el neonato a término, la asfixia intrauterina e intraparto es la responsable del 80 al 90% del síndrome hipóxico-isquémico.^{24,28-31}

El conocimiento y comprensión de los mecanismos subyacentes al daño cerebral por hipoxia isquémica han avanzado con rapidez en los últimos años.³² Entre los mecanismos para la producción de la alteración neurológica, la deficiencia en la oxigenación del tejido es el factor más importante, y este déficit de oxigenación puede ocurrir por hipoxemia (disminución del oxígeno a nivel sanguíneo), o por isquemia (disminución de la perfusión sanguínea en el tejido), pudiendo tener lugar de forma independiente o simultánea.^{33,34}

La hipoxia provoca alteración en la fisiología celular y, por ende, anomalías bioquímicas que contribuyen a la disfunción celular, particularmente del SNC del recién nacido; dichas alteraciones incluyen cambios en la fosforilación oxidativa del metabolismo anaeróbico, el cual se vuelve altamente ineficiente produciendo un agotamiento rápido de adenosina trifosfato (ATP), acumulación de lactato intracelular, y la consiguiente alteración de la función de la membrana celular (despolarización), dando lugar a una afección en el intercambio iónico y líquido entre los espacios intra y extracelulares. Aquí radica la importancia de la secuencia de difusión por IRM que detecta las anomalías de intercambio de líquidos, como se comentará más adelante, y, por supuesto, la liberación de aminoácidos excitatorios, tales como el glutamato y el aspartato, que participan en el proceso lesional neuronal.³⁵

Patrones Lesionales Histopatológicos

Durante estos episodios de hipoxia, además de las neuronas otras células de diversa índole pueden quedar afectadas en el sistema nervioso, como las de la glía, dando lugar a afecciones también diversas. De acuerdo a la lesión establecida y las estructuras afectadas, se ha podido identificar y clasificar una serie de patrones lesionales histopatológicos en el Sistema Nervioso Central que son: necrosis neuronal selectiva, status marmoratus, alteraciones parasagitales, daño focal y multifocal y leucomalacia paraventricular. Estos patrones dependen principalmente de la naturaleza misma de la alteración y de la edad gestacional en el momento del daño.^{31,33}

La **necrosis neuronal selectiva** se caracteriza por daño neuronal en diversas regiones del SNC, siendo las neuronas las que muestran una mayor sensibilidad a la privación de oxígeno. La región CA-1 del hipocampo, las capas más profundas de la corteza cerebral y las células de Purkinje son las más sensibles y, por tanto, las que se lesionan con mayor frecuencia. Otras regiones incluyen el colículo inferior, los núcleos oculomotor y troclear, núcleos del nervio facial y trigémino y núcleo motor dorsal del vago.³⁶ Es este patrón el que nos ocupa en el presente proyecto, por su relación con el lóbulo temporal.

Status marmoratus. Se presenta en los ganglios basales (caudado, putamen, pálido) y el tálamo. Aparte de muerte neuronal existe una respuesta de gliosis e hipermielinización; es mucho más frecuente en niños a término.³⁷

Daño cerebral parasagital (infarto limítrofe). Representa la lesión cortical por hipoperfusión en las regiones limítrofes entre las diferentes arterias cerebrales (anterior, media y posterior). Se relaciona con hipoxia severa y también se observa en ancianos que presentan una hipoperfusión asociada con un bajo gasto cardíaco, como por ejemplo arritmias cardíacas.

Daño cerebral isquémico focal y multifocal. Este daño ocurre en la distribución vascular, respetando la anatomía vascular.

Patrones Radiológicos

Una vez establecida la clasificación de los patrones de lesión histopatológicos, se han ido reconociendo también los patrones radiológicos de lesión hipóxico-isquémica en el neonato, los cuales han ido evolucionando y, en últimos años, de forma particularmente importante y acelerada a partir de la introducción de la IRM.

En la actualidad, se reconocen cuatro patrones distintos de lesiones cerebrales, siendo la resonancia magnética la modalidad más sensible para evaluarlos. Esta clasificación guarda relación con:

- a) Las diferencias en la madurez del cerebro (asociadas con la edad del neonato) en el momento del daño.
- b) La gravedad de la hipotensión y la duración de la misma.

Clasificación

- En neonatos prematuros
 1. La hipotensión leve causa lesiones periventriculares.
 2. La hipotensión severa se presenta como infarto de la materia gris, tronco encefálico y cerebelo.
- En recién nacidos a término
 3. La hipotensión leve causa una lesión parasagital cortical y subcortical.
 4. La hipotensión severa causa lesión característica del tálamo, putamen posterior, hipocampo, zona cortico-espinal y corteza sensoriomotora.³⁸

Los patrones de lesión cerebral leve a hipoperfusión moderada se pueden observar esquematizados en la figura 4.

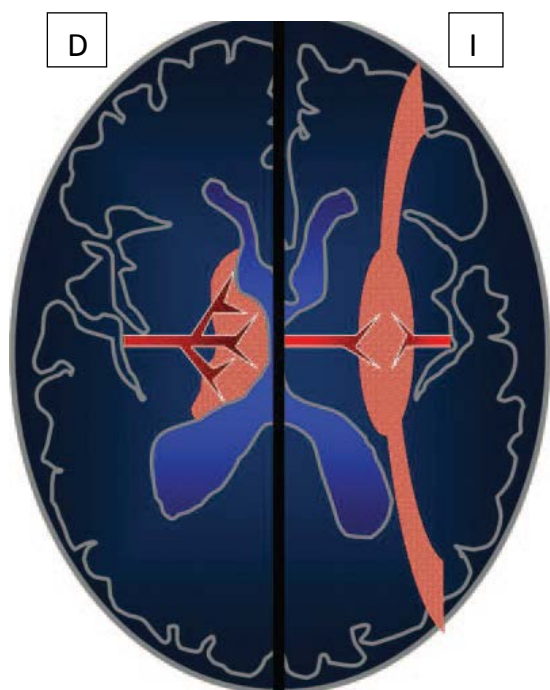


Figura 4. Esquema en el que se muestran los cambios en el aporte vascular con la maduración y cómo afecta al patrón de lesión cerebral en EHI. D: derecha (prematuros); I: izquierda (a término).

En el paciente prematuro tiene un patrón vascular ventriculopetal y una hipoperfusión periventricular de la sustancia blanca.

En el paciente a término se presenta un patrón ventriculofugal, el patrón vascular se desarrolla a medida que el cerebro madura y la zona de hipoperfusión es más periférica con involucro a sustancia blanca subcortical y lesiones corticales parasagitales.³⁹

Seguidamente se muestran ejemplos de pacientes con los diferentes patrones radiológicos de afección hipóxico-isquémica (Figs. 5-7).

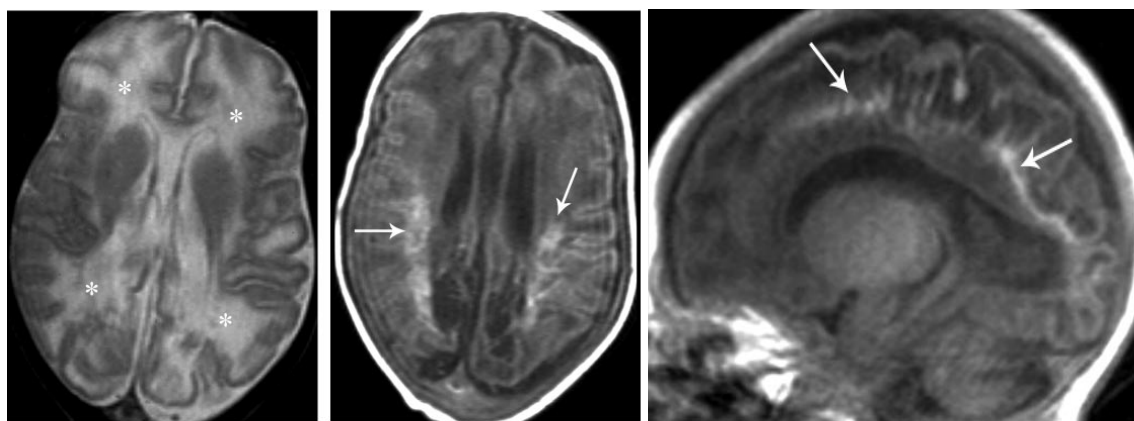


Figura 5. Paciente prematuro de 30 semanas con hipotensión moderada. Imagen a la izquierda ponderada en T2, muestra hiperintensidades en la sustancia blanca periventricular; imágenes central y derecha ponderadas en T1, muestran hiperintensidad curvilínea en sustancia blanca periventricular correspondientes a zonas de hemorragia.⁴⁰



Figura 6. Paciente prematuro de 34 semanas con hipotensión severa. Imagen ponderada en secuencia eco gradiente, en la que se muestra hemorragia parenquimatosa en sustancia gris profunda de lado izquierdo (asterisco).⁴⁰

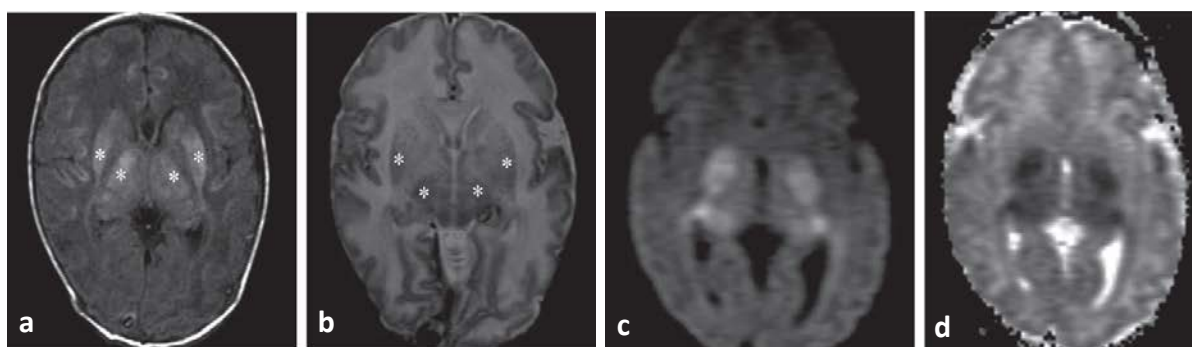


Figura 7. Paciente a término de 36 semanas con hipotensión severa. **a)** Imagen ponderada en secuencia de T1, muestra hiperintensidades en región posterior del putamen y porción lateral del tálamo. **b)** Imagen ponderada en secuencia de T2, muestra hipointensidades en región posterior del putamen y porción lateral del tálamo. **c)** Difusión, presenta áreas hiperintensas que representan restricción al movimiento de líquidos. **d)** Mapa de ADC (apparent diffusion coefficient), las mismas áreas se observan hipointensas.⁴⁰

También puede observarse un patrón radiológico asociado con un evento vascular cerebral por afección en un vaso arterial específico; en este caso, la imagen de infarto se circunscribe al territorio vascular correspondiente y es visible en secuencias de T1 9 horas después del mismo y, en la secuencia T2, desde las primeras 4 horas. La secuencia que permite apreciar alteración de la señal en los primeros minutos de dicho episodio es la secuencia de difusión; en ella, se observa una zona hiperintensa (brillante) que corresponde al territorio vascular afectado (Fig. 8),

aunque con las otras secuencias no se evidencie anomalía alguna, ya que esta secuencia especial permite evaluar alteraciones en el intercambio entre las regiones intra y extracelular, como se explicará más adelante.

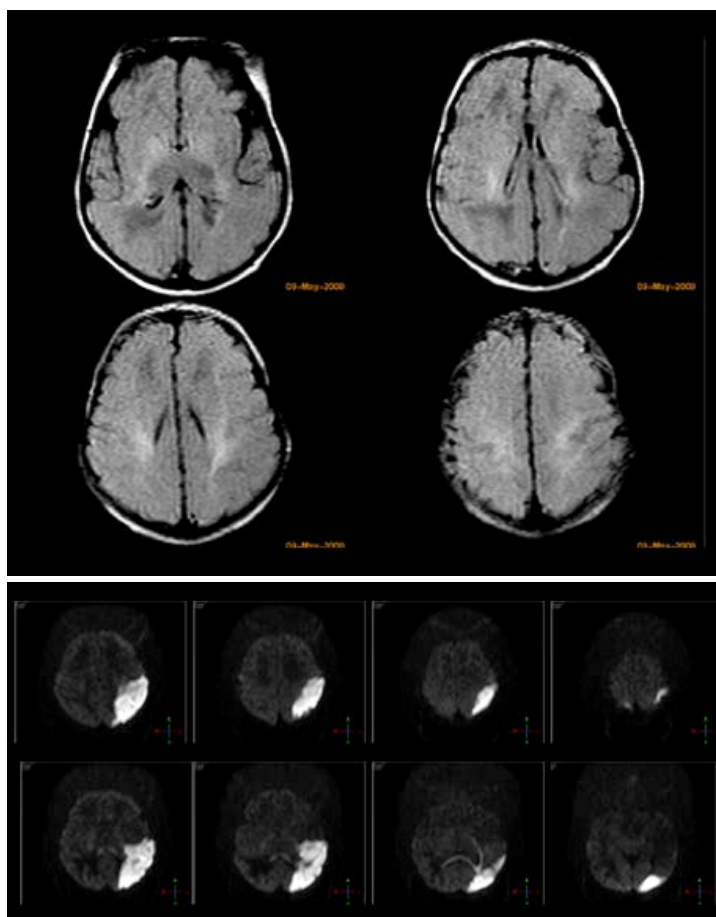


Figura 8. IRM en paciente neonato con evento vascular cerebral. Arriba, secuencia FLAIR que no muestra anomalía alguna. Abajo, el mismo paciente con la secuencia de difusión mostrando el área hiperintensa (brillante) en la región occipital. (Cortesía Dres. Francisco García Quintanilla y Alfonso Gil).

ESCALA DE APGAR

En 1953 la Dra. Virginia Apgar (1909-1974),⁴¹ médico anestesiólogo, propuso evaluar la vitalidad de los recién nacidos (RN) inmediatamente después del nacimiento a través de cinco signos clínicos objetivos y fáciles de describir, y relacionar el resultado con algunas prácticas anestésicas y obstétricas. Los signos clínicos que se establecieron fueron los siguientes (Tabla 1):

- **Frecuencia cardíaca (FC).** Se considera el más importante en términos de diagnóstico y de pronóstico. A una FC de 100 a 140 por minuto se le otorgó una puntuación de dos, si se encontraba la FC bajo 100 obtenía una puntuación de uno, y si no existía latido cardíaco una puntuación de cero.
- **Esfuerzo respiratorio (ER).** Un niño en apnea o con respiraciones débiles tipo jadeo al minuto de nacer obtenía una puntuación de cero, mientras que uno con respiración o llanto vigoroso conseguía un dos. Un ER muy irregular o débil recibía una puntuación de uno.
- **Irritabilidad refleja.** Se refiere a la respuesta a estímulos. El método usual era observar la respuesta al aspirar la región bucofaríngea o narinas con una sonda de goma; si el niño respondía con estornudos o tos, obtenía una puntuación igual a dos, si sólo hacía muecas faciales, era un uno y, si no había respuesta, se le otorgaba un cero.
- **Tono muscular.** Era un signo fácil de evaluar; la completa flacidez recibía puntuación cero, y un buen tono con flexión de extremidades tenía puntuación dos.
- **Color.** Era el signo más insatisfactorio en su evaluación y causaba muchas discusiones entre los observadores. Si había color “rosado” o “normal” en todo el cuerpo se daban 2 puntos, la acrocianosis se puntuaba con 1 punto, y la cianosis generalizada obtenía cero puntos. Todos los niños eran obviamente cianóticos al nacer. La desaparición de la cianosis dependía directamente de dos de los signos anteriores, frecuencia cardíaca y esfuerzo respiratorio. Comparativamente, a pocos niños se les otorgaba puntuación dos en color y varios recibían cero. Muchos niños, por razones misteriosas en esa época, persistían con cianosis de manos y pies a pesar de una excelente ventilación y estar recibiendo oxígeno. Cientos de niños, al ser evaluados a

los 5 y 10 min, no lograban la puntuación de diez por persistir la cianosis distal.

El estudio de la Dra. Apgar⁴¹ consistió en estandarizar la evaluación de los RN a través de los signos descritos, se hizo además un análisis del efecto de algunos tipos de anestesia y se relacionó el resultado obtenido con las muertes neonatales. Ingresaron 2.096 neonatos. Entre los RN a término (n=1.019) hubo 65 niños con puntuación entre 0 y 2, de los que fallecieron el 14% (9/65); entre los niños con puntuación de 8 a 10, fallecieron el 0,13% (1/772). La Dra. Apgar concluyó que el pronóstico del RN era bueno si obtenía una puntuación mayor de tres, y era muy pobre si la puntuación era menor. Este trabajo fue publicado en la revista *Anesthesia and Analgesia* en 1953.⁴¹ El sistema de evaluación propuesto por ella significó tener una persona que atendiera a los neonatos en la sala de partos y fue rápidamente adoptado en todos los centros de EEUU y, posteriormente, en todo el mundo. Se ha llegado a decir que cada niño que nace en cualquier parte del mundo es mirado a través de los ojos de Virginia Apgar.

El Test de Apgar ha sido muy controvertido debido a su uso para diagnosticar asfixia al nacer.^{41,42} En este sentido, el International Classification of Disease define asfixia moderada cuando el Apgar al minuto es igual o inferior a 6 y, asfixia severa, cuando el Apgar al minuto es menor de 3. La utilidad de esta puntuación se cuestiona porque no siempre se correlaciona con el estado ácido base del paciente,⁴³ la evolución clínica y, lo que es más importante, con el pronóstico neurológico. Un Apgar bajo sin duda indica una condición anormal, pero no implica ninguna causa específica. Una puntuación baja puede ser debida a asfixia, uso de drogas, traumatismo obstétrico, hipovolemia, infección u otras anomalías.

Los elementos del test de Apgar, como tono, irritabilidad refleja, esfuerzo respiratorio, dependen de la madurez y, por ello, los RN prematuros presentan Apgar bajo sin evidencias bioquímicas de asfixia. El tono muscular del prematuro de 28

semanas es típicamente flácido, presentan hipotonía generalizada y su esfuerzo respiratorio es insuficiente por inmadurez del centro respiratorio y parrilla costal débil. Mientras más prematuro es el RN, el Apgar tiende a ser más bajo en presencia de pH en arteria umbilical normal. Existen numerosos trabajos que evidencian estos datos.

Goldenberg *et al.*,⁴⁴ al estudiar 608 RN entre 28 y 36 semanas de gestación, observaron que el 83% de los RN menores de 28 semanas tenían Apgar menor de 7 al minuto con acidemia de cordón normal, y un 50% presentaban un Apgar bajo a los 5 minutos.⁴⁴ Catlin *et al.*⁴⁵ estudiaron la influencia de la edad gestacional sobre el test de Apgar, analizaron 72 RN de pretérmino y observaron que, a medida que disminuía la edad gestacional, la puntuación de Apgar era menor, tanto al minuto como a los 5 minutos.⁴⁵ La inmadurez del sistema nervioso central y del sistema músculo-esquelético, o ambos, parecen ser la causa más frecuente del aumento de la incidencia de Apgar bajo en los prematuros.

Stark *et al.*,⁴⁶ al comparar RN con un bajo peso al nacer similar, observaron que aquellos que eran pequeños para la edad gestacional obtenían una puntuación Apgar significativamente más alta.

La sedación materna o la analgesia pueden disminuir el tono muscular e intervenir en el esfuerzo respiratorio, es el caso del diazepam o del sulfato de magnesio usado en las madres con pre-eclampsia, lo mismo ocurre con el uso de anestésicos generales. Ciertas condiciones neurológicas, como malformaciones del sistema nervioso central, son responsables del escaso esfuerzo respiratorio y/o apnea; las enfermedades neuromusculares pueden determinar un tono muscular disminuido y respiración ineficaz. Las infecciones pueden interferir con el tono muscular, el color y la respuesta a los esfuerzos de reanimación. Por otro lado, la puntuación de Apgar está sometida también a la subjetividad del examinador, siendo asignado y anotado a menudo de forma retrospectiva.

Tabla 1. Puntuación Apgar

Factor de Apgar	Puntuación		
	2	1	0
Frecuencia cardíaca	> 100/min	< 100/min.	Ausente (sin pulso)
Esfuerzo Respiratorio	Llanto vigoroso	Respiración lenta e irregular	Ausente
Irritabilidad (Respuesta refleja)	Lo evita, estornuda o tose	Gesto o mueca facial	Respuesta ausente
Actividad (Tono muscular)	Activo, movimientos espontáneos	Extremidades flexionadas con leve movimiento	Atónico, flácido
Apariencia (Coloración de la piel)	Color normal en todo el cuerpo	Acrocianosis	Cianosis general

En 1981 Nelson y Ellenberg⁴⁷ realizaron un extenso y cuidadoso estudio sobre 49.000 RN revisando la puntuación Apgar a 1, 5, 10, 15 y 20 minutos; sus resultados mostraron que entre los RN a término con puntuación entre 0 y 3 a los 5 minutos, había menos del 1% de parálisis cerebral; si el Apgar se mantenía por debajo de 3 durante 15 minutos, la incidencia de parálisis cerebral entre los RN que sobrevivían era del 9%; sin embargo, si el Apgar continuaba siendo menor de 3 a los 20 minutos, la incidencia de secuelas motoras mayores aumentaba al 57%. Un RN a término con un Apgar entre 0 y 3 a los 5 minutos, y que mejora a los 10 minutos mostrando un Apgar ≥ 4 , tiene un 99% de posibilidades de no tener parálisis cerebral a los 7 años de edad.^{47,48} Estas conclusiones han modificado las teorías médicas sobre la parálisis cerebral y ha motivado a los investigadores de hoy a buscar etiologías diferentes.

En 1996, la Academia Americana de Pediatría⁴⁹ en conjunto con el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología acordaron que la puntuación Apgar no debe utilizarse como evidencia inequívoca de que el daño neurológico es por hipoxia,

aunque sirve para conocer las condiciones del bebé al nacer; también reconocen que para hablar de asfixia perinatal deben concurrir las siguientes condiciones:

1. Apgar bajo, entre 0 y 3 durante más de 5 minutos.
2. Acidemia mixta o acidosis metabólica profunda (pH arteria umbilical menor a 7.0).
3. Manifestaciones neurológicas, como hipotonía, convulsiones o coma.
4. Fallo multiorgánico.

Finalmente, se debe comentar que a pesar de que la historia coloca el examen de Apgar como indicador de asfixia, también ha sido utilizado como un indicador de sobrevida neonatal, siendo éste un punto interesante; existen estudios que demuestran una incidencia de muertes neonatales en recién nacidos a término, con Apgar igual o menor a 3 a los 5 minutos, de 244 por 1.000 nacidos vivos; mientras que para aquellos con Apgar >7 es de 0.2 por 1.000 neonatos.

En resumen, la prueba de Apgar^{50,51} es útil para conocer la condición vital del neonato en los primeros minutos de vida; si se demuestra un Apgar bajo y prolongado puede ser significativo para el pronóstico neurológico. Sin embargo, en la actualidad, para hablar de asfixia se recomienda correlacionar con el pH de arteria umbilical ya que esta última en forma aislada tampoco es evidencia firme de asfixia, debiendo señalar que dicha asociación es válida para reconocimiento de riesgo de parálisis cerebral donde hay una afección difusa; las afecciones de las células del hipocampo, particularmente CA1, son conocidas por ser las más sensibles a la hipoxia, junto a las de Purkinje, y éstas pueden estar lesionadas sin afección del resto del SNC.

Si consideramos que, cuando el test de Apgar es inferior a 6, presenta una sensibilidad del 46,7% y una especificidad del 90% y, cuando es menor de 7, muestra una sensibilidad del 43,5% y una especificidad del 81%, podemos concluir que este

test no posee las características de tamizaje rápido que frecuentemente se le otorgan;⁵² sin embargo, al ser una evaluación de sencilla aplicación y de utilización mundial, con características de confirmación relevantes en presencia de salud, podemos establecerlo como un buen sistema de segmentación.⁵³ En el presente estudio, teniendo en cuenta, de una parte, que el factor de corte inicial de menos de 6 no proporciona una población adecuada y, de otra parte, que no se obtienen diferencias significativas entre las sensibilidades y especificidades entre ambos puntos de corte, aunado todo ello a la subjetividad de la evaluación, hemos decidido ajustar el valor de corte a un Apgar inferior a 7.

EL HIPOCAMPO

Función del Hipocampo

A lo largo de la historia el hipocampo ha subyugado a los neuro-anatomistas debido a las características propias de esta formación nerviosa que ha generado, en esta región en particular, la investigación tanto de anatomía comparada como de neurofisiología entre el humano y otras especies.

A principios del siglo pasado se consideraba al hipocampo como una estructura funcionalmente relacionada con la olfacción debido, en parte, a la relación que se establecía con los bulbos olfatorios y, en parte, a la correlación clínica que se encontraba en animales y pacientes con lesiones en esta región y las aledañas; como ejemplos se encuentran la observación de Jackson y Beevor⁵⁴ en un paciente con lesión en la corteza peri-amigdalina que presentaba alucinaciones olfativas,⁵⁴ así como el caso reportado por Penfield y Erickson⁵⁵ donde un paciente, también con episodios de alucinaciones olfativas, mostraba descargas provenientes aparentemente del hipocampo.⁵⁵ Por el contrario, Brodal afirmaba que el hipocampo no cumplía con esta función ya que en animales anósmicos y micrósmicos existía esta estructura,^{56,57} además de argüir que no había conexiones entre el bulbo olfatorio y el

hipocampo, hecho que fue refutado ulteriormente al demostrarse fibras que ligaban el bulbo olfatorio con las cortezas entorrinal y peri-amigdalina.

En la actualidad se considera que las posibles funciones del hipocampo se pueden dividir en cuatro categorías: modulación de la conducta emocional, memoria y aprendizaje, regulación de funciones hipotalámicas y control motor.

Generalidades

El hipocampo es una estructura de sustancia gris subcortical, localizada en el lóbulo temporal asociado al “sistema límbico” (descrito por Broca, citado por Andersen *et al.*⁵⁶), el cual comprendía una serie de estructuras corticales y subcorticales contiguas en la superficie medial del cerebro circundando al ventrículo, en el límite con el manto cortical; esta región fue reconocida por el mismo Broca como asiento de las emociones en el siglo XIX (citado por Andersen *et al.*⁵⁶).

En los albores del siglo XX (1937), James Papez⁵⁸ propuso un circuito relacionado con la emoción, siendo complejo y con forma de “C” (*Circuito de Papez*). Si bien históricamente se ha relacionado este circuito con la conducción de situaciones emocionales hacia el hipotálamo, actualmente hay un pobre sustrato para esta teoría, y se considera al complejo amigdalino como el rol orquestador de la expresión emocional (citado por Andersen *et al.*⁵⁶).

La región hipocámpica es un área considerada filogenéticamente primitiva; a diferencia de la neocorteza que tiene seis capas, ésta presenta una citoarquitectura más simple (tres capas), por lo que se conoce como paliocorteza.⁵⁹ (citado por Andersen *et al.*⁵⁶) Aunado a esta característica histológica propia del hipocampo, la anatomía de organización de la información del hipocampo es también particular, ya que a diferencia de los circuitos en la neocorteza, donde la información es bidireccional y recíproca, es decir de “ida y vuelta”, en el hipocampo es unidireccional

(Fig. 9). La corteza entorrinal (CE; EC en Fig. 9) es el punto donde converge la información de entrada de la neocorteza y, a partir de ahí, se dirige consecutivamente hacia el giro dentado (GD; DG en Fig. 9), área CA3, sección CA1 y subículo, y, a partir de éste, de nuevo a la corteza entorrinal (CE; EC en Fig. 9) y a la fimbria y los giros de Retzius; o bien, existe una vía alternativa que va directamente de CA1 a la CE cerrando el circuito.⁵⁶

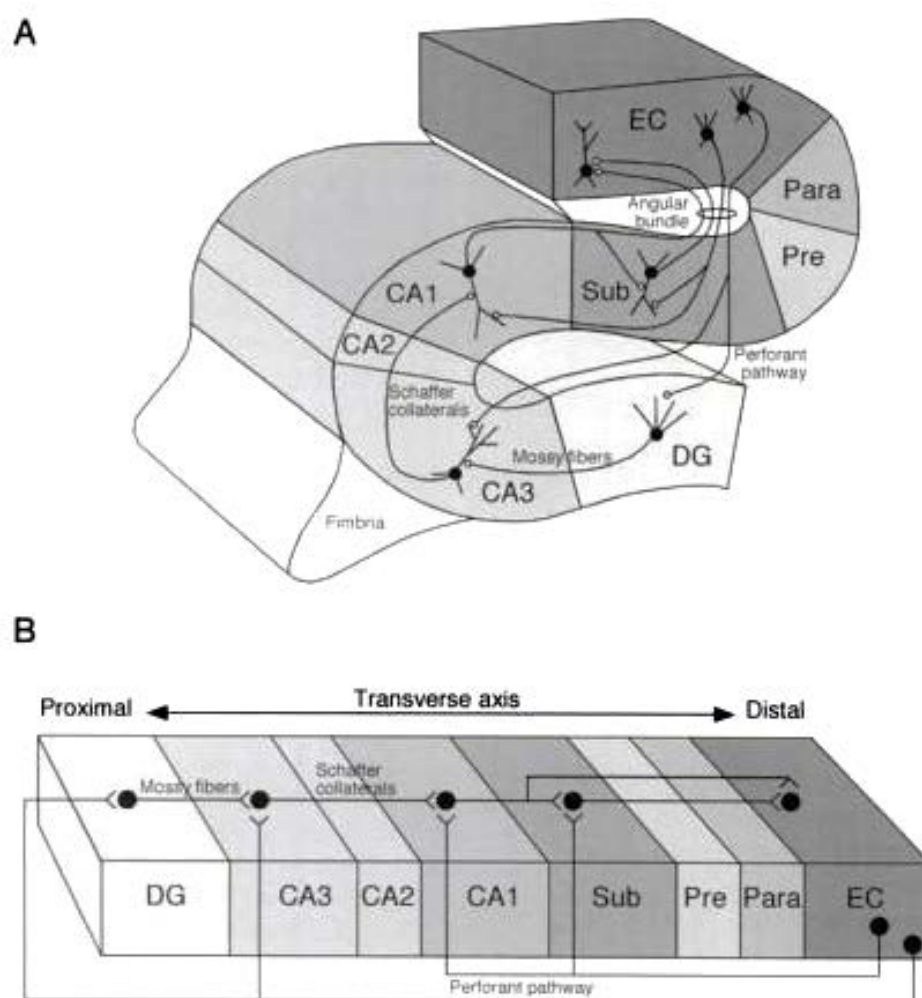


Figura 9. Circuito del hipocampo (tomado de "The hippocampus book").⁵⁶

Anatomía Macroscópica y Microscópica

Los **hemisferios cerebrales**, localizados dentro de la cavidad craneal, son el punto de mayor desarrollo neural, derivan de las vesículas telencefálicas que, a su

vez, provienen del prosencéfalo, y están conformados por la corteza cerebral (córtex ó pallium -manto-) que muestra abundantes prominencias llamadas circunvoluciones ó giros, separadas entre sí por los surcos o cisuras características propias de los animales superiores o girencéfalos. Al inicio, se consideraba que estos giros mostraban una disposición al azar; sin embargo, Gratiolet demostró que existía un patrón específico.⁶⁰ Como es bien conocido, el encéfalo se encuentra dividido en lóbulos por las cisuras interlobulares; en esta ocasión, nos referiremos al lóbulo temporal por ser el motivo de nuestro estudio.

El **lóbulo temporal** forma la base del hemisferio cerebral, consta de una cara lateral o externa y una cara inferior que presenta una dirección compleja al descansar sobre la fosa craneal media y la tienda del cerebelo, teniendo una concavidad con una dirección supero-medial.



Figura 10. 1: 1ª circunvolución temporal, 2: 2ª circunvolución temporal y 3) 3ª circunvolución temporal. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Límites. En su cara externa se encuentra limitado hacia atrás por el lóbulo occipital en una línea imaginaria paralela a la cisura perpendicular interna (visible en la cara medial) (Fig. 10); el límite superior corresponde a la cisura lateral o de Silvio

que lo separa del lóbulo parietal y frontal; su límite anterior es el borde del polo temporal; y el límite medial corresponde al surco hipocámpico (Fig. 11).⁶⁰

Configuración externa. Muestra cinco circunvoluciones con una dirección anteroposterior, paralelas entre sí; las cuales están denominadas en forma secuencial de la primera a la quinta; las circunvoluciones temporales primera, segunda y tercera se observan en la cara lateral del encéfalo; la tercera, cuarta y quinta circunvoluciones temporales se encuentran en la cara inferior, es decir, la tercera circunvolución temporal participa tanto en la cara lateral como en la cara inferior del lóbulo temporal.

La **primera circunvolución temporal** se encuentra por debajo de la cisura de Silvio y está limitada inferiormente por el surco temporal superior, cuenta con dos caras: una cara superior, que contiene la circunvolución transversa de Heschl y que sólo es visible al abrir la cisura de Silvio, y una cara lateral visible.

La **segunda circunvolución temporal** se encuentra limitada superiormente por el surco temporal superior (también llamado paralelo) y el surco temporal inferior.

La **tercera circunvolución temporal** forma el borde inferior del hemisferio cerebral y participa en la cara lateral e inferior tanto del encéfalo como del lóbulo temporal; la cara lateral tiene un límite superior conformado por el surco temporal inferior y se continúa medialmente con la cara inferior, que se encuentra limitada por el surco tèmpero-occipital externo (Fig 11).

La **cuarta circunvolución temporal** (también llamada circunvolución tèmpero-occipital externa) se encuentra limitada lateralmente por el surco tèmpero-occipital externo y medialmente por el surco tèmpero-occipital interno (surco colateral).

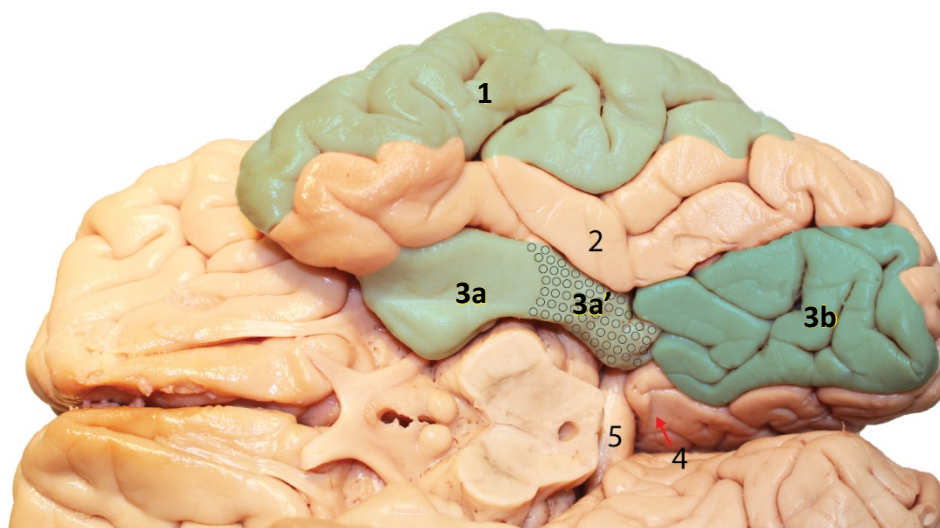


Figura 11. 1: Tercera circunvolución temporal, 2: cuarta circunvolución temporal, 3: quinta circunvolución temporal, 3a: circunvolución parahipocámpica (porción anterior o piriforme), 3a': circunvolución parahipocámpica (porción posterior), 3b: quinta circunvolución temporal (porción posterior) -lóbulo lingual-, 4: istmo (pliegue temporolímbico) y 5: rodete del cuerpo calloso. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

La **quinta circunvolución temporal**, está limitada lateralmente por el surco tèmpero-occipital interno y, medialmente -en sentido postero-anterior- por la cisura calcarina, post-calcarina y el surco del hipocampo; se proyecta desde el lóbulo occipital hasta el uncus del hipocampo y clásicamente se le divide en dos regiones: la posterior (lóbulo lingual) y la anterior o circunvolución del hipocampo (que es la que nos ocupa en este trabajo), cuyo límite entre sí corresponde a una línea imaginaria vertical a partir del rodete del cuerpo calloso.

En un corte sagital, donde se observa la cara medial del encéfalo, se aprecia el **giro límbico** (Fig. 12), región anatómica que incluye las siguientes estructuras corticales en forma secuencial: el giro (área) subcalloso, localizado anteroinferior a la rodilla del cuerpo calloso y anterior al pico de dicha estructura y la lámina terminal, ésta se continúa con la circunvolución del cíngulo (giro cingulado) que rodea al cuerpo calloso y, a través de la región del istmo, prosigue con la circunvolución parahipocámpica.

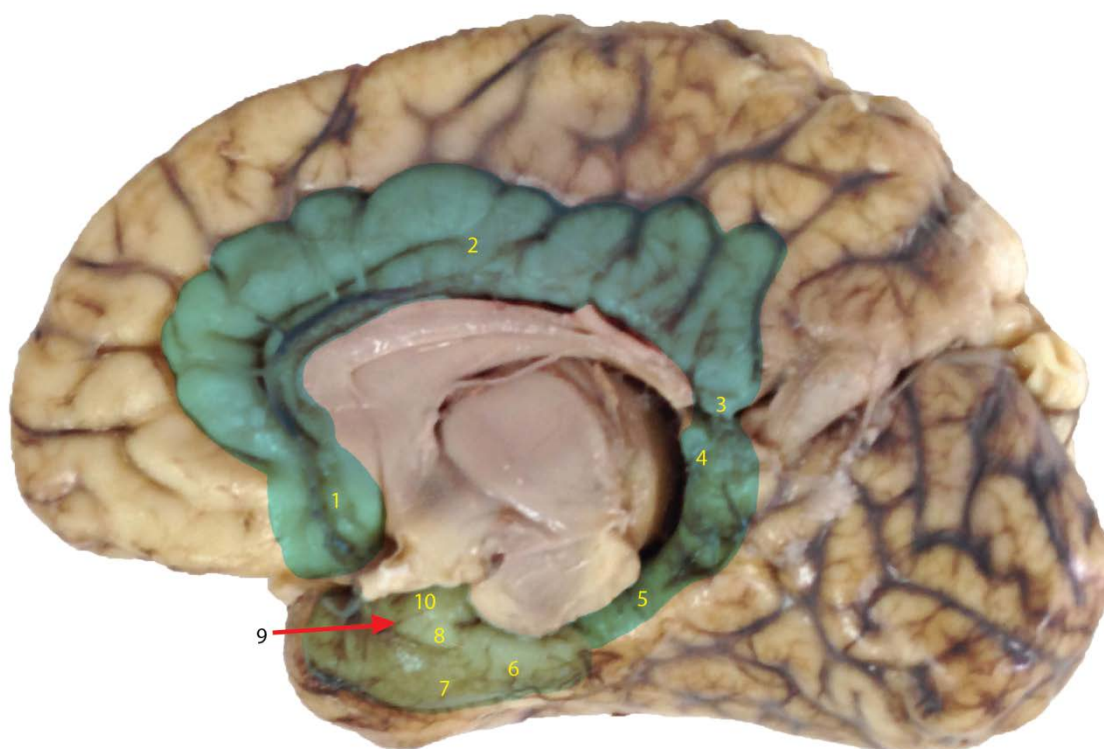


Figura 12. Encéfalo Neonatal, giro límbico. Se observan en el siguiente orden: 1: área (giro) subcallosa, 2: circunvolución del cíngulo, 3: istmo, 4: giros de Retzius, 5: circunvolución parahipocámpica región posterior, 6: (verde claro) circunvolución parahipocámpica región anterior (lóbulo piriforme), 7: corteza entorrinal, 8: giro ambiens, 9: surco semianular, 10: giro semilunar. Nótese en el giro parahipocámpico, el segmento anterior sombreado en verde claro, y el segmento posterior de este giro con la misma tonalidad de sombreado que el resto del giro límbico. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

El **istmo** es una banda cortical estrecha que guarda relación posterior con el rodete (esplenio) del cuerpo calloso, localizándose entre éste y la cisura calcarina en su prolongación más anterior; adyacente al límite entre el istmo y la circunvolución parahipocámpica es posible reconocer unas pequeñas circunvoluciones correspondientes a los giros de Retzius, en ocasiones ausentes, los cuales se encuentran separados de la fasciola cinerea por el surco del hipocampo; anterior al istmo y los giros de Retzius se localiza la circunvolución parahipocámpica, limitada medialmente por el surco hipocámpico y lateralmente por el surco tèmpro-occipital interno (colateral); esta circunvolución parahipocámpica puede ser dividida a su vez en una región posterior, caracterizada por una estructura plana que la remata

superiormente y la fimbria, la cual está separada del propio hipocampo y del subículo por el surco del hipocampo ya mencionado (Fig. 13).

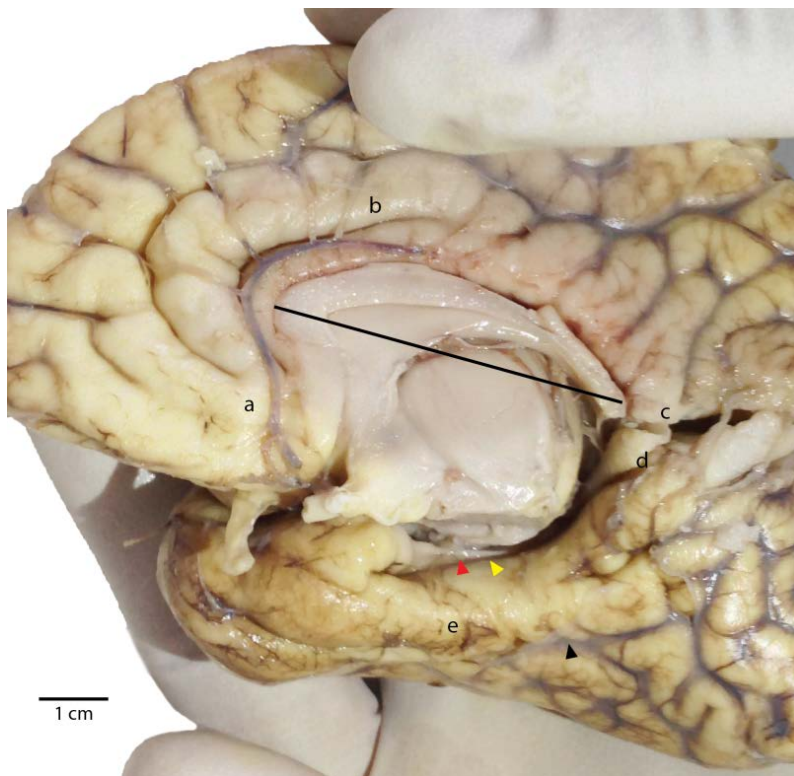


Figura 13. Cara medial (interna) de encéfalo neonatal. Se aprecia el giro límbico conformado por a: área subcallosa, b: circunvolución (giro) del cíngulo, c: corteza retro-esplénica, d: istmo, e: circunvolución (giro) parahipocámpica, f: surco hipocámpico (flecha amarilla), g: fimbria (flecha roja), h: surco tèmporo-occipital interno (colateral) (flecha negra). Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

La región anterior corresponde al **uncus del hipocampo** y la corteza entorrinal (también llamada área piriforme); en esta topografía es importante mencionar el detalle superficial: la continuación anterior del surco colateral es el surco rinal o rínico y, entre este surco rinal y el uncus (circunvolución uncinada) se localizan dos prominencias, el giro ambiens y el semilunar, separadas entre sí por el surco semianular. En el borde medial del uncus anterior al giro semilunar se encuentra el área prepiriforme, posterior a esta zona y dirigiéndose hacia la punta del gancho del hipocampo se localizan en forma consecutiva la banda de Giacomini y, por último, el ápex propiamente dicho (Figs. 14,15).



Figura 14. Cara medial del lóbulo temporal neonatal, detalle aumentado de la Fig. 13. Se aprecian mejor las estructuras anatómicas ya señaladas: giro semilunar (GS), giro ambiens (GA), surco semianular (SA), corteza entorrinal (CE), giro parahipocámpico (GP-H), giros de Retzius (GR), banda de Giacomini (BG) - entre las líneas punteadas-, ápex del uncus (AU). Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

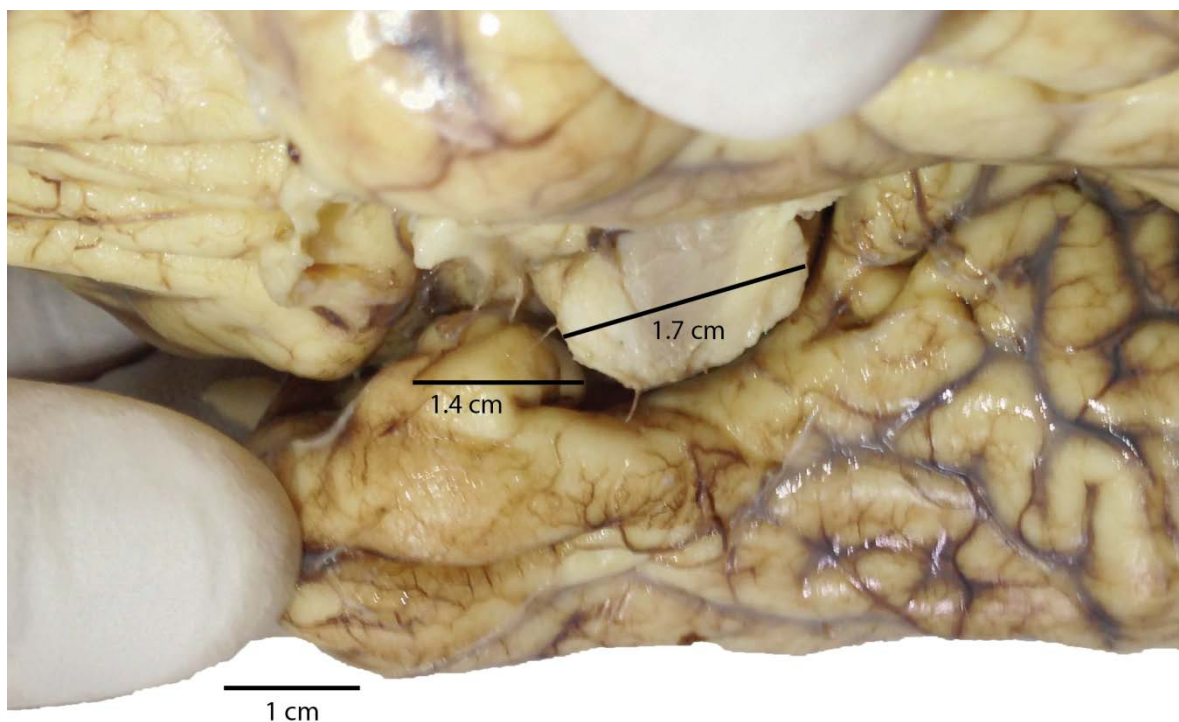


Figura 15. Detalle del Uncus del hipocampo neonatal; medición del uncus y del mesencéfalo. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Giro intralímbico. Este circuito es particular, está constituido por estructuras incluidas en el giro límbico, así como estructuras adyacentes a éste; su origen se localiza en la región del área septal, consiste en un conglomerado de fibras que conforman una estructura rudimentaria conocida como rudimento prehipocámpico, la cual se continúa con el *indusium griseum* que “cubre” la cara superior del cuerpo calloso en dirección anteroposterior para, posteriormente, continuarse con el asta de Ammón que se incorpora a las estructuras del giro límbico ya mencionado para alcanzar el hipocampo.

La característica anatómica de este giro intralímbico es un vivo ejemplo del desarrollo del telencéfalo en el humano; ya que, durante el proceso embrionario, el lóbulo temporal tiene un crecimiento posterior, luego inferior y, por último, anterior; lo cual da por resultado que estas estructuras rodeen el cuerpo calloso, los ventrículos laterales y el tálamo, quedando “por fuera” de la “curva ventricular” y explicando fácilmente cómo el *indusium griseum* queda en relación superior al ventrículo lateral, rodeando al rodete y guardando relación posterior con el tálamo y la encrucijada (Figs. 16-20); finalmente, adopta una relación inferior con el ventrículo lateral formando el piso de la prolongación temporal (esfenoidal) del mismo (Figs. 16,20-23), representado por el hipocampo.⁶¹

Este detalle embriológico ha dado lugar a la clasificación de estas estructuras en tres divisiones: el hipocampo precomisural (rudimento prehipocámpico), el hipocampo supracomisural (*indusium griseum*) y el hipocampo retrocomisural (hipocampo propiamente dicho).



Figura 16. Corte anatómico de encéfalo. Se observa el hipocampo desde una vista lateral. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

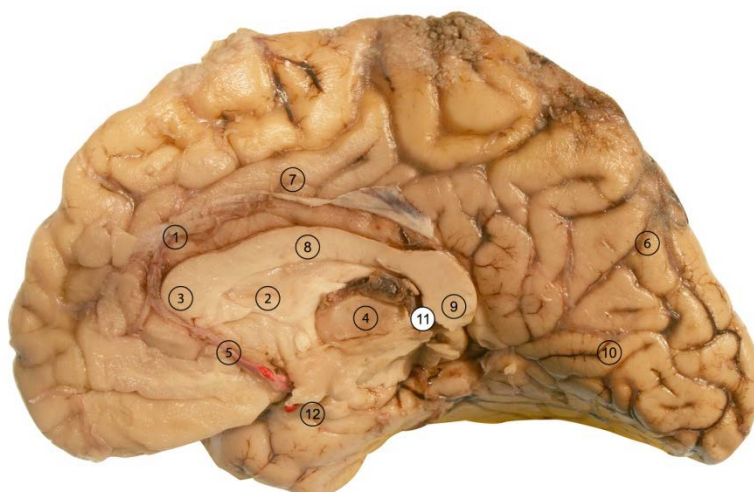


Figura 17. Cara medial de encéfalo adulto. 1: arteria calloso marginal, 2: septum pellucidum, 3: rodilla del cuerpo calloso, 4: tálamo, 5: arteria cerebral anterior, 6: cisura parieto-occipital, 7: cíngulo, 8: cuerpo calloso, 9: rodete del cuerpo calloso, 10: cisuras calcarina y postcalcarina, 11: hendidura cerebral (de Bichat), 12: uncus. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad



Figura 18. Disección de encéfalo, vista posteromedial. 1: Núcleo caudado, 2: rodilla del cuerpo calloso, 3: pilar anterior del fórnix, 4: cuerpo del fórnix, 5: pilar posterior del fórnix, 6: tálamo. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

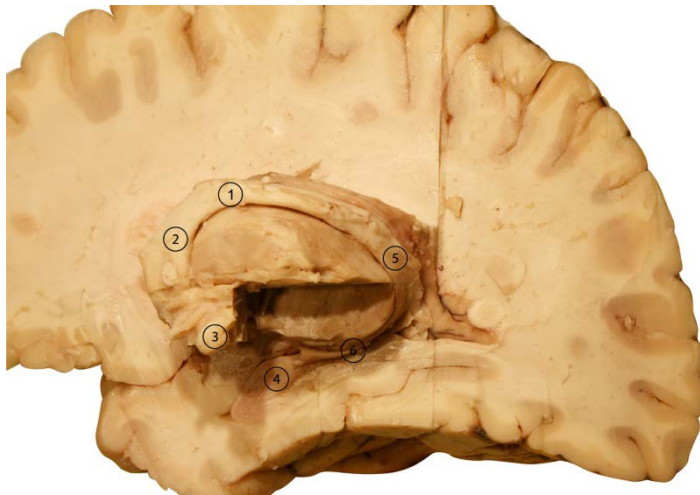


Figura 19. Diseción de encéfalo, vista medial. 1: Cuerpo del fórnix, 2: pilar anterior del fórnix, 3: tubérculo mamilar, 4: hipocampo, 5: pilar posterior del fórnix, 6: fimbria. Puede apreciarse la íntima relación del fórnix con el tálamo y del hipocampo con el sistema ventricular. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.



Figura 20. Diseción de encéfalo, vista posterior. 1: Pilar anterior del fórnix, 2: tubérculo mamilar, 3: cuerpo del fórnix, 4: tálamo, 5: pilar posterior del fórnix, 6: fimbria. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

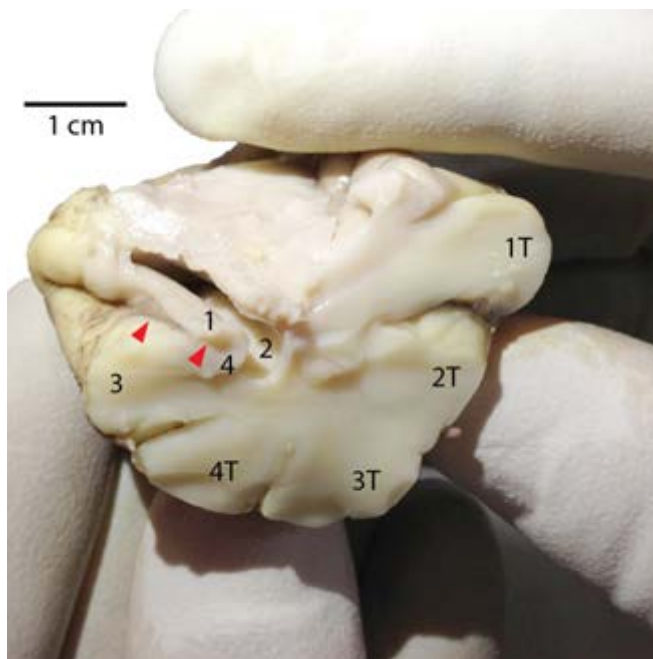


Figura 21. Corte coronal de lóbulo temporal de neonato. Derecha: cara lateral del lóbulo; izquierda: superficie medial (mesial). Circunvoluciones temporales: primera (1T), segunda (2T), tercera (3T), cuarta (4T). 1: Fimbria, 2: cuerno temporal del ventrículo temporal, 3: circunvolución (giro) parahipocámpica-quinta circunvolución temporal-, 4: subículo, flechas rojas: surco hipocámpico. Nótese la relación de la fimbria con el ventrículo lateral. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

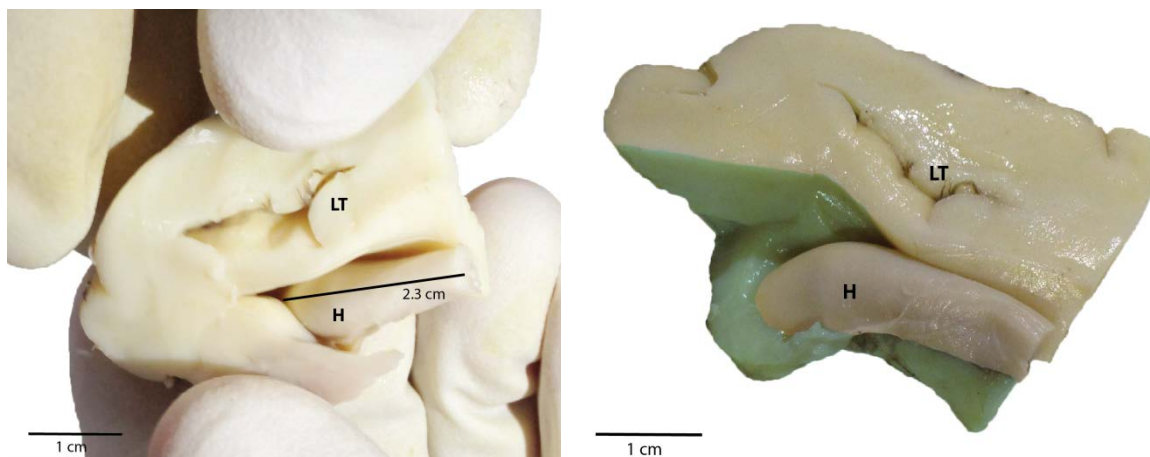


Figura 22. Hipocampo neonatal (H). Nótese la ausencia de digitaciones en la cabeza del hipocampo y su relación con el cuerno temporal (área sombreada), en el lóbulo temporal (LT). Derecha, misma pieza de la izquierda pero con el ventrículo lateral sombreado para visualizar más fácilmente el hipocampo neonatal. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

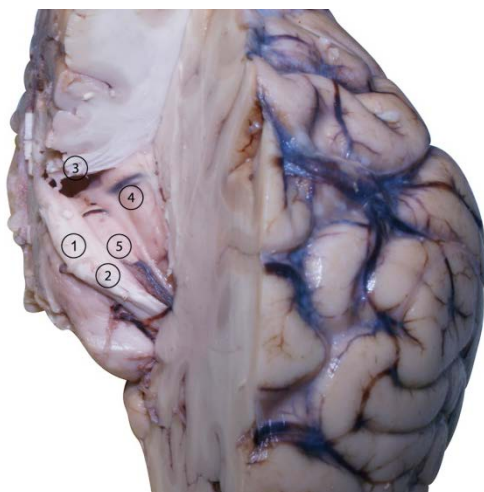


Figura 23. Disección de encéfalo, vista posterosuperior. 1: Cuerpo del fórnix, 2: pilar posterior del fórnix, 3: rodilla del cuerpo calloso, 4: núcleo caudado, 5: tálamo. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Estructura Externa

El hipocampo es una estructura de sustancia gris localizada inmersa en la sustancia blanca de la circunvolución parahipocámpica (5ª circunvolución temporal). Al guardar íntima relación con el sistema ventricular es posible apreciar su cara intraventricular (Figs. 16,22); para su estudio se divide en cabeza, cuerpo y cola. El primero en utilizar el término hipocampo para describir este órgano cerebral fue Giulio Cesare Aranzi⁶² (citado por Andersen *et al.*⁵⁶) en el siglo XVI y lo hizo debido a

su semejanza física con el caballito de mar (Figs. 24,25). En el siglo XVIII, otro anatomista, Winslow, propuso llamarle *Cornu Arietis*, es decir, “cuerno de carnero” (Figs. 26,27); posteriormente, Croisant De Garengot⁵⁹ (citado por Andersen *et al.*⁵⁶) lo llamó *Cornu Ammonis*, en honor al dios egipcio Amun Kneph –cuyo símbolo era un carnero–; aún podemos leer en algunos textos como siguen llamando a esta estructura Asta o Cuerno de Ammón; es por dicha denominación que la nomenclatura de las diversas regiones del hipocampo al corte coronal son representadas por las letras “CA” que son las siglas de *Cornus Ammonis*.

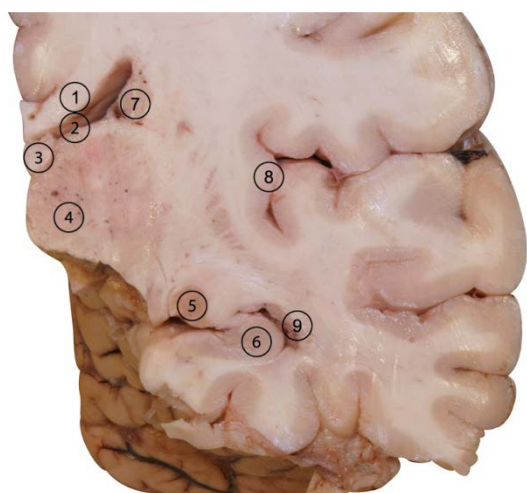


Figura 24. Corte anatómico del hipocampo. 1: Cuerpo caloso, 2: ventrículo lateral, 3: pilar anterior del fórnix, 4: tálamo, 5: cola del núcleo caudado, 6: hipocampo, 7: cuerpo del núcleo caudado, 8: ínsula, 9: cuerno temporal. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

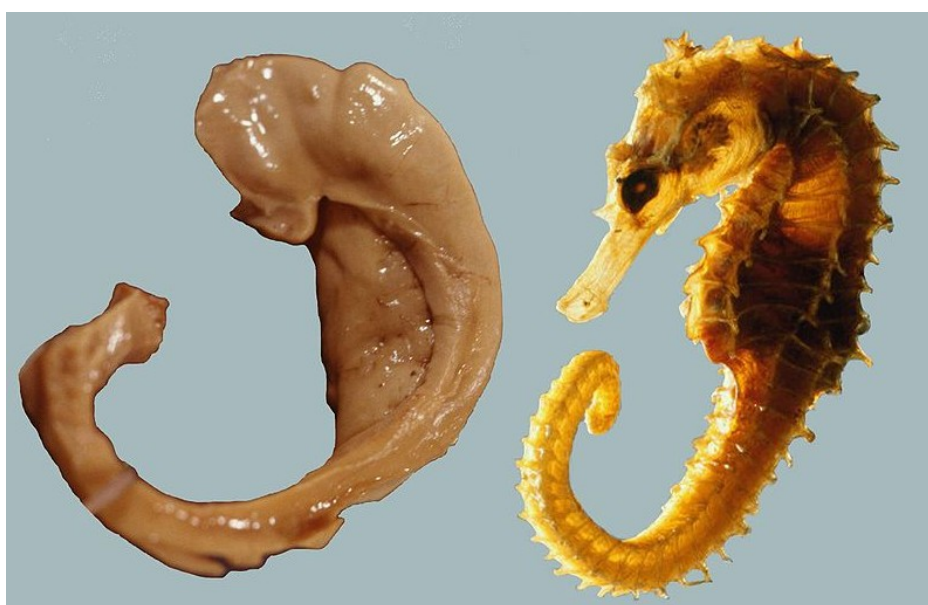


Figura 25. Hipocampo. Nótese la semejanza en la anatomía del hipocampo con el caballito de mar (tomado de “The Hippocampus Book”).⁵⁶

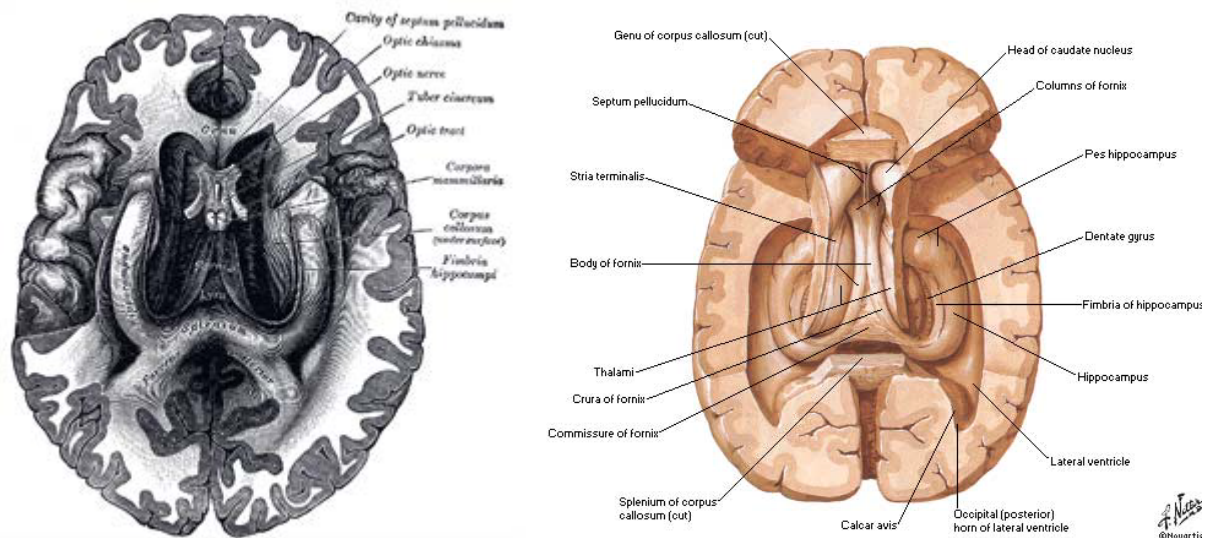


Figura 26. Ilustración del asta de Ammón (esquemas) Vista inferior y superior (izquierda y derecha) de la formación del hipocampo. Se aprecia el porqué del nombre de cuerno (asta) de Amón al semejar los cuernos de un borrego. (Izquierda: tomada de Wikipedia. Derecha: tomada de *The Ciba Collection of Medical Illustrations*).⁶¹



Figura 27. Asta de Ammón. Pieza Anatómica. Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L.

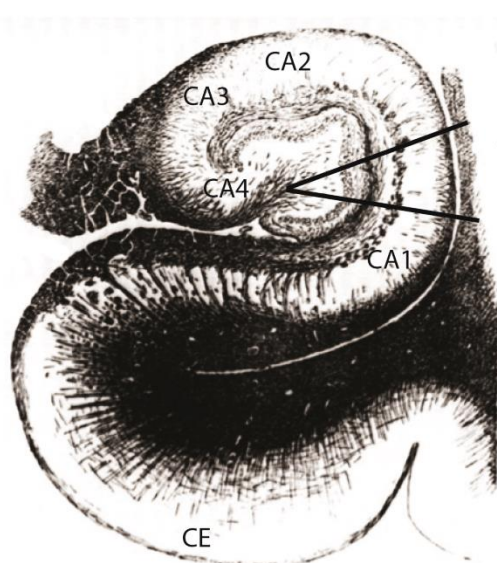
La **cabeza del hipocampo** se localiza por detrás y debajo de la amígdala y queda separada de ésta por el cuerno esfenoidal del sistema ventricular; en su vista medial, contiene al giro intralímbico (posterior) unido por la fimbria al uncus que se utiliza anatómicamente como límite posterior de la cabeza con el cuerpo del hipocampo; anterior a éstos, observamos la banda de Giacomini que se continúa con la fascia dentada (en el cuerpo) y en la punta se aprecia el uncus propiamente. En el cerebro

adulto es posible apreciar las digitaciones características de la cabeza del hipocampo, en tanto que el cerebro neonatal carece de ellas (Fig. 22).

El **cuerpo del hipocampo** es alargado y se encuentra orientado parasagitalmente, teniendo por referencia superior y lateral al cuerno temporal (esfenoidal); en su superficie superior se aprecia el alveus, banda de sustancia blanca, que termina formando la fimbria (Figs. 21,28,29) y que se reconoce en el borde superointerno del cuerpo hipocámpico.



Figura 28. Dibujo de un corte coronal de hipocampo. Se demarca en color el giro dentado; el asta de Ammón se muestra en sus diferentes regiones. Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina U.A.N.L.



Giro Dentado

- Capa polimorfa
- Stratum granulosum
- Stratum moleculare

Asta de Ammón

- Surco (fisura) hipocámpica vestigial
- Stratum moleculare (interna y externa)
- Stratum lacunosum
- Stratum radiatum
- Stratum pyramidale
- Stratum oriens
- Alveus

Figura 29. Capas del hipocampo. Se han delimitado las diferentes capas del giro dentado, así como del asta de Ammón. Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

La **cola** es el segmento **del hipocampo** donde se localizan las estructuras con funciones aferentes y eferentes:

- a) Estructuras aferentes al hipocampo. Conformado por el giro fasciolar (fasciola cinerea), envuelto por el alveus que es la continuación de las estrías longitudinales de Lancisi y el *indusium griseum* hacia la fascia dentada, llegando la cabeza del hipocampo a la región CA3 (ver más adelante).
- b) Estructuras eferentes del hipocampo. Representada por la fimbria (Fig. 30), se dirige inferior al esplenio continuándose con el fórnix hacia los tubérculos mamilares, y algunas fibras directas al núcleo anterior del tálamo; y, por último, los giros de Retzius (Figs. 12,14) que representan la continuación de la zona CA1 en el asta de Ammón.

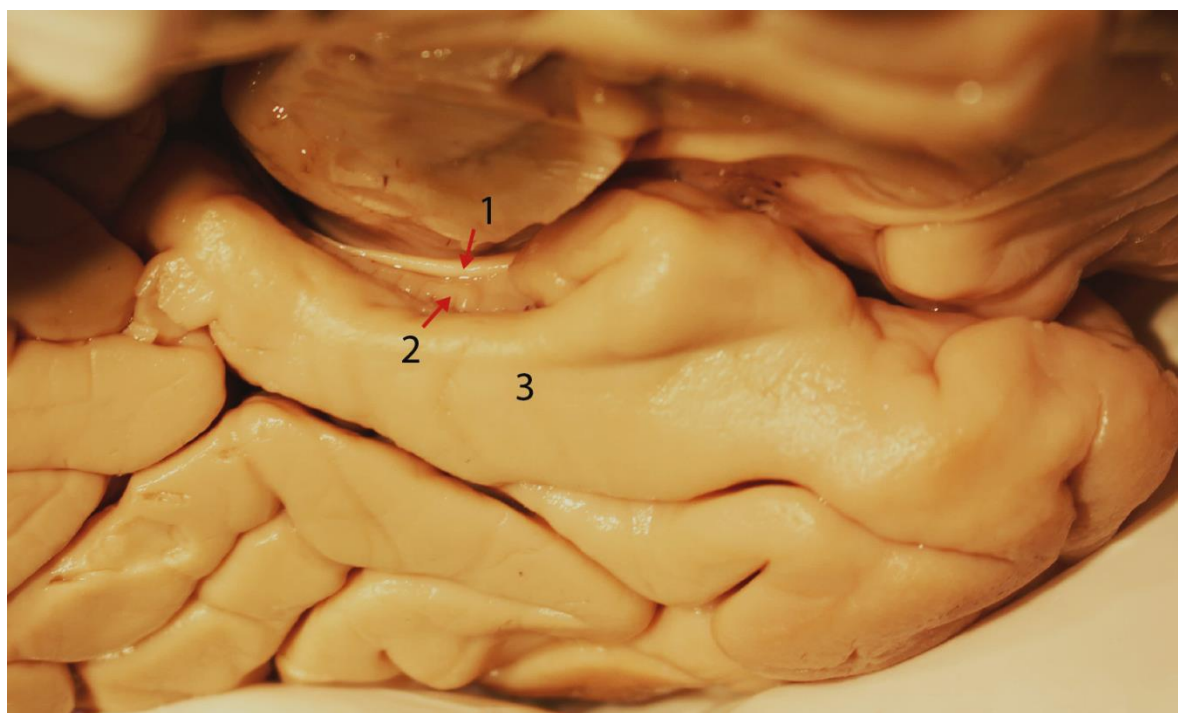


Figura 30. 1: fimbria, 2: fascia dentada y 3: circunvolución parahipocámpica. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Estructura Interna

En un corte coronal, el hipocampo consiste básicamente en dos estructuras: el **Asta de Ammón** y el **Giro Dentado** (figs. 28,29,31). El asta de Ammón está dividida en seis capas dispuestas en el siguiente orden desde la superficie ventricular hacia el vestigio del surco hipocámpico:

1. *Alveus*: compuesto principalmente por fibras eferentes del subículo y el hipocampo hacia la fimbria y algunas aferentes al hipocampo provenientes del *septum*.
2. *Stratum oriens*: mal definido y adyacente a la capa de las células piramidales, está conformado por las células en canasta y por las fibras de las neuronas piramidales que la atraviesan para dirigirse al *alveus*.
3. *Stratum pyramidale*: compuesto por las neuronas piramidales que, como su nombre indica, tienen forma triangular con la base dirigida hacia el *alveus* y el vértice hacia las capas adyacentes al surco hipocámpico vestigial, particularmente la capa molecular.
4. *Stratum radiatum*: consiste en las dendritas apicales de las células piramidales que le dan su aspecto estriado.
5. *Stratum lacunosum*: formado principalmente por fibras perforantes y fibras colaterales de las células de Schaffer.⁶³
6. *Stratum moleculare*: al cual arriban las dendritas apicales de las células piramidales; se encuentra adyacente al vestigio del surco hipocámpico que separa al asta de Ammón del giro dentado. Aunque este surco vestigial tiene áreas donde se entremezclan las regiones del *stratum moleculare* con la homónima del giro dentado, el cual consiste en la capa molecular externa, la capa molecular interna, la capa granulosa y la de células polimorfos. Aquí es conveniente señalar que la región CA3 contiene una capa adicional que se

localiza entre el *stratum pyramidale* y el *stratum radiatum*, se trata del *stratum lucidum* cuya característica es la presencia de fibras musgosas.

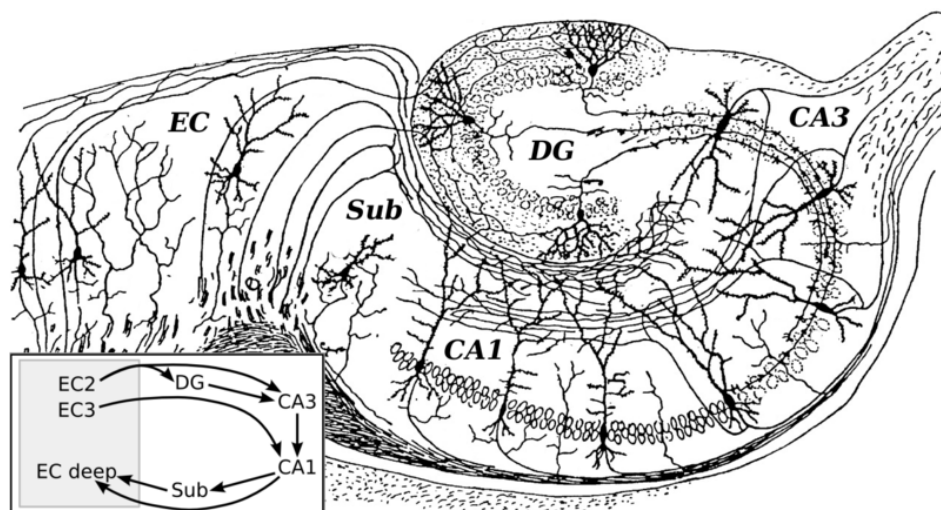


Figura 31. Dibujo y esquema (recuadro) del círculo neural del hipocampo por Don Santiago Ramón y Cajal (1922). (Tomado de: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/25/CajalHippocampus_modified.png).

La denominación de las diferentes zona del asta de Ammón corresponde a las características de las células piramidales y se conforma por las regiones CA1 (Cornu Ammonis1), CA2, CA3, CA4 que consiste en una capa de células piramidales pequeñas y grandes con sus bases dirigidas hacia el *alveus* (que rodea estas zonas), y los vértices se dirigen hacia la región lateral donde se encuentra la fisura hipocámpica.

La clasificación está basada en diferencias histológicas, la región CA1 se continúa con el *subiculum* y éste es el sector más vulnerable a la hipoxia (sector de Sommer); los sectores 2 y 3 (de Spielmeyer) son los reconocidos como sectores resistentes y CA4, que se encuentra adyacente al giro dentado, es de vulnerabilidad media. El giro dentado, que al corte coronal tiene forma de U, contiene en su interior el sector CA4 y el hilio se encuentra dirigido hacia CA4 (Figs. 28,29,31), está conformado por células musgosas que tienen sinapsis con las porciones apicales del asta de Ammón.⁶⁴

Anatomía Radiológica

En la actualidad el mejor estudio de imagen para evaluar la anatomía del cerebro y, en particular, del hipocampo es la IRM; la cual permite una adecuada visualización de las diferentes estructuras que conforman el hipocampo en sus diferentes secuencias (Figs. 32-39).

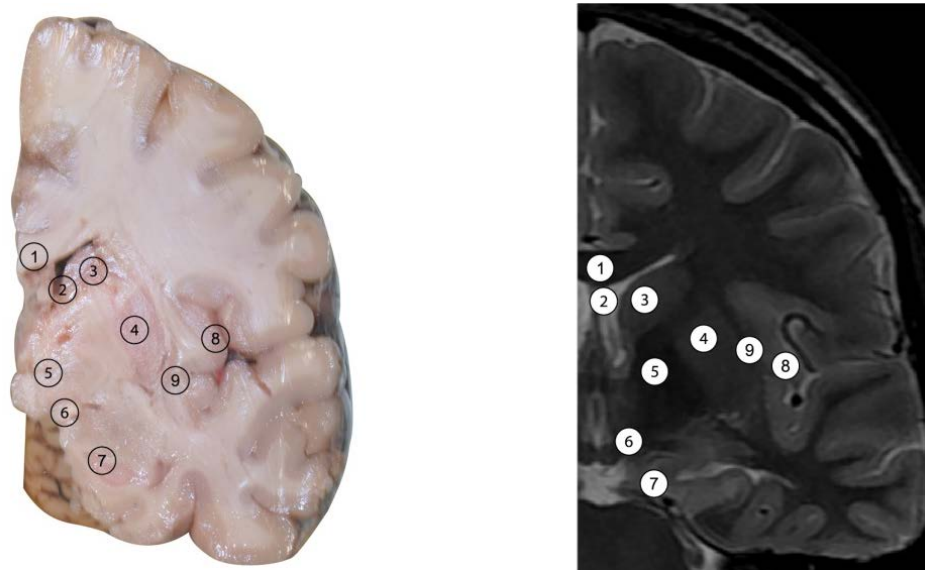


Figura 32. Correlación anatomorradiológica del corte coronal a nivel de la prolongación ventricular frontal. 1: Cuerpo calloso, 2: ventrículo lateral, 3: cuerpo del núcleo caudado, 4: putamen, 5: tálamo, 6: cintilla óptica, 7: hipocampo, 8: ínsula, 9: antemuro. Dpto. Anatomía, UANL.

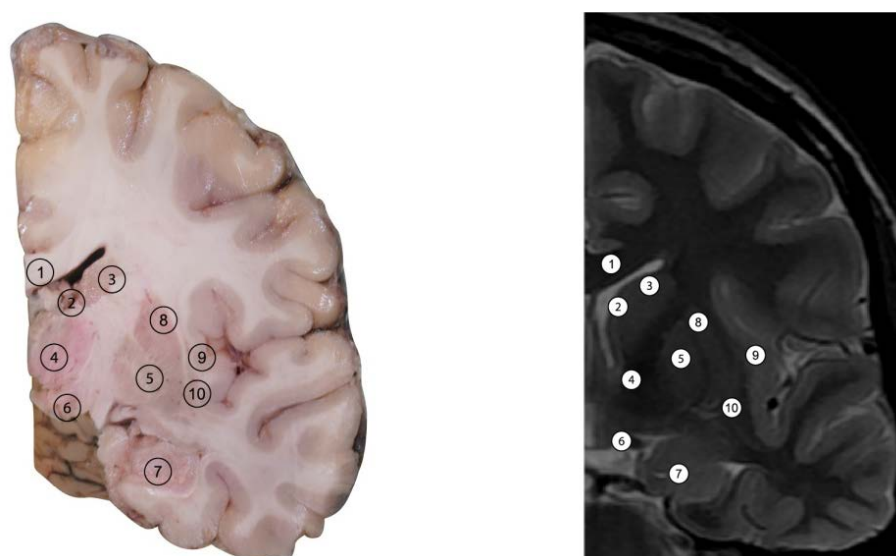


Figura 33. Correlación anatomorradiológica del corte coronal a nivel del ventrículo lateral frontal. 1: Cuerpo calloso, 2: ventrículo lateral y plexos coroides, 3: cuerpo del núcleo caudado, 4: tálamo, 5: *globus pallidum*, 6: hipotálamo, 7: hipocampo, 8: putamen, 9: ínsula, 10: antemuro. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

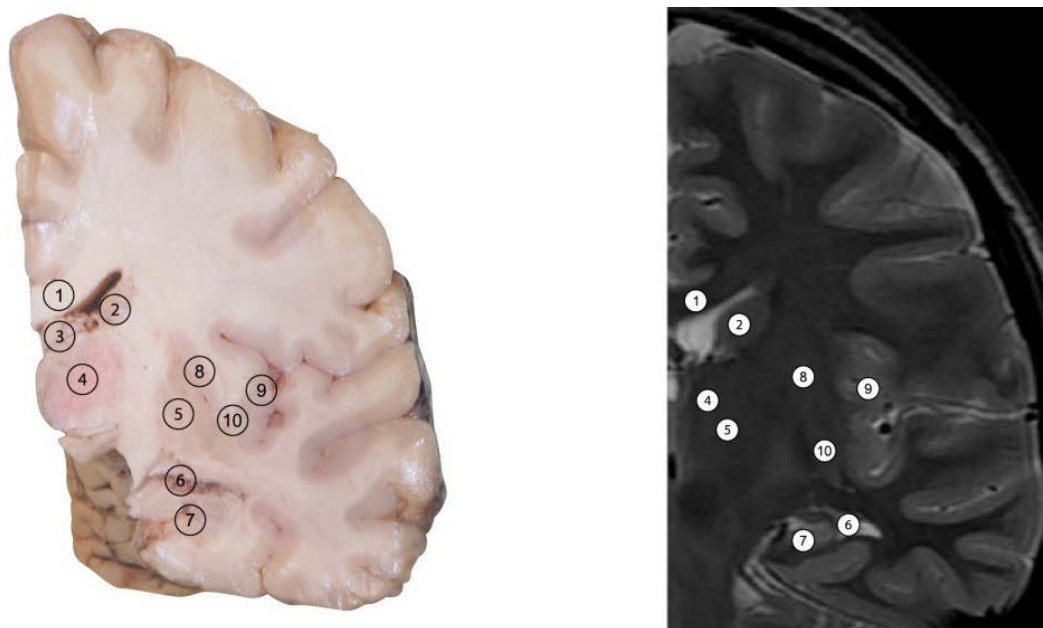


Figura 34. Correlación anatomorradiológica. Corte anatómico (izquierda) e imagen radiológica (derecha) a nivel del cuerpo del ventrículo lateral. 1: Cuerpo calloso, 2: cuerpo del núcleo caudado, 3: ventrículo lateral y plexos coroides, 4: tálamo, 5: globo *pallidum*, 6: cuerno temporal y plexos coroides, 7: hipocampo, 8: putamen, 9: ínsula, 10: antemuro. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

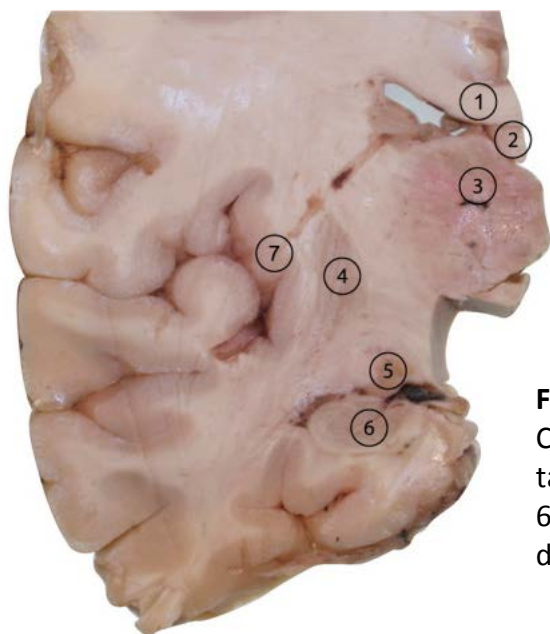


Figura 35. Corte anatómico a nivel del tálamo. 1: Cuerpo calloso, 2: pilar anterior del fórnix, 3: tálamo, 4: putamen, 5: cola del núcleo caudado, 6: hipocampo, 7: ínsula. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

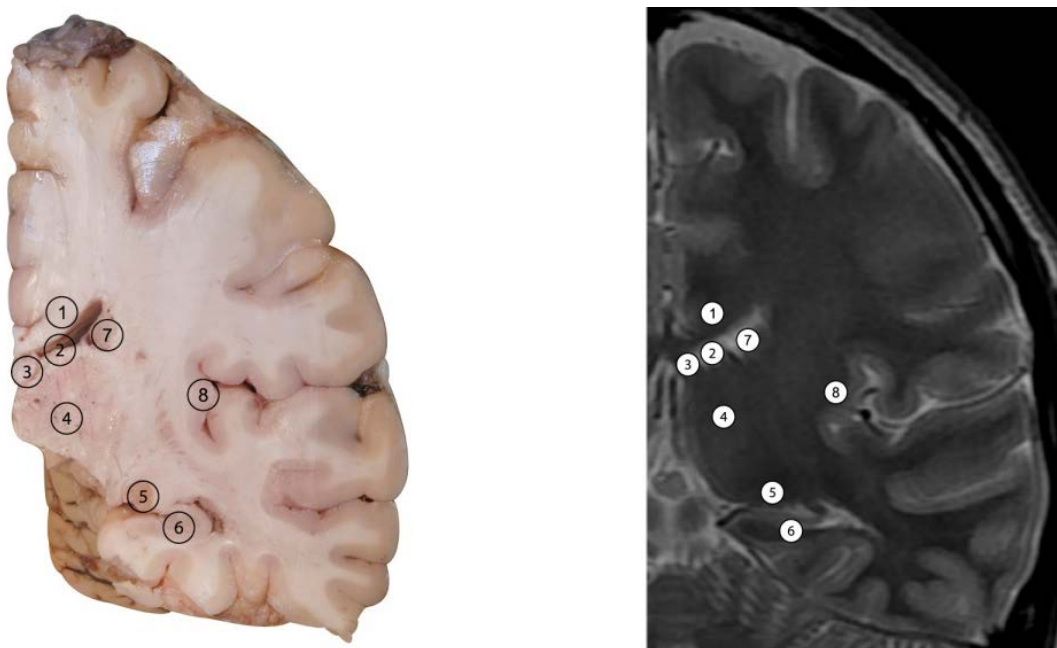


Figura 36. Correlación anatomorradiológica. Corte anatómico (izquierda) e imagen radiológica (derecha) a nivel de la encrucijada. 1: Cuerpo calloso, 2: ventrículo lateral, 3: pilar anterior del fórnix, 4: tálamo, 5: cola del núcleo caudado, 6: hipocampo, 7: cuerpo del núcleo caudado, 8: ínsula. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

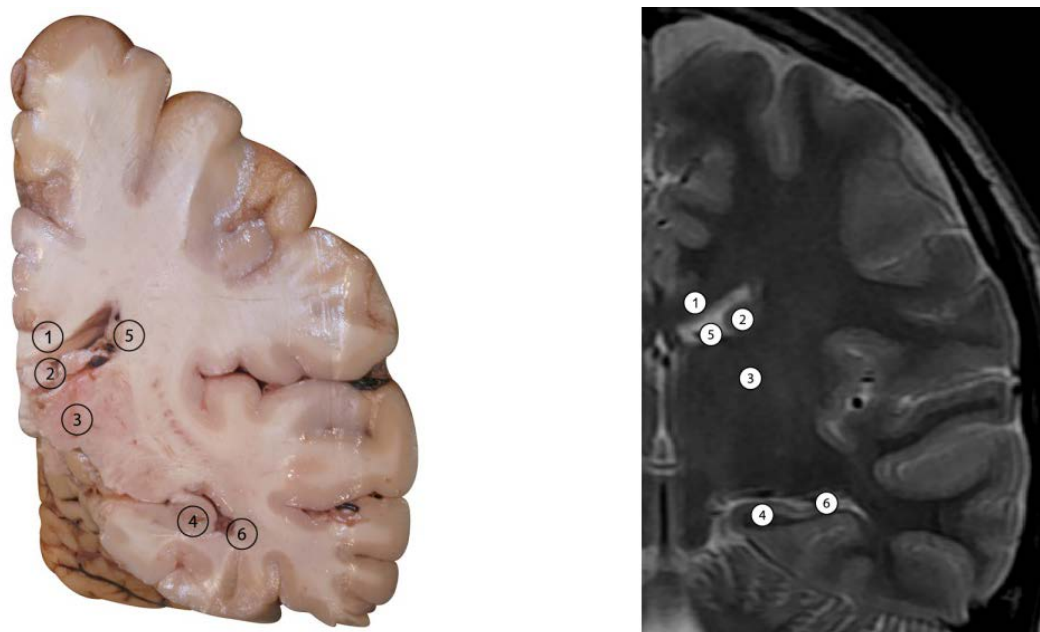


Figura 37. Correlación anatomorradiológica. Corte anatómico (izquierda) e imagen radiológica (derecha) a nivel del pulvino. 1: Cuerpo calloso, 2: ventrículo lateral, 3: tálamo, 4: hipocampo, 5: cuerpo del núcleo caudado, 6: cuerno temporal. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

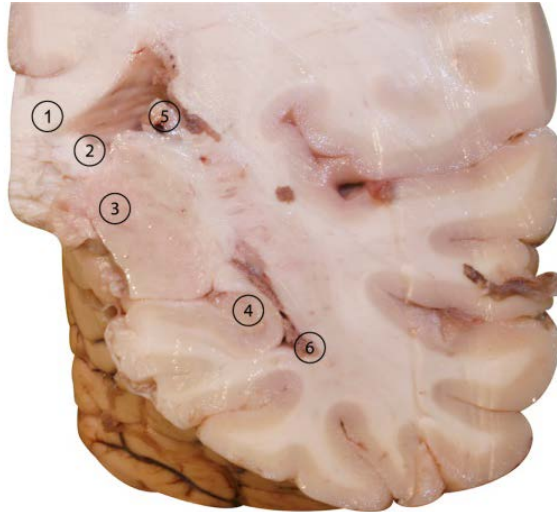


Figura 38. Corte anatómico a nivel de la encrucijada. 1: Cuerpo calloso, 2: pilar posterior del fórnix, 3: tálamo, 4: hipocampo, 5: ventrículo lateral encrucijada, 6: cuerno temporal. Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

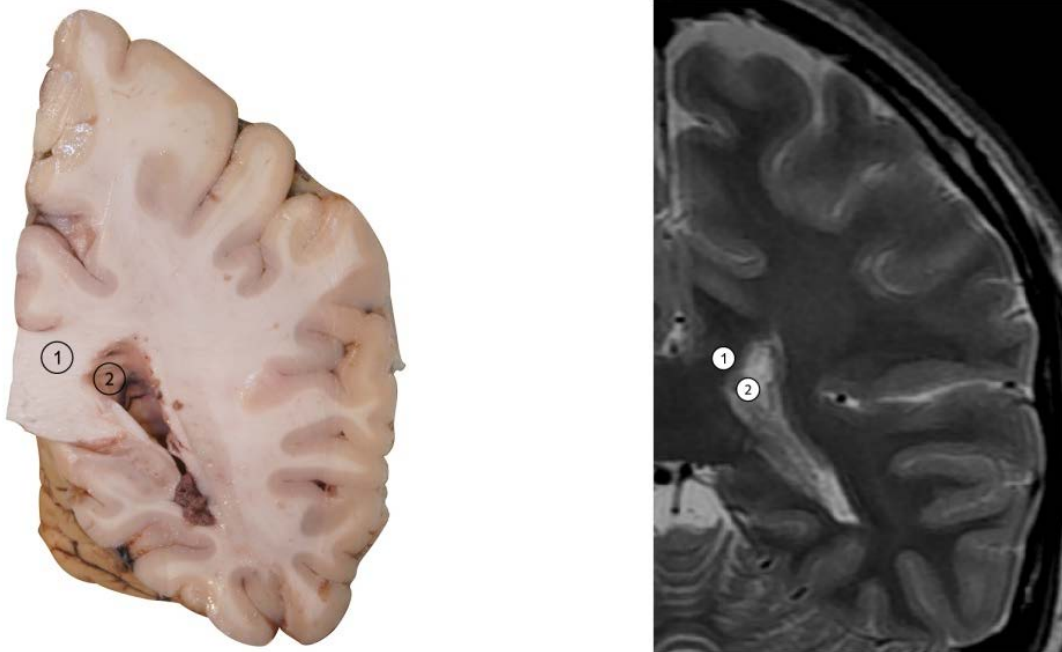


Figura 39. Correlación anatomorradiológica. Corte anatómico (izquierda) e imagen radiológica (derecha) a nivel de la encrucijada. 1: Cuerpo calloso rodete, 2: ventrículo lateral (encrucijada). Pieza Anatómica, Dpto. de Anatomía, Facultad de Medicina, U.A.N.L.

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es un método químico-físico basado en las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos, fue descubierta simultáneamente por dos grupos de investigadores dirigidos por Bloch y Purcell (EEUU) en 1945.⁶⁵

En la IRM, el paciente es expuesto a un campo magnético que tiende a alinear los electrones del organismo y que puede programarse para dar pulsos magnéticos (tiempo de excitación), medidos en tiempo, y periodos libres de pulso magnético (tiempo de relajación), lo cual da por resultado alinear en un principio los electrones para luego, en función de la rapidez en que responden al tiempo de relajación, obtener dicha medición y transformarla en imagen; por lo tanto, las secuencias en IRM corresponden a los diferentes protocolos de excitación y relajación de los electrones de nuestro organismo, dado por el magneto del aparato, originando imágenes diferentes pero complementarias de la misma estructura; en otras palabras, es el equivalente a asignar, mediante estas secuencias, intensidades o señales diferentes a la sustancia blanca, gris, agua, líquidos y calcio.

De las secuencias utilizadas en el SNC las que sobresalen son: secuencias ponderadas en T2, FLAIR (Fig. 40) e IR; éste es óptimamente revisado en cortes coronales y permite la comparación lado a lado. Las secuencias ponderadas en T2 (Figs. 41-43) permiten detectar anomalías en la señal. La secuencia IR (inversión-recuperación) provee un mejor contraste anatómico T1 (Figs. 44,45) que las imágenes por spin-echo, facilitando la visualización de la interfase gris/blanca y permitiendo un mejor análisis de la arquitectura interna del hipocampo.^{66,67} Además, se recomienda realizar la evaluación del hipocampo en su cuerpo ya que permite una mejor diferenciación de las estructuras.^{66,67}

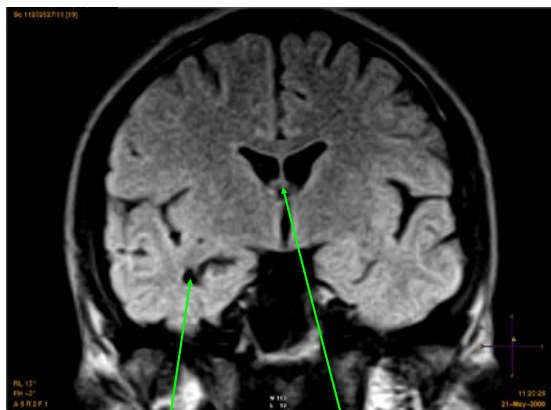


Figura 40. IRM corte coronal secuencia FLAIR, donde se demuestra una asimetría en el tamaño (volumen) del asta (ventrículo lateral) esfenoideal o temporal como una imagen hipointensa (negra). Imagen original.

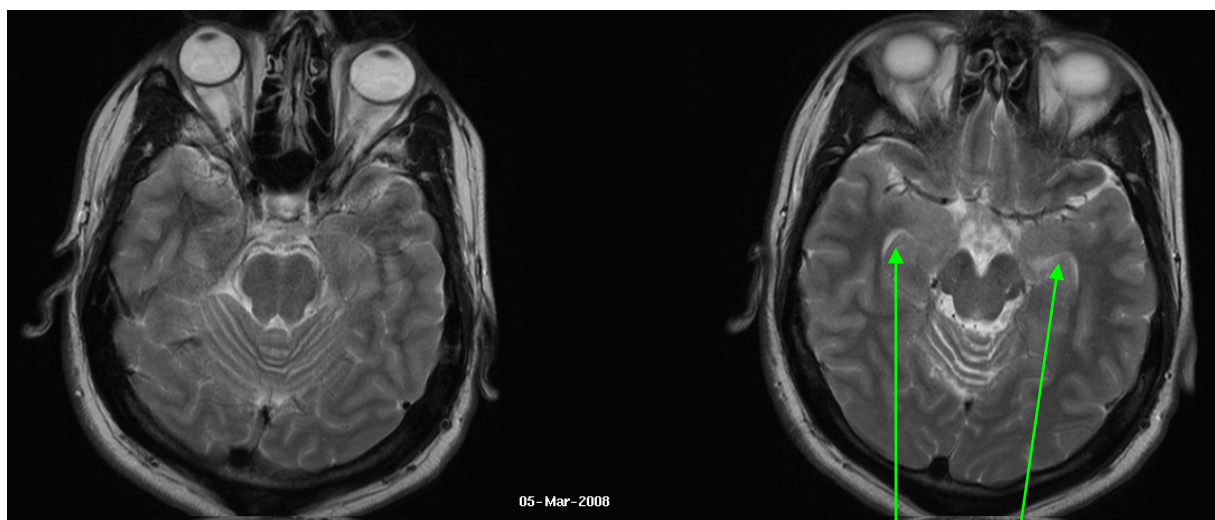


Figura 41. IRM corte axial, secuencia ponderada en T2; la característica normal de esta secuencia es la brillantez (hiperintensidad) de los líquidos (flechas). Imágenes originales.

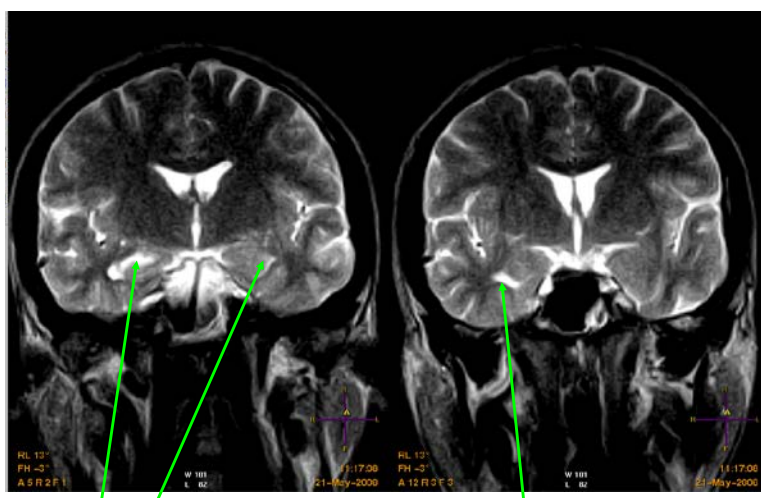


Figura 42. IRM corte coronal, secuencia ponderada en T2 del mismo paciente; el ventrículo se visualiza hiperintenso (blanco) por el líquido (LCR) que contiene (flechas). La flecha larga de la imagen izquierda identifica además una asimetría en el grosor del fórnix (trígono). Imágenes originales.



Figura 43. Dilatación ventricular del cuerno esfenoidal (flecha), corte axial. Secuencia ponderada en T2. Imagen original.

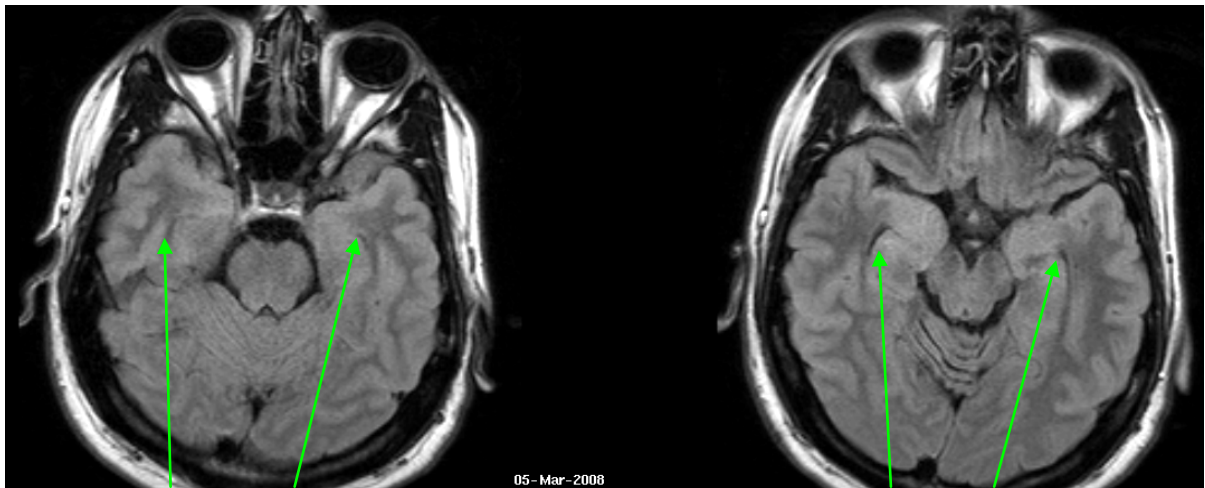


Figura 44. IRM corte axial, en secuencia T1; normal. Nótese la simetría en las astas temporales (flechas). Imágenes originales.

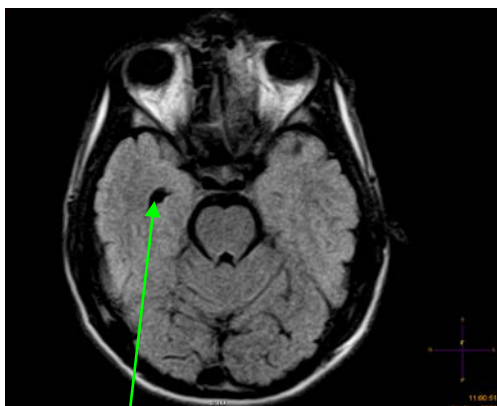


Figura 45. Dilatación ventricular de cuerno esfenoidal (flecha), corte axial. La misma asimetría en el volumen ventricular visto desde un corte axial secuencia T1. Imagen original.

Existen técnicas específicas para la evaluación de lesiones hipóxico-isquémicas, como la secuencia de difusión (diffusion weighted imaging-DWI)³⁸ que se comenzó a utilizar en la década de 1990, su aplicación clínica generalizada se retrasó debido a los gradientes de alta intensidad de campo magnético. En la actualidad, las imágenes en secuencia de difusión se incorporan en la mayoría de los protocolos de RMN y son componentes esenciales para la evaluación de lesiones hipóxico-isquémicas tempranas.⁶⁸

Su popularidad se basa en su rapidez, sencillez en la interpretación y en la capacidad de demostrar alteraciones isquémicas del encéfalo antes de que aparezcan otros cambios evidentes por tomografía computarizada (TC) o secuencias convencionales de RMN. Asimismo, su utilidad se ha visto confirmada para otras patologías del sistema nervioso central, como trauma, epilepsia, demencia, neurotoxicidad, etc.⁶⁹

La restricción por difusión se ha observado en los animales a los 10 minutos después del inicio de la isquemia, con una pseudonormalización de los valores de ADC que ocurren en aproximadamente 2 días. Sin embargo, el curso temporal de los cambios de la difusión en los seres humanos es más prolongado; en ellos, la restricción de la difusión con la reducción de ADC se ha observado a los 30 minutos después del inicio de la isquemia y es la técnica más sensible para la detección de isquemia cerebral en los primeros 10 días de vida.^{66,67} Considerando que la encefalopatía hipóxico-isquémica es la causa más frecuente de parálisis cerebral y otros déficits neurológicos en niños y que ocurre con una incidencia de 2 a 9 por cada 1000 nacimientos,²⁶ la imagen juega un papel en el diagnóstico y tratamiento de esta instancia clínica tanto como guía terapéutica como pronóstica a largo plazo.^{40,70}

La difusión por RM se basa en la detección de movimiento aleatorio de las moléculas de agua en los tejidos. Si tenemos un recipiente con agua en el laboratorio, a consecuencia de la agitación térmica, las moléculas tendrán un movimiento

browniano, al azar. Este movimiento browniano es análogo a la difusión libre. En cambio, las moléculas de agua en el organismo tienen difusión restringida por la presencia de macromoléculas y membranas celulares. Es importante destacar que la RM es el único método capaz de detectar y medir la difusión molecular in vivo, esto es, la traslación de las moléculas. La señal de difusión obtenida en tejidos se obtiene a partir del movimiento molecular en tres compartimientos: espacio extracelular, espacio intracelular y espacio intravascular.⁶⁸ (Figs. 46,47).

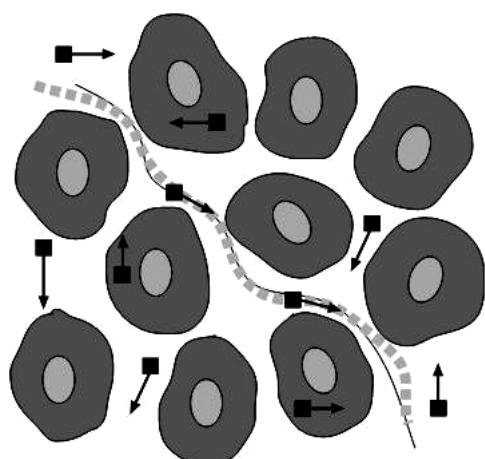


Figura 46. Diagrama que representa la restricción a la difusión de moléculas de agua por la presencia de alta celularidad y membranas celulares intactas. Las moléculas de agua (cuadrados) se mueven en el espacio intracelular, extracelular e intravascular (microcirculación). (Adaptado de Dow-Mu y Collins, *AJR* 2007).⁶¹

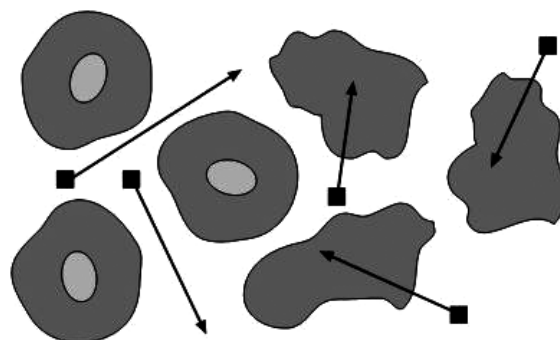


Figura 47. Difusión facilitada. En un tejido de menor celularidad y con membranas celulares defectuosas, las moléculas de agua se mueven con mayor facilidad. (Adaptado de Dow-Mu y Collins, *AJR* 2007).⁶¹

En resumen, la *secuencia de difusión* permite observar alteraciones por cambios asociados a hipoxia; esto es debido a que evalúa los trastornos de la difusión del agua a nivel celular, del espacio intracelular al extracelular; la restricción de dicha difusión evidencia hipoxia o isquemia; sin embargo, las secuencias ponderadas en T1 y T2, así como la secuencia FLAIR, no permiten esta observación ya que requieren un daño estructural establecido para ser apreciables (Fig. 8).

Las zonas que presentan una mayor predisposición a la lesión hipóxica son: los ganglios basales, los centros semioviales, las áreas limítrofes y las lesiones puntiformes en la sustancia blanca; sin embargo, no se han reportado cambios en la región del lóbulo temporal.

Por consiguiente, en los últimos años, la secuencia de difusión ha dado un giro en este campo al poder evidenciar las anomalías en el intercambio del líquido extra e intracelular asociadas al daño por hipoxia; de hecho, hay autores que sugieren esta evaluación como incuestionable en pacientes con encefalopatía o sospecha de ella en los centros que cuenten con este equipo.³⁹

Estudio Microscópico e Inmunohistoquímico del Hipocampo

La hipoxia es la causa principal que origina encefalopatías y convulsiones en el humano recién nacido como resultado de una variedad de condiciones, incluyendo asfixia en el nacimiento y dificultad respiratoria.^{24,71} En el neonato, las convulsiones pueden prolongarse y ser refractarias a la terapia médica, mientras que en el adulto, la hipoxia rara vez origina ataques severos. En ocasiones, algunos niños con convulsiones inducidas por hipoxia desarrollan epilepsia severa.⁷¹⁻⁷⁴ Se desconoce el mecanismo por el cual el cerebro inmaduro es más vulnerable a los ataques inducidos por hipoxia.

El hipocampo es muy susceptible al daño producido por la hipoxia, especialmente el área CA1 del cuerno de Ammón.^{75,76} Además, se ha observado que la hipoxia genera cambios agudos y crónicos en la excitabilidad de la red neuronal del área CA1.⁷⁷

La hipoxia se origina por la disminución brusca del aporte sanguíneo hasta unos niveles que resultan insuficientes para mantener el metabolismo y las funciones normales de las células cerebrales. Puede suceder por diferentes causas, como una

parada cardíaca, una oclusión arterial o una hemorragia cerebral. El resultado es que el riego sanguíneo se interrumpe, produciéndose la isquemia. Debido a la falta de glucosa y oxígeno no se puede mantener la homeostasis celular, produciéndose diversos efectos, como desequilibrio iónico, excitotoxicidad, aumento de la concentración de calcio, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, disminución de la concentración de ATP y estrés oxidativo, lo que termina provocando finalmente la muerte de la célula por apoptosis o necrosis.^{78,79}

Si la isquemia se prolonga varios minutos, las neuronas de la zona más afectada sufren un daño irreversible y mueren por necrosis. Sin embargo, en las regiones que rodean a esta región (zona de penumbra) existe un cierto riego sanguíneo y por lo tanto la intensidad de la isquemia es menor, de modo que aunque el metabolismo se detiene, disminuyen las propiedades de excitabilidad eléctrica neuronales y se perturban los gradientes iónicos, se produce menos daño y las células mueren fundamentalmente por apoptosis e, incluso, se pueden recuperar si se restablece el flujo sanguíneo.^{80,81}

Es por ello que quisimos analizar la expresión de diferentes proteínas implicadas en procesos de hipoxia, proliferación, diferenciación y muerte celular.⁸²

Muerte Celular por Apoptosis

Apoptosis es una palabra que deriva del griego y cuyo término significa “la caída de hojas viejas de los árboles en otoño”. Este término describe el proceso por el cual células dañadas o senescentes son eliminadas de los organismos multicelulares. El proceso de apoptosis se encuentra activamente controlado, en él es mantenida la integridad de las membranas evitando la extravasación del material intracelular y la consecuente respuesta inflamatoria. Estas características lo diferencian del proceso de necrosis celular.⁸² A través del proceso de apoptosis, la célula modifica su forma; su superficie se hace irregular y pierde el contacto con las células que la rodean, el

citoplasma disminuye por pérdida de agua y condensación de las proteínas, los orgánulos celulares quedan intactos sin alteraciones en las membranas ni cambios osmóticos. La cromatina se condensa y fragmenta, pero la envoltura nuclear se mantiene. La célula se fragmenta y se forman los cuerpos apoptóticos. Cada uno constituido por material nuclear y citoplásmico rodeados por membranas (nuclear y plasmática) que, a diferencia de lo que ocurre en la necrosis, permanecen inalteradas y no se vierten restos celulares. Estos cuerpos tienen alto contenido en proteínas, muy empaquetadas y son resistentes a la proteólisis.

El proceso de apoptosis puede ocurrir por dos mecanismos: 1- receptor de muerte o extrínseco y 2- mitocondrial o intrínseco. El primer mecanismo involucra la unión u oligomerización de los receptores de muerte en la superficie celular que disparan el proceso de apoptosis. Estos receptores en la superficie celular pertenecen a una superfamilia de una citoquina llamada Factor de Necrosis Tumoral (TNF). La apoptosis mediada por estos receptores tiene un papel importante en una variedad de procesos biológicos, como el daño tisular, la homeostasis inmunológica y la protección contra microorganismos patógenos.⁸³ El mecanismo mitocondrial es disparado por diferentes respuestas al estrés intracelular: lesión en el DNA, cambios en las concentraciones de calcio intracelular y estrés endoplasmático.⁸³

En roedores, se ha observado que tras un episodio de isquemia cerebral, se origina muerte neuronal de las células piramidales de la CA1,⁸⁴⁻⁸⁷ además de aparecer cambios reactivos en los astrocitos y la microglía.⁸⁸⁻⁹⁴ En gerbos, Eda *et al.*⁹⁵ observaron que, después de un periodo de isquemia cerebral, existe proliferación de oligodendrocitos y astrocitos en la región CA1 del hipocampo y que los oligodendrocitos desempeñan un papel fagocítico en la eliminación de sustancias necróticas neuronales. Además, el coeficiente de difusión aparente del agua disminuye en la región CA1 en las primeras fases tras la isquemia aumentando posteriormente, este aumento está originado por la alterada composición celular y

morfología glial, sugiriendo que existen cambios considerables en la transmisión de las señales intercelulares.⁹⁶

Antígeno Nuclear de Proliferación Celular

El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA),⁹⁷ también conocido como ciclina,^{98,99} que aparece en células en proliferación, fue reconocido por primera vez en muestras séricas de pacientes con lupus eritematoso sistémico.⁹⁷ PCNA/ciclina es una proteína nuclear ácida no-histona con un peso molecular de 33-36 kDa⁹⁸⁻¹⁰⁰ y se localiza en el núcleo celular durante la fase S temprana del ciclo celular, con un patrón punteado, y en la fase S tardía se localiza cerca de la membrana nuclear, coincidiendo con la máxima síntesis de ADN, la expresión se mantiene en la fase S/G2.¹⁰⁰⁻¹⁰²

En el cerebro adulto, la neurogénesis se mantiene en todas las especies de mamíferos estudiadas incluyendo los primates no-humanos,¹⁰³⁻¹⁰⁶ con la excepción de la mayoría de especies de murciélagos.¹⁰⁷ La neurogénesis se mantiene en el giro dentado y la zona subventricular.

La zona subgranular del hipocampo contiene células madre neurales que se dividen, diferencian y migran para producir neuronas funcionales que se incorporan en el circuito hipocampal.^{108,109} En el hipocampo de ratón, Kumar y Devaraj¹¹⁰ observaron elevada expresión de PCNA en el núcleo de las células de la zona subgranular y en algunas células de la capa de células granulares, siendo esta expresión mayor en el hipocampo de ratones de 9 semanas de edad, cuando se comparan con ratones de 3, 5 y 7 semanas. Del mismo modo, Knoth *et al.*¹¹¹ estudiando hipocampos humanos de fetos y distintos pacientes desde 1 hasta 100 años de edad, detectaron la presencia de células PCNA positivas (neuronas y células gliales) en el giro dentado hipocampal, observando un ligero aumento con la edad del número de células positivas a PCNA.

Factor Inducido por Hipoxia (HIF-1 α)

El oxígeno celular es un nutriente y una molécula de señalización. Es esencial como catalizador o co-factor en numerosas reacciones bioquímicas. La hipoxia (baja tensión de oxígeno) sucede cuando el aporte normal de oxígeno se interrumpe. Los cambios en la tensión de oxígeno son detectados por un grupo de dioxigenasas que controlan la actividad de una familia esencial de factores de transcripción conocida como los Factores Inducidos por Hipoxia (HIFs).¹¹² El sistema HIF coordina el programa transcripcional de las células en respuesta a los cambios originados en la concentración de oxígeno, desencadenando los mecanismos que aseguran la supervivencia celular y el restablecimiento del aporte normal de oxígeno.¹¹³

HIF1 fue identificado en estudios de la expresión del gen de eritropoyetina.¹¹⁴ HIF es un factor de transcripción heterodimérico que consta de una subunidad expresada constitutivamente, HIF-1 β , y una subunidad regulada por oxígeno, HIF-1 α .¹¹⁵ Se han identificado tres isoformas de HIF-1 α (HIF-1 α , HIF-2 α y HIF-3 α). HIF-1 α y HIF-2 α tienen importantes funciones celulares como factores de transcripción y muestran alguna redundancia en sus dianas.^{116,117} La proteína HIF-2 α es similar a HIF-1 α en su secuencia y funcionalidad, pero su distribución se restringe a ciertos tipos celulares y, en algunos casos, media distintas funciones biológicas.¹¹⁸

En hipoxia, HIF-1 α se estabiliza, heterodimeriza con HIF-1 β en el núcleo y se une a elementos de respuesta a hipoxia (HRE) que se localizan en el promotor de los genes diana de HIF.^{119,120} Por tanto, la estabilización de HIF-1 α permite a la célula representar un programa transcripcional apropiado al ambiente hipóxico.¹²¹

Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF)

Algunas dianas transcripcionales activadas por HIF-1 α promueven sinérgicamente la supervivencia bajo condiciones hipóxicas. En estas dianas se incluyen enzimas involucradas en la ingesta y metabolismo de la glucosa, la anhidrasa

carbónica IX, la eritropoyetina y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).¹²² (Fig. 48).

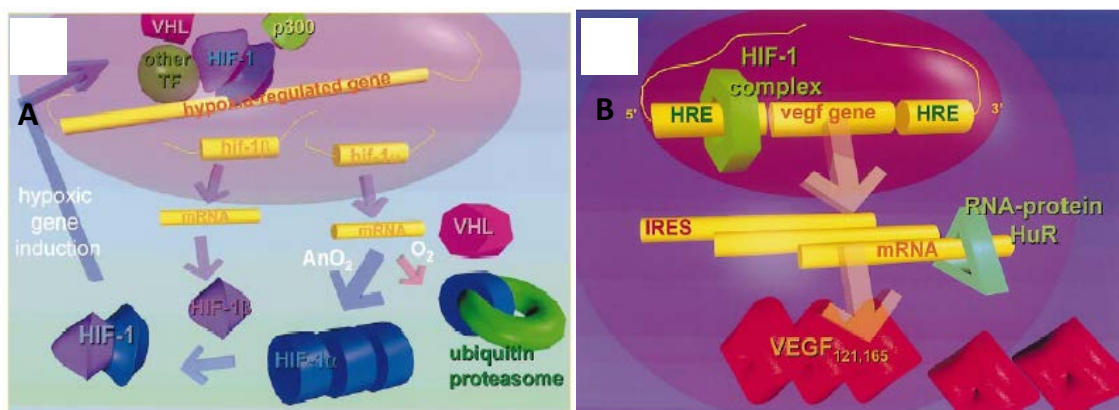


Figura 48. A: Regulación del gen HIF-1. **B:** Regulación del gen VEGF por HIF-1. Reproducido de Dachs y Tozer, 2000.¹²³

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), también llamado factor de permeabilidad vascular (VPF), es uno de los factores angiogénicos más potentes conocido hasta la fecha, siendo el único factor de distribución ubicua en zonas de angiogénesis y cuyos niveles se correlacionan estrechamente en tiempo y espacio con fases del crecimiento de vasos sanguíneos.¹²⁴

El VEGF es una glicoproteína homodimérica de unión a heparina, estructuralmente relacionada con el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).¹²⁵⁻¹²⁷

La principal fuente de VEGF la constituyen las plaquetas y los neutrófilos circulantes. El VEGF resulta esencial durante los procesos de vasculogénesis y angiogénesis embrionaria. Los estudios realizados en ratones indican que la pérdida de un solo alelo del gen, o la inhibición de VEGF, produce deficiencias en la vascularización que son incompatibles con la vida.¹²⁸⁻¹³¹ También se ha demostrado esencial para el crecimiento longitudinal de los huesos ya que la inhibición de VEGF

impide este proceso.^{132,133} Además, VEGF y su función angiogénica son imprescindibles en el desarrollo normal del ciclo ovárico y la función endometrial.¹³⁴

VEGF induce la proliferación, migración y formación del endotelio capilar por parte de las células endoteliales.¹³⁵ Originalmente se le identificó como un factor de hiperpermeabilidad vascular, promoviendo el incremento del filtrado microvascular que, a su vez, ocasiona una infiltración de proteínas del plasma¹³⁶ y, posteriormente, como una proteína con potente actividad mitogénica y específica para el endotelio vascular.¹³⁷ Además, se ha visto que VEGF causa vasodilatación a través de la inducción de la proteína óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)^{138,139} y que también es un potente inhibidor de la apoptosis de las células endoteliales, mediante la inducción de la expresión de proteínas antiapoptóticas.^{140,141}

Sin embargo, aunque VEGF actúa principalmente sobre las células endoteliales, también se ha observado que induce la movilización de células madre hematopoyéticas desde la médula ósea, la quimiotaxis de monocitos, la formación de hueso mediada por osteoblastos y la protección neural.^{135,142} Además, VEGF estimula la migración de células inflamatorias y la expresión de proteasas implicadas en la degradación de la matriz extracelular en la angiogénesis.¹⁴²⁻¹⁴⁵

Esfingosina 1-Fosfato

La esfingosina 1-fosfato (S1P) se forma por la fosforilación de la esfingosina por acción de las esfingosina quinazas (SK1 y SK2) y puede ser desfosforilada para regenerar esfingosina por la esfingosina fosfato fosfatasa (SPPasa). Gracias a su estructura simple de una única cadena y a su grupo fosfato, es uno de los esfingolípidos más solubles, lo que permite que pueda moverse fácilmente entre membranas equilibrándose rápidamente su concentración. En las células se encuentra en concentraciones bajas, del orden nanomolar, lo que permite que

modificaciones en su concentración sirvan de señalización para activar distintos procesos, como ocurre con otros segundos mensajeros.¹⁴⁶

En los mamíferos la S1P parece actuar como un ligando de receptor, una molécula de señalización intracelular y un intermediario de la conversión de esfingolípidos a glicerofosfolípidos. De estas tres funciones principales, la más conocida es la de ligando de receptor. Hasta ahora sólo se han identificado receptores de membrana de alta afinidad acoplados a proteínas G (S1PRs), de los cuales se conocen por el momento 5 tipos.¹⁴⁷⁻¹⁵¹ Estos receptores tipos (S1PR1-5) se expresan de forma diferencial en función del tejido (S1PR1, S1PR2 y S1PR3 se expresan ubicuamente, S1PR4 en tejidos linfoides y S1PR5 en la piel y en el cerebro).¹⁵²⁻¹⁵⁴ S1P es esencial para el desarrollo del tubo neural y del sistema vascular durante la embriogénesis.¹⁵⁵

En cuanto a la función de la S1P como segundo mensajero, no se ha encontrado ninguna diana molecular, pero teniendo en cuenta que muchas de las respuestas inducidas por la S1P como señalizador intracelular se asemejan a las respuestas inducidas por la S1P como ligando de los S1PRs, se cree que es posible que la S1P sea liberada al exterior de la célula de forma autocrina o paracrina para unirse a sus receptores y así iniciar la cascada de señalización. Sin embargo, en otras ocasiones las funciones intracelulares de la S1P parecen ser independientes de los S1PRs.^{156,157} Entre las respuestas inducidas por la S1P se encuentran la regulación de la proliferación, el crecimiento, la supervivencia y la migración celular, la inflamación, la angiogénesis, la vasculogénesis y la resistencia a la apoptosis. En general, parece antagonizar los efectos de la ceramida, normalmente relacionada con la inhibición del crecimiento, la senescencia o la inducción de la muerte celular.¹⁵⁸

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Existe una relación directa entre una puntuación en la escala APGAR igual o menor a 7 y la prevalencia de hipoxia en el lóbulo temporal de neonatos, evaluada por IRM en secuencia de difusión.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la prevalencia de hipoxia en el lóbulo temporal evaluado por IRM en secuencia de difusión, en pacientes con puntuación igual o menor a 7 en la escala APGAR a los cinco minutos.

Objetivos Específicos

- Primero.** Valorar recién nacidos a término utilizando la escala de APGAR.
- Segundo.** Evaluar la hipoxia por medio de la IRM en secuencia de difusión.
- Tercero.** Correlacionar la puntuación en la escala de APGAR y la hipoxia encefálica en el lóbulo temporal por IRM.
- Cuarto.** Analizar la expresión, mediante inmunohistoquímica, de diferentes proteínas implicadas en procesos hipóxicos en el hipocampo de pacientes que presentaron asfixia perinatal.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. ESTUDIO RADIOLÓGICO

POBLACIÓN DEL ESTUDIO RADIOLÓGICO

Se han estudiado un total de 40 lóbulos temporales pertenecientes a 20 pacientes (7 del género femenino y 13 del masculino) atendidos en El Hospital Universitario “José E. González”, Hospital Metropolitano “Dr. Bernardo Sepúlveda” y Hospital Regional Materno Infantil de Alta Especialidad, desde septiembre de 2009 a febrero de 2014.



Figura 49. Hospital Universitario “José Eleuterio González”.



Figura 50. Hospital Metropolitano “Dr. Bernardo Sepúlveda”.



Figura 51. Hospital Regional Materno-Infantil de Alta Especialidad.

Características de la Población del Estudio

Criterios de Inclusión

- Neonatos mayores de 34 semanas de gestación atendidos en los Hospitales Universitario “Dr. José E. González”, Metropolitano “Dr. Bernardo Sepúlveda” y Regional Materno Infantil de Alta Especialidad.
- Periodo menor a 96 horas de vida.
- Consentimiento informado por los padres (Anexo 1).
- Pacientes estables metabólica y hemodinámicamente.
- Nacidos por parto o cesárea.
- Neonatos con puntuación Apgar igual o menor a 7 a los 5 minutos.

Criterios de Exclusión

- Neonatos con más de 96 horas de vida.
- Pacientes inestables metabólica y hemodinámicamente.
- Pacientes con anomalía estructural observada en el estudio inicial.
- Pacientes con malformación congénita.

- Historia materna de uso de drogas y/o medicamentos durante el embarazo o el periodo perinatal.
- Historia materna de eclampsia, infección e hipovolemia peri-parto.
- Uso de sedantes, anestesia general durante el periodo perinatal.
- El no consentimiento por los padres.

MÉTODOS DEL ESTUDIO RADIOLÓGICO

Diseño del Estudio

El presente trabajo es un estudio cualitativo, descriptivo y correlacional. Se han revisado diariamente los expedientes clínicos del Departamento de Neonatología por parte de los residentes y estudiantes de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., así como por el autor, para reclutar la población de estudio de acuerdo a los criterios de inclusión. Una vez seleccionada la población de estudio, se informó a los padres de la importancia del mismo para determinar objetivamente la presencia o ausencia de datos compatibles con hipoxia encefálica. Se tomaron los datos generales de los padres, abuelos y tíos para, en caso necesario, poder localizarlos en una segunda fase del estudio (Anexo 2). Seguidamente y previa firma por los padres del consentimiento informado (Anexo 1), se realizó una IRM dentro de las primeras 96 horas de vida con protocolo estandarizado (secuencias axiales T1, T2 FLAIR y secuencia de difusión).

Protocolo de Resonancia Magnética

Este protocolo consiste en la realización de estudios de Resonancia Magnética (Fig. 52) con la secuencia de difusión, así como mapeo ADC, en pacientes recién nacidos mayores de 34 semanas y que presenten un valor menor de 7 en la escala de Apgar a los 5 minutos. Los parámetros para la adquisición de estas imágenes se encuentran programados en nuestros sistemas y pueden ser ubicados en la tableta de protocolos como "*Protocolo Apgar Bajo-Lóbulo Temporal*".

La calidad de imagen de nuestros sistemas ha sido sometida a revisión, de forma que, para cumplir con la estandarización de los estudios, se requiere que los parámetros programados en dicho protocolo no sean modificados.

La recepción de estos pacientes se realizó en cualquier horario previa autorización del residente de Radiología que se encuentre de guardia. El estudio se solicita por el departamento de Pediatría a nombre del Dr. Roberto Alejandro Lugo Guillén y especifica el nombre del protocolo “Protocolo Apgar Bajo-Lóbulo Temporal”.



Figura 52. Equipo de IRM con magneto de 1.5 T (GE medical systems, Milwaukee, Wis).

La resonancia magnética nuclear es una técnica de imagen diagnóstica que ha sido usada para varios estudios clínicos sobre eventos isquémicos, típicamente se realiza un estudio de resonancia magnética en el siguiente orden:

1. Localizador 3 planos.
2. Técnica de imagen de difusión de agua (DWI).

Este protocolo nos permitirá la evaluación de la región temporal de forma bilateral en búsqueda de áreas de:

- a. Edema isquémico agudo.
- b. Infarto subagudo.

Preparación del Paciente

El estudio de resonancia magnética se realiza antes de que se completen 96 horas posteriores al nacimiento. El paciente permanece cuidadosamente envuelto y abrigado. Un residente de Pediatría se encarga de monitorizar al paciente durante el proceso, si no hay contraindicación médica. La comodidad del paciente es importante a la hora de limitar su movimiento, por lo que se posiciona correctamente la cabeza y, en caso de presentar desviación forzada, se estabiliza sin colocar la cabeza en la posición ortogonal típica (Fig. 53).



Figura 53. Imágenes del protocolo para la realización de la IRM en neonatos.

Recomendaciones de Seguridad

No se aceptan pacientes clínicamente inestables. Por seguridad, para prevenir daño auditivo, se proporcionan tapones auditivos. Los pacientes con contraindicación para el examen de resonancia magnética son los portadores de marcapasos, desfibriladores, implante coclear, neuroestimuladores, fragmentos ferromagnéticos infraorbitarios o intracraneales, algún tipo de clips vasculares y prótesis valvulares.

Obtención de Imágenes

Los aspectos técnicos de la obtención de las imágenes están resumidos en la tabla 2. Los estudios se realizaron en un equipo de resonancia magnética GE Signa de 1.5 tesla utilizando una antena HDNV con el paciente en decúbito supino, entrando primero la cabeza en el equipo de resonancia y usando un plano oblicuo, en modo 2D y con secuencias de pulso en Spin Echo obtenidas en cortes axiales desde la base del cráneo hasta la convexidad y adaptando los parámetros al cerebro pediátrico. El tiempo total de estudio es de 5 minutos.

Imagen de Difusión: DWI EPI

La secuencia requerida es una secuencia de difusión pesada spin echo ecoplanar con una sensibilidad de difusión, donde $b = 1000 \text{ s/mm}^2$, con un máximo de 22 cortes de 5mm/0mm de gap, cubriendo el cerebro completo en plano axial. Los parámetros de ventana deberán ser encendidos, siendo el ancho de la ventana bajo (width) combinado con un alto nivel de ventana, estos parámetros son necesarios para tener un fuerte contraste entre el núcleo de la lesión y el tejido circundante con la difusión normal. Existen artefactos de imagen que se asocian con la base del cráneo, mostrándose más intensos en su proximidad y no deben ser confundidos con isquemia cerebral.

Tabla 2. Aspectos técnicos de obtención de imágenes

Secuencia / Parámetro	Difusión
TE	Min
TR	9000
Inv. Time	
Bandwidth	
FOV	20
Slice Thick	5
Spacing:	0
Start R/L	L7.0
Start A/P	P13.5
Start S/I	I8.6
End R/L	L1.7
End A/P	P12.7
End S/I	S8.9
# Slices	22
Scan time	01:21
Total Slices	22
SNR%	51
Frequency	128
Phase	128
NEX	2
Phase FOV	1
Freq. DIR	R/L
Shim	Auto

Difusión

Técnica ultrarrápida RM sensible a las modificaciones en el movimiento microscópico aleatorio de las moléculas de agua en determinados medios y circunstancias, restricciones de membranas y organelas, viscosidad del citosol y espacio intersticial, así como tortuosidad intersticial.

Interpretación de Imágenes

Un Radiólogo con certificación en Neurorradiología evaluó las diferentes proyecciones obtenidas en cada uno de los pacientes y reunió los diferentes datos y parámetros que incluyen una evaluación completa del lóbulo temporal. El Radiólogo no conocía a detalle la historia de cada paciente, por lo que se considera un estudio ciego.

Los criterios radiológicos para hipoxia son:

- Sustancia gris hiperintensa en T1 y de intensidad variable en T2, dependiendo de la hora y la condición patológica subyacente, tal como hemorragia o gliosis.
- Lesiones hipointensas en T1 e hiperintensas en T2 en la sustancia blanca debido a isquemia o edema.
- Áreas hiperintensas en los lóbulos temporales vistos en secuencia de Difusión.

B. ANTECEDENTES CLÍNICOS

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Se procedió al análisis de los antecedentes clínicos de los pacientes, descritos en el estudio radiológico, a partir de los registros de las historias clínicas de sus madres y

de los datos recabados de los propios pacientes tras su nacimiento. Se establecieron las siguientes variables:

- **Número de Gestas:** número de embarazos existentes a la fecha del estudio.
- **SDG (Semanas de Gestación):** número de semanas desde la concepción.
- **Horas transcurridas hasta el estudio:** periodo transcurrido entre el nacimiento y la realización del estudio de Imagen de Resonancia Magnética.
- **Apgar 1min:** puntuación del neonato obtenida en el primer minuto de vida.
- **Apgar 5min:** puntuación del neonato realizado a los cinco minutos de vida.
- **Abortos:** pérdida de producto menor de veinte semanas de gestación o con menos de 500 gramos de peso.
- **Consultas Prenatales:** revisión médica periódica durante la gestación con la finalidad de llevar un embarazo normo-evolutivo.
- **IVSA (Inicio de Vida Sexual Activa):** edad de comienzo de las relaciones sexuales.
- **UCIN Días:** periodo durante el cual el paciente se encuentra internado en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.
- **Parto:** nacimiento del producto vía vaginal.
- **Cesárea:** procedimiento quirúrgico para la extracción del producto vía abdominal.
- **Epilepsia en el Embarazo:** episodios epilépticos ocasionados por descargas excesivas de las neuronas en la corteza cerebral ocurridos durante el periodo gestacional.
- **Complicaciones Prenatales:** trastorno o efecto adverso ocurrido en el periodo gestacional.
- **Migraña:** cefalea pulsátil, episódica de entre 4 a 72 horas de duración que puede asociarse a fenómenos visuales, sensitivos y autonómicos.

- **HTA (Hipertensión):** la presencia de cifras tensionales mayores a 139 para la tensión arterial sistólica y mayor de 89 la tensión arterial diastólica.
- **DM (Diabetes Mellitus):** enfermedad crónica del metabolismo que se debe a la falta total o parcial de insulina o a la resistencia celular a esta hormona y que conduce a la elevación de la glucosa en sangre.
- **Tabaquismo:** consumo de tabaco.
- **Alcoholismo:** consumo de alcohol.
- **Familiares con Epilepsia:** personas que padezcan epilepsia relacionadas en primera línea con los padres.
- **Estado Civil:** situación personal en la que se encuentra o no una persona en relación a otra con quien se crean lazos jurídicamente reconocidos.
- **Ácido Fólico:** vitamina hidrosoluble del complejo de vitaminas B conocida como B9 y que participa en la formación de proteínas estructurales, hemoglobina y en el desarrollo del tubo neural.
- **MPF (Método de Planificación Familiar):** procedimiento utilizado con la finalidad de evitar el embarazo.
- **Tipo de MPF:** anticonceptivo seleccionado por la madre.

MÉTODO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos fueron recabados en una base de datos desarrollada en el programa IBM Statistic SPSS 21 para su posterior análisis en el mismo software. Se obtuvieron, de todas las variables evaluadas, los estadísticos descriptivos tradicionales, tales como las medidas de tendencia central (media, mediana y moda), medidas de dispersión (varianza, desviación estándar y coeficiente de variación) y medidas de posición (cuartiles, quintiles y deciles) en el caso de las variables cuantitativas, así como las frecuencias observadas en las variables de tipo cualitativo.

La comparación de variables se realizó segmentando según la vía de nacimiento, mediante pruebas de hipótesis a una confiabilidad del 95%.

C. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

SOLUCIONES Y REACTIVOS EMPLEADOS

- **Tampón fosfato salino (PBS), 150 mM:**

Cloruro potásico	0,2 g
Fosfato potásico monobásico	0,2 g
Fosfato sódico	2,16 g
Cloruro sódico	8 g
H ₂ O destilada	hasta 1 litro

El pH se ajustó a 7,4 con HCl

- **Tampón tris salino (TBS), 20x (0.5 M):**

Trizma base	121,1 g
Cloruro sódico	175,3 g
H ₂ O destilada	hasta 1 litro

El pH se ajusta a 7,4 con HCl.

Para su empleo, se diluye a 1x con agua destilada.

- **Tampón Citrato 10 mM:**

Ácido cítrico 0,1 M	36 ml
Citrato sódico 0,1 M	164 ml
H ₂ O bidestilada	hasta 2 litros.
Ácido cítrico 0,1M	1,01 g/l en H ₂ O destilada
Citrato sódico 0,1M	29,4 g/l en H ₂ O destilada

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se estudiaron cuatro muestras de hipocampo humano obtenidas de los archivos de patología del Hospital Universitario Dr. José E. González de Monterrey (Tabla 3).

Tabla 3. Procedencia de las muestras del estudio inmunohistoquímico.

Paciente	Edad	Causa de Defunción
1	1 día	Choque cardiogénico
2	1 mes	Sarcoma de células claras en riñón
3	1 año	Síndrome de insuficiencia respiratoria
4	Neonato	Asfixia perinatal

De los bloques de tejido incluidos en parafina, se obtuvieron secciones de 5 μm empleando un microtomo (Microm), que se montaron en portaobjetos silanados para aumentar la adherencia de las muestras y evitar que se desprendieran durante su manipulación. El silanado de los portaobjetos se realizó mediante inmersión con 3-aminopropil trietoxisilano al 3% en acetona (2 minutos), seguido de dos lavados con acetona de 1 minuto cada uno, y dos lavados en agua destilada de 1 minuto cada uno, dejando secar los portaobjetos tratados a 60°C.

La primera de las secciones obtenidas fue teñida con el método de Klüver-Barrera, para el análisis anatomopatológico, método específico para el tejido nervioso ya que tiñe tanto los cuerpos neuronales como las prolongaciones (sustancia gris y sustancia blanca). Las restantes secciones fueron guardadas para el estudio inmunohistoquímico posterior.

Tinción Klüver-Barrera

Soluciones

- **Solución de Luxol fast blue al 0.1%:**

Luxol fast blue	0.1 gm
Etanol 95%	100 ml
Ácido acético glacial	0.5 ml

- **Solución de violeta de cresilo al 0.1%:**

Violeta de cresilo	0.1 gm
Agua destilada	100 ml

Añadir 10 gotas de ácido acético glacial justo antes de usar y filtrar.

- **Solución de carbonato de litio al 0.05%:**

Carbonato de litio	0.05 gm
Agua destilada	100 ml

Protocolo

1. Desparafinar e hidratar hasta alcohol etílico al 95%.
2. Sumergir las secciones en la solución de luxol fast blue toda la noche en estufa a 56 °C.
3. Eliminar el exceso de coloración con alcohol etílico al 95%.
4. Aclarar con agua destilada.
5. Diferenciar con la solución de carbonato de litio durante 30 seg.
6. Continuar la diferenciación en alcohol al 70% durante 30 seg.
7. Aclarar en agua destilada.
8. Comprobar bajo el microscopio si la sustancia gris está clara y la sustancia blanca está perfectamente definida.
9. Repetir la diferenciación (pasos 5-7) si fuera necesario.
10. Contrastar con la solución de violeta de cresilo durante 30-40 seg.

11. Aclarar en agua destilada. No pasar las secciones por alcohol de 70% que eliminaría la tinción de luxol fast blue).
12. Diferenciar en alcohol de 95% durante 5 min. (comprobar bajo el microscopio).
13. Alcohol 100% 2x5 min.
15. Xilol 2x5 min.
16. Montar con Entellan^R.

Resultados

Mielina, incluyendo fosfolípidos	azul a verde
Neuronas	rosa a violeta

Técnica Inmunohistoquímica

La técnica inmunohistoquímica se realizó mediante el desparafinado y la rehidratación de las secciones, que posteriormente se sometieron a un proceso de desenmascaramiento de antígenos mediante la incubación de las secciones en tampón citrato 10mM, en olla exprés convencional durante 2 minutos. Tras dos lavados rápidos con agua destilada y dos lavados de 5 minutos cada uno con TBS, se incubaron las secciones en solución de bloqueo (suero de burro al 3% en TBS con 0.05% de tritón X-100), durante 20 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras fueron incubadas con los anticuerpos primarios correspondientes (Tabla 4).

La incubación con el anticuerpo primario se realizó toda la noche a 4°C. Posteriormente, se realizaron dos lavados con TBS de 10 minutos cada uno y se incubaron las secciones con un sistema de detección basado en la tecnología de polímeros (MasVision-HRP, Máster Diagnóstica, Granada) conjugado con peroxidasa, durante 20 min.

Posteriormente se realizaron dos lavados con TBS durante 10 minutos cada uno y la actividad peroxidasa se reveló utilizando el *kit* DAB-peroxidasa (Máster Diagnóstica).

Una vez revelado, los núcleos celulares se tiñeron con hematoxilina durante 30 segundos, las secciones se lavaron en agua corriente y se deshidrataron con graduaciones crecientes de alcohol, se aclararon en xilol y se montaron los cubreobjetos con Entellan^R (Merck).

Tabla 4. Anticuerpos primarios utilizados, casa comercial y dilución usada.

Anticuerpo Primario	Tipo de anticuerpo	Casa Comercial	Dilución	Especificidad
PCNA	Monoclonal, ratón	Dako	1:2000	Se expresa en células que están en fase de Síntesis de ADN previa a mitosis
HIF-1 α	Monoclonal, ratón	BD Transduction Laboratories	1:500	Factor inducido por hipoxia
VEGF-A	Monoclonal, ratón	Santa Cruz Biotechnology	1:100	Factor de crecimiento vasculo-endotelial
S1PR1	Monoclonal, ratón	Millipore	1:50	Receptor 1 de la esfingosina fosfato
SK1	Policlonal, conejo	Acris	1:50	Esfingosina quinasa

PCNA: antígeno de proliferación celular.

Evaluación de la Expresión Proteica

La evaluación de la expresión proteica se realizó mediante un sistema de gradación subjetiva, desde la intensidad nula de marcaje de la proteína (-), intensidad débil (+), intensidad moderada (++) e intensidad máxima (+++). Esta evaluación fue realizada por dos observadores independientes.

TUNEL

Para la detección de las células apoptóticas, la técnica más utilizada es la técnica TUNEL (*Terminal dUTP Nick-End Labeling*), el ensayo depende de la presencia de roturas en el ADN que pueden ser identificadas por la deoxinucleotidil terminal transferasa (TdT), una enzima que cataliza la adición de moléculas de deoxiuridinotriposfatos (dUTPs) que llevan incorporadas un marcador. La técnica TUNEL se realizó utilizando el *kit* de Promega (DeadEnd Fluorimetric Tunel System).

Protocolo

1. Desparafinar, hidratar.
2. Lavar en solución de NaCl 0,85% durante 5 min., a temperatura ambiente.
3. Lavado en PBS
4. Lavado en PBS durante 5 min., a temperatura ambiente.
5. Metanol al 4% en PBS a temperatura ambiente durante 15 min.
6. PBS 2 X 5 min.
7. Permeabilizar con proteinasa K durante 9 min, a una concentración de 20 $\mu\text{gr/ml}$.
8. PBS durante 5 min.
9. Metanol al 4% en PBS a temperatura ambiente durante 5 min.
10. PBS durante 5 min.
11. Tampón de equilibrado durante 7 min.
12. Mezcla de incubación (preparar la mezcla en hielo para que la reacción no comience hasta que la pongamos sobre la muestra)

50 μl de reacción

Tampón de equilibrado 45 μl

Mezcla de nucleótidos 5 μl

rTdT enzima 1 μl

Incubar en oscuridad durante 60 min a 37 °C

13. Diluir el tampón SSC 20X 1:10 con agua desionizada para pasar a una concentración final 2X y sumergir las secciones durante 15 min.
14. PBS 2X5 min.
15. Agua destilada 2X5 min.
16. Incubar las secciones durante 30 min con anti isotiocianato de fluoresceína (FITC) conjugado con peroxidasa, a una dilución de 1:300.
17. Lavado en PBS 2X 10 min.
18. Revelado con DAB.
19. Lavado en agua.
20. Contrastar los núcleos con hematoxilina.
21. Lavado en agua.
22. Deshidratar y montar con Entellan®.

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

Título del protocolo:

Relación de la escala de APGAR con hipoxia encefálica

Investigador principal:

Dr. Roberto Alejandro Lugo Guillén

Sede donde se realizará el estudio:

Hospital Universitario “José Eleuterio González”
“Alta Especialidad”

Hospital Regional Materno Infantil

Nombre del paciente:

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La falta de una adecuada irrigación/oxigenación de la llamada región temporal del cerebro produce que las neuronas de esa zona se lesionen o incluso sufran necrosis, la cual ha sido históricamente relacionada con la atrofia hipocámpica del cerebro llamada Esclerosis Mesial Temporal (EMT) y esta, con la epilepsia. Por otro lado, el puntaje APGAR es una herramienta que se ha utilizado rutinariamente para evaluar el grado de sufrimiento perinatal por pobre oxigenación, por lo que es una forma clínica rápida, fácil y barata de evaluar la alteración en la oxigenación del cerebro en dicho periodo; sin embargo no hay análisis prospectivo que corrobore con la tecnología actual dicha aseveración. Este estudio podría avalar la afirmación de que la puntuación Apgar es una valiosa herramienta para detectar hipoxia en el lóbulo temporal.

ANEXO 1 (pag 2)

OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos:

Relacionar el puntaje de la escala APGAR con la presencia o ausencia de hipoxia cerebral demostrada por IRM en secuencia de difusión.

Objetivos específicos

- Evaluar recién nacidos a término utilizando la escala de APGAR.
- Evaluar la hipoxia por medio de la IRM en secuencia de difusión.
- Correlacionar el puntaje de la escala de APGAR y las imágenes de IRM con secuencia de difusión.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido de la realización del protocolo, ya que con ello se lograría predecir y en algunos casos evitar la aparición de complicaciones de la hipoxia.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre el recién nacido, los hábitos maternos prenatales y los antecedentes médicos tanto de padres y familiares como del bebé, se obtendrán los datos generales tanto de los padres como de los abuelos y tíos de tal manera sea posible localizarlos en la segunda fase del estudio (a los 2 años de edad) y una vez firmado el consentimiento informado por los padres se realizará una IRM (Resonancia Magnética) dentro de las primeras 96 horas de nacido (estudio basal que servirá como control) con protocolo estandarizado de secuencias coronales mediante resonancia magnética nuclear. Este estudio no es doloroso y tiene una duración de 1 minuto aproximadamente, no requiere anestesia ni sedación.

ANEXO 1 (pag. 3)**RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

La técnica de imagen a realizar es un estudio no invasivo, que no emite radiación y hasta el momento no se conoce que produzca algún efecto adverso en el paciente.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información en cualquier momento del desarrollo de la misma.

Además, entiendo que estoy en la libertad de retirarme en el momento que desee y si tomo esta decisión no me afectará en futuros tratamientos que requiera en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Entiendo que la información obtenida de la investigación será manejada en forma confidencial y que en ningún momento se violará mi privacidad.

Además, el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL, estará en la disposición de brindarme tratamiento médico o quirúrgico sin costo, en caso de que resultara dañado directamente por cualquiera de los procedimientos del proyecto de investigación, y en caso de daño permanente, tendré derecho a ser indemnizado de acuerdo al daño sufrido.

ANEXO 1 (pag. 4)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr. (a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

ANEXO 1 (pag. 5)

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo:

Relación de la escala de APGAR con hipoxia encefálica

Investigador principal:

Dr. Roberto Alejandro Lugo Guillén

Sede donde se realizará el estudio:

Hospital Universitario "José Eleuterio González"

Nombre del paciente:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones:

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

ANEXO 2

FORMA DE DATOS GENERALES Y FAMILIARES



***Facultad de Medicina
Hospital Universitario
Dr. Roberto Alejandro Lugo Guillen.***

Nombre del paciente: _____

Nombre del padre: _____

Teléfono: _____

Dirección: _____

Nombre de la madre: _____

Teléfono: _____

Dirección: _____

Nombre de tío(a) _____

Telefono _____

Dirección: _____

Nombre de tío(a) _____

Telefono _____

Dirección: _____

Abuelos Paternos.

Nombre del abuelo: _____

Vivo _____ Finado _____

Causa de defunción: _____

Dirección: _____

ANEXO 2 (pag. 2)

Nombre de la abuela: _____
Vivo _____ Finado _____
Causa de defunción: _____
Dirección: _____

Abuelos Maternos.

Nombre del abuelo: _____
Vivo _____ Finado _____
Causa de defunción: _____
Dirección: _____

Nombre de la abuela: _____
Vivo _____ Finado _____
Causa de defunción: _____
Dirección: _____

Antecedentes Familiares de epilepsia.

Antecedentes paternos: Si _____ No _____

Antecedentes maternos: Si _____ No _____

Antecedentes por crisis febriles: Si _____ No _____

ANEXO 2 (pag. 3)

Escala de APGAR: _____

Trastornos Prenatales: Si _____ No _____

Problemas perinatales: Si _____ No _____

RESULTADOS

RESULTADOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

Cambios Histopatológicos

Este análisis se ha realizado en las muestras descritas en la Tabla 3, referentes al “Estudio Inmunohistoquímico” del apartado “Material y Métodos”. Con la tinción de Klüver-Barrera, hemos podido observar que en la muestra de hipocampo del paciente que sufrió asfixia perinatal, el número de células piramidales de cada una de las regiones hipocampales es menor cuando lo comparamos con el paciente de 1 día de edad (Fig. 54).

Estos resultados inducen a pensar que existe una abundante muerte neuronal debido a la hipoxia; por ello, evaluamos el número de células muertas por apoptosis con la técnica TUNEL que consiste en medir las roturas existentes en la cadena de ADN incorporando moléculas marcadas fluorescentemente.

Mediante la técnica TUNEL se observó que, en el paciente que presentó asfixia perinatal, todas las regiones del hipocampo mostraban un mayor número de células que sufren apoptosis, especialmente en la capa de células piramidales de la región CA4 y en la capa granular del giro dentado (Fig. 29). En el paciente de un día de edad, con síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, pudimos observar células que sufren muerte celular por apoptosis en las regiones CA3, CA4 y giro dentado.

El estudio de las muestras del paciente de un mes de edad, a pesar de que falleció debido a un sarcoma de células claras en el riñón derecho, reveló que la mayoría de los núcleos neuronales y de células gliales estaban marcados. Sin embargo, las muestras del paciente de un año de edad no mostraron células apoptóticas (Fig. 55).

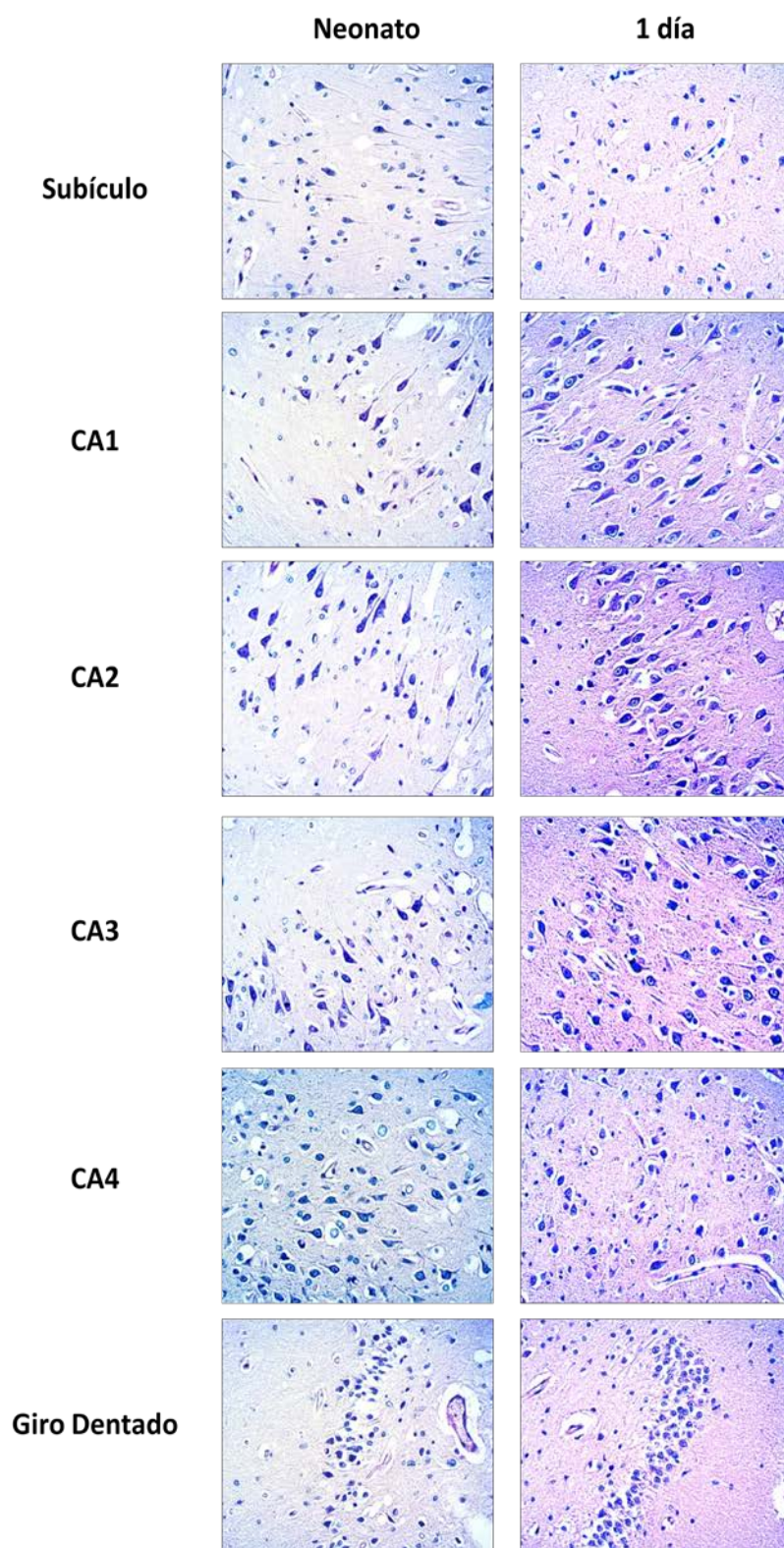


Figura 54. Tinción Klüver-Barrera. Hipocampo de paciente con asfixia perinatal (izquierda) y paciente con 1 día de edad (derecha). Puede observarse que con la hipoxia disminuye el número de cuerpos neuronales en todas las regiones hipocampales. X300. Sub: Subículo.

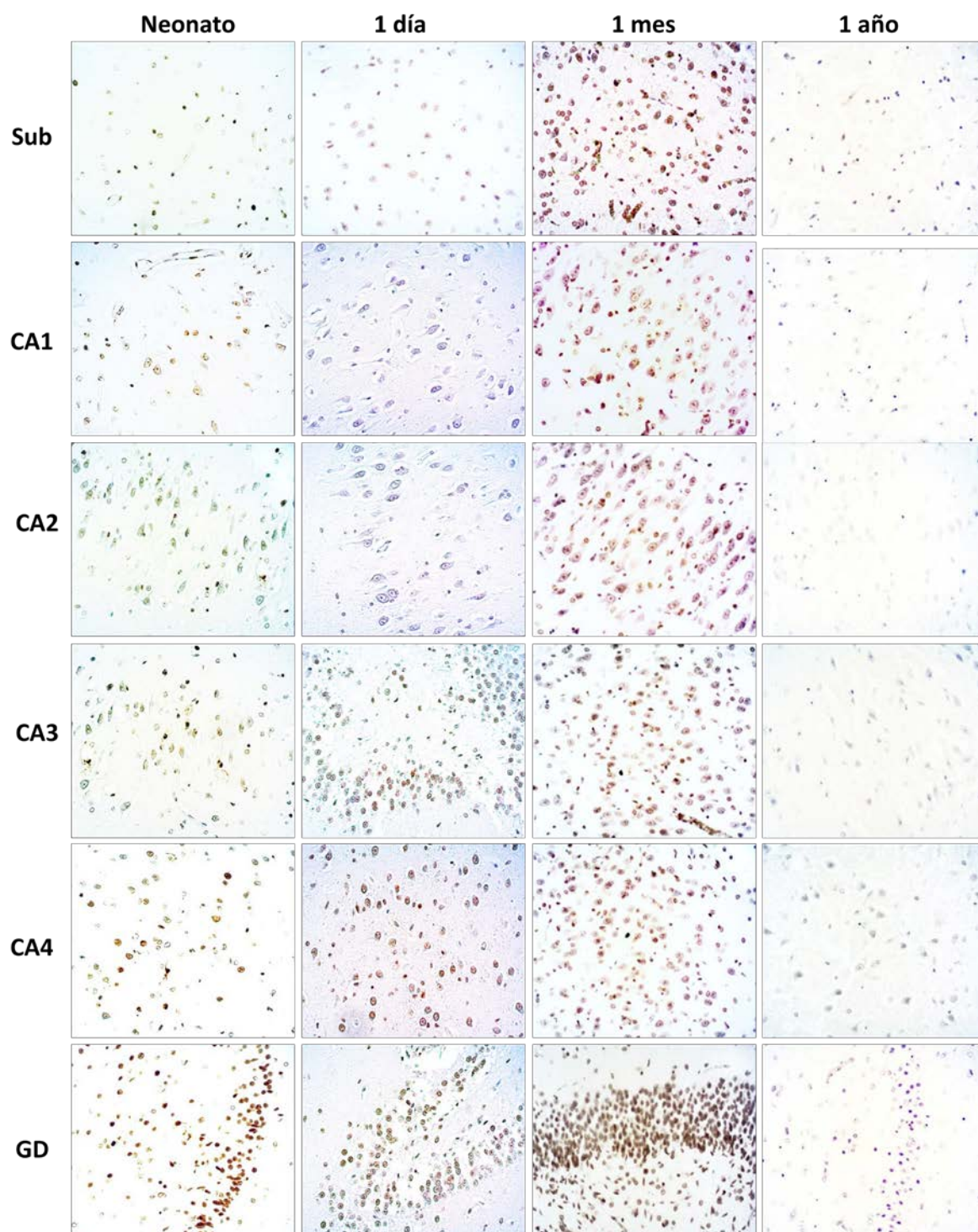


Figura 55. Técnica TUNEL. Las células apoptóticas aparecen con los núcleos en color marrón. Puede observarse mayor número de células apoptóticas en el neonato que presentó asfixia perinatal y en el paciente de 1 mes de edad. x300. Sub: Subículo; GD: Giro dentado.

Estudio de la Proliferación Celular

Aunque la mayoría de la neurogénesis ocurre en el desarrollo inicial, ciertas regiones del cerebro mantienen la neurogénesis a través de la vida. Estas incluyen el giro dentado y la zona subventricular que rodea los ventrículos laterales. Las células madre neurales del hipocampo residen en la zona subventricular del giro dentado donde proliferan y producen nuevas células. Una parte de estas nuevas células se diferencian en células granulares del giro dentado que migran a la capa granular, extendiendo sus dendritas a la capa molecular dentada y envían los axones al hilio dentado y al estrato lúcido de la CA3. Es por ello, que quisimos estudiar qué regiones presentaban un mayor número de células PCNA positivas, lo que indicaría un aumento en la proliferación celular.

El estudio de PCNA en el paciente neonato con asfixia perinatal mostró algunas células PCNA positivas, principalmente en las regiones CA1 y CA2, donde aparecen marcados algunos núcleos neuronales y sobre todo núcleos de células gliales (Fig. 56).

En el paciente de un día de edad, hay un escaso número de células proliferantes en cada región hipocampal. El paciente de un mes de edad no mostró presencia de células en proliferación; y, en el paciente con un año de edad, aparece un gran número de células PCNA positivas incluido en el giro dentado, región donde no se observa proliferación en las otras muestras, indicando que a lo largo de la vida existe neurogénesis (Fig. 56).

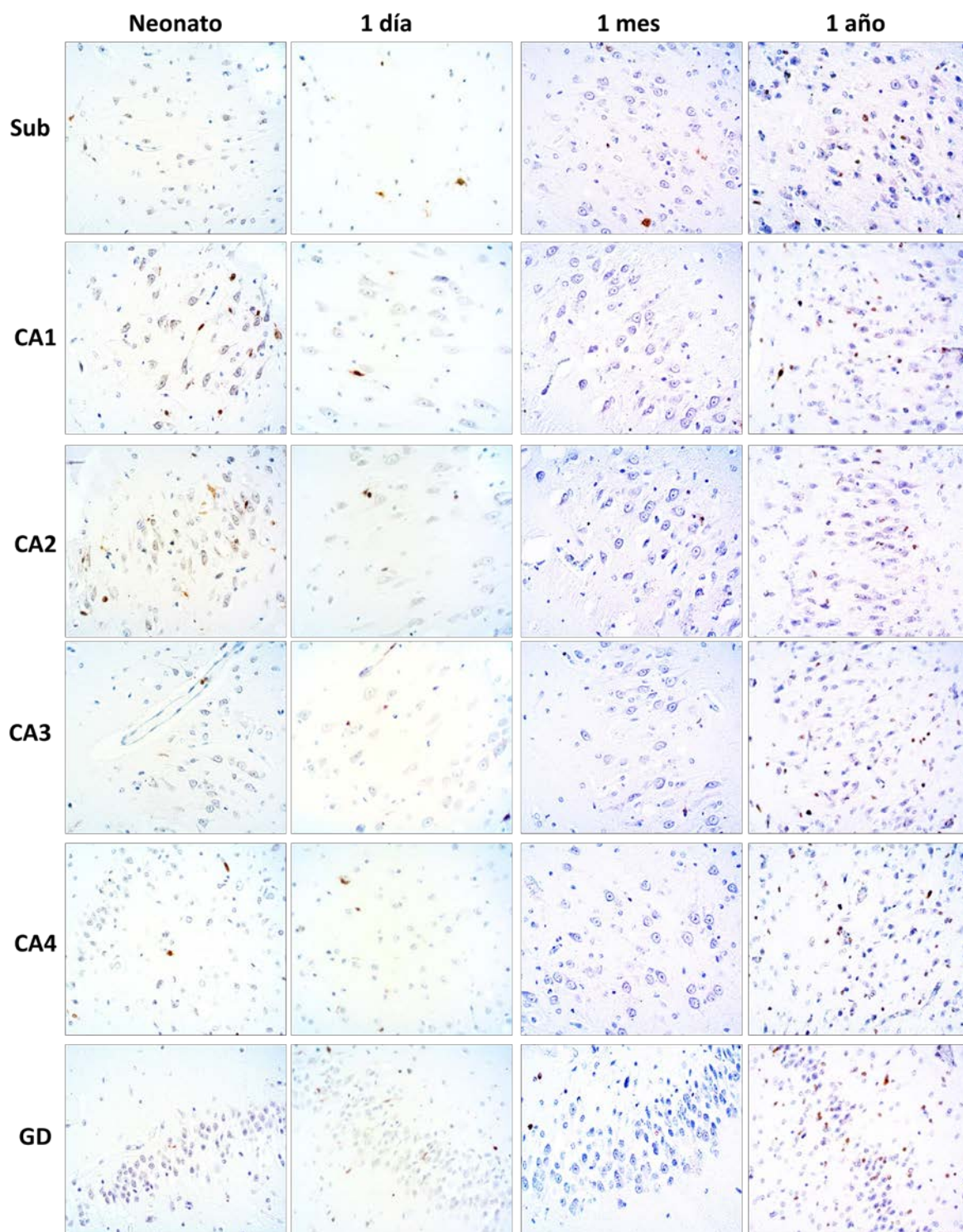


Figura 56. Inmunotinción para PCNA. En el neonato con asfixia perinatal el número de células PCNA positivas (núcleos en marrón) es escaso, aunque se concentra principalmente en las regiones CA1 y CA2. En el paciente de un día apenas hay proliferación celular, al igual que en el paciente de un mes de edad. En el hipocampo del paciente de un año de edad se observa un mayor número de neuronas PCNA positivas. x300. Sub: subículo. GD: Giro dentado.

Factor Inducido por Hipoxia (HIF-1 α)

Ya que la carencia de oxígeno induce la dimerización de HIF y su traslación al núcleo para actuar como factor de transcripción e inducir la expresión de genes diana, quisimos estudiar la expresión de HIF-1 α .

El paciente con asfixia perinatal presentó una inmunorreacción moderada, localizada principalmente en el pericarion de las células piramidales del subículo y la región CA1; sin embargo, en el resto de las regiones hipocampales la reacción fue débil (Fig. 57).

El paciente de un día de edad no presentó positividad para este factor y en los demás pacientes, en todos los casos, HIF-1 α está presente en el citoplasma neuronal y en el núcleo de algunas neuronas, con reacción más intensa en las regiones CA1, CA2 y CA3, siendo el giro dentado prácticamente negativo (Fig. 57).

Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF)

Debido a que uno de los genes diana de HIF-1 α es el factor de crecimiento del endotelio vascular, quisimos determinar la presencia de este factor en las distintas regiones hipocampales. Observamos que en el neonato con asfixia perinatal (Fig. 58), VEGF-A se expresa en todas las regiones, localizándose en el pericarion de las neuronas y en los neuropilos, con una disposición granular. Las regiones que presentaron mayor intensidad de marcaje fueron CA1, CA2 y CA3. En el giro dentado la expresión fue moderada. En las demás muestras, la expresión y localización de VEGF-A fue similar, siendo el paciente de un año de edad el que presentó un menor inmunomarcaje (Fig. 58).

Receptor 1 de la Esfingosina 1-Fosfato (S1PR1)

En todas las muestras analizadas, y en todas las regiones del hipocampo, encontramos reacción positiva para S1PR1. Observamos una expresión muy intensa en el paciente de un año de edad, no sólo en el pericarion si no también en las proyecciones neuronales (Fig. 59).

Debido a esta presencia tan abundante del receptor 1 de la esfingosina 1-fosfato, quisimos comprobar también si en el hipocampo se detectaba expresión de la esfingosina quinasa 1 (SK1), molécula implicada en la fosforilación de la esfingosina, en todas las muestras estudiadas y en todas las regiones no se detectó presencia de SK1 (Fig. 60).

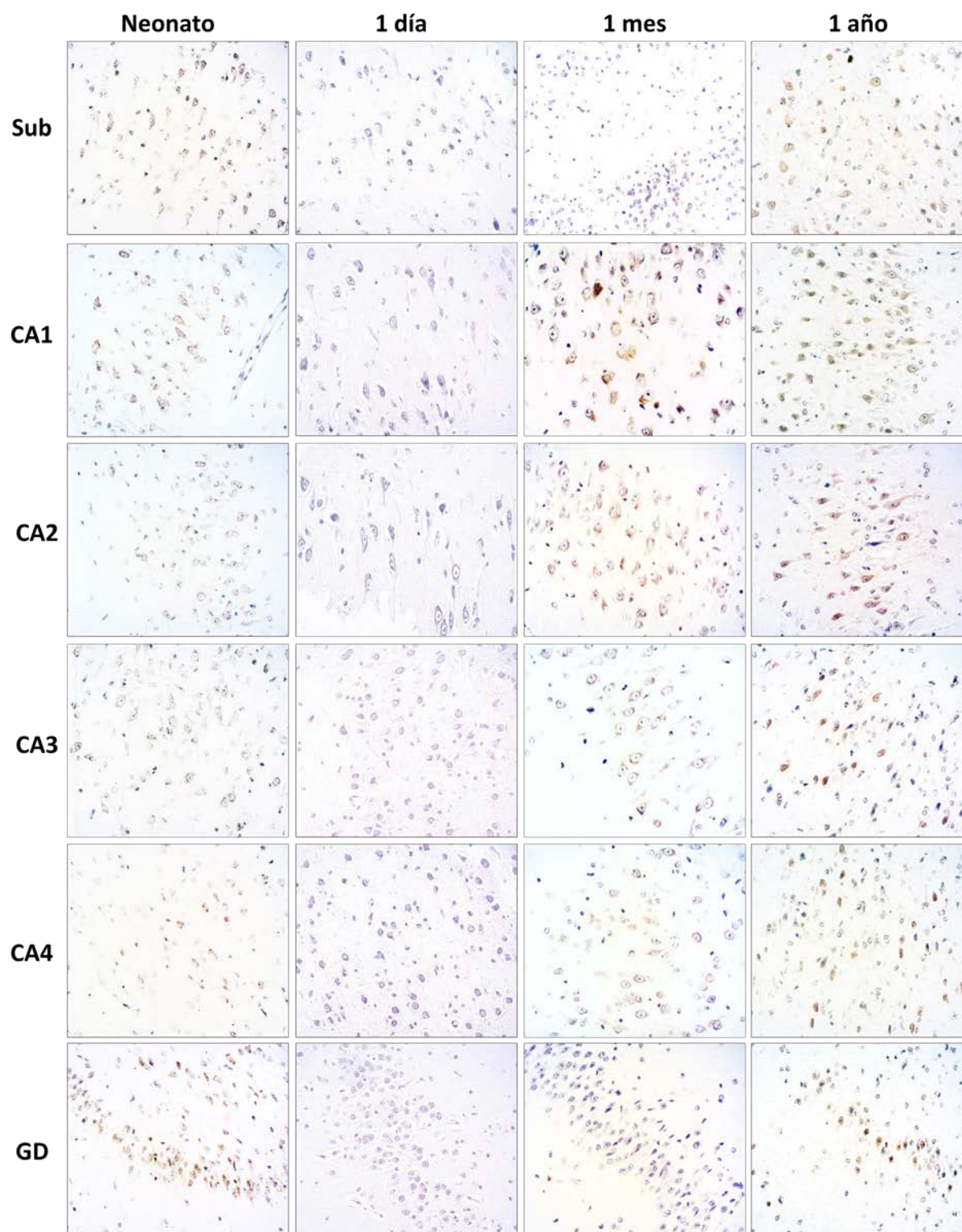


Figura 57. Expresión de factor inducido por hipoxia 1 α (HIF-1 α). En el hipocampo del paciente con un día de edad, no se detectó expresión de HIF-1 α en ninguna de las regiones hipocámpales. Tanto el neonato con asfixia perinatal como el paciente con un año de edad mostraron una moderada expresión de HIF-1 α en el citoplasma perinuclear de las neuronas granulares y piramidales. x300. Sub: Subículo. GD: Giro dentado.

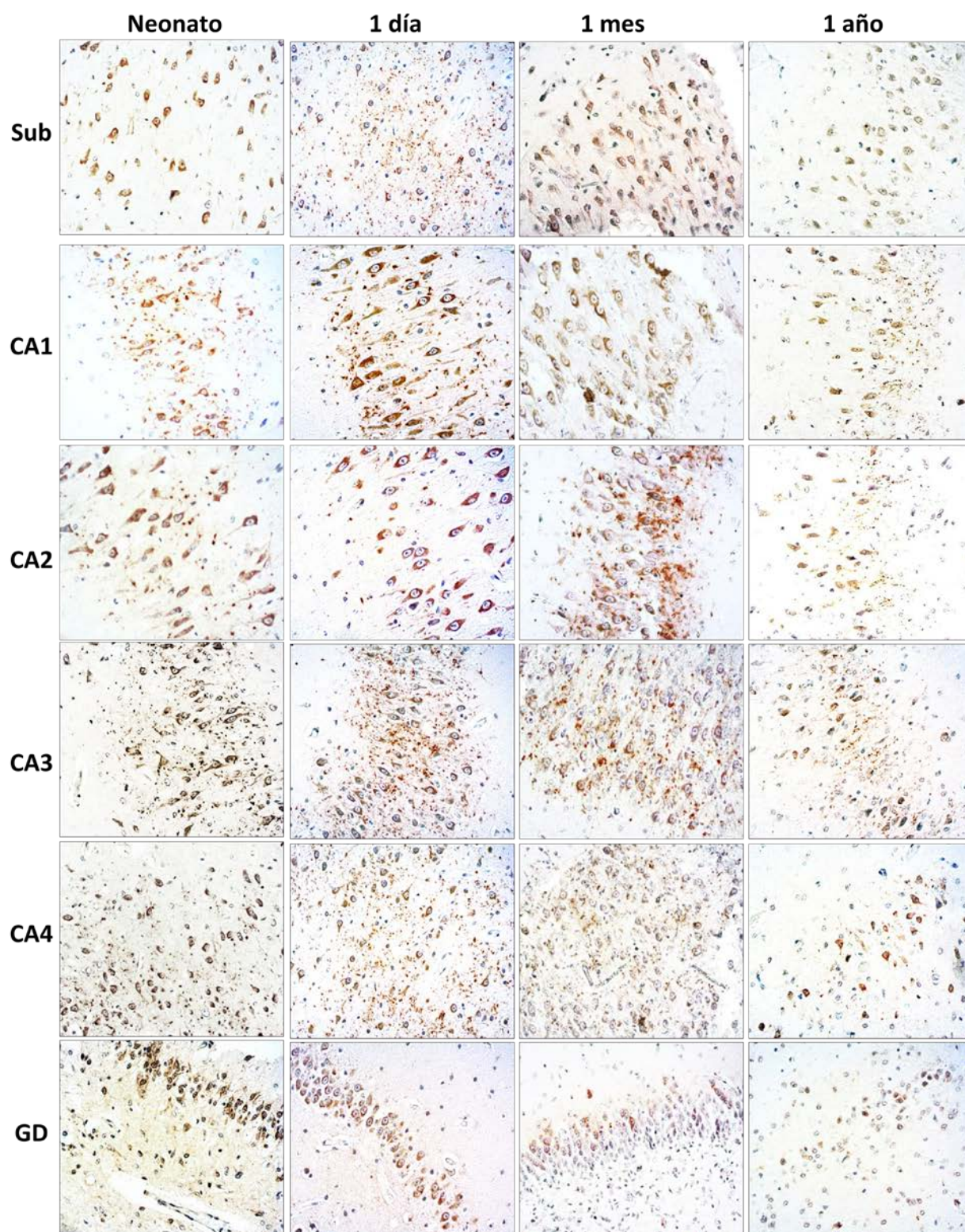


Figura 58. Inmunolocalización de VEGF-A. En todas las muestras hipocampales, VEGF-A se localiza tanto en el soma neuronal como en los neuropilos, en este caso con patrón granular. La expresión es intensa en todas las regiones del hipocampo, excepto en el giro dentado donde es moderada. En el paciente con un año de edad, la intensidad de la señal es menor. x300. Sub: Subículo. DG: Giro dentado.

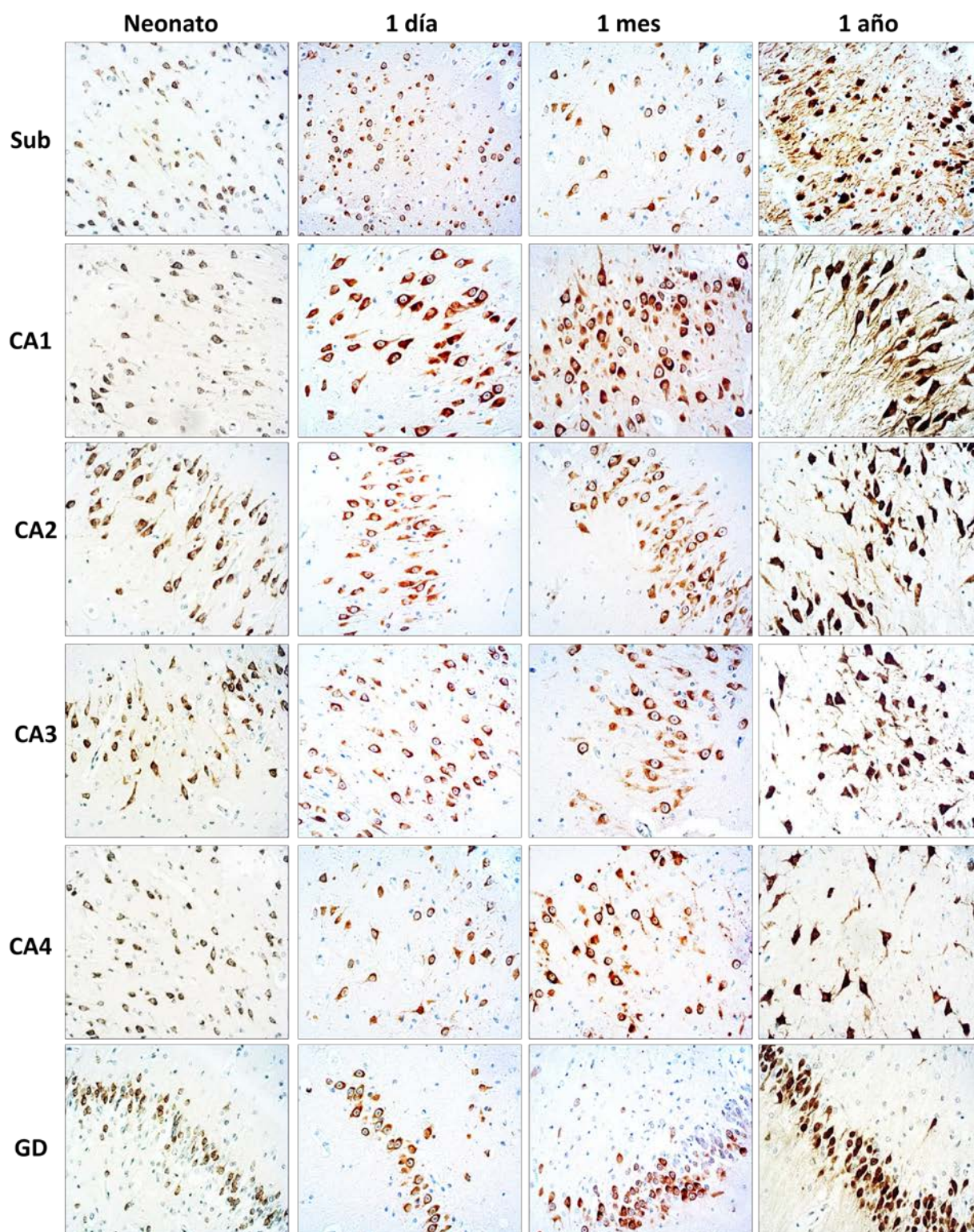


Figura 59. Inmunotinción para el Receptor 1 de la Esfingosina 1-fosfato (S1PR1). La expresión del S1P1 es muy intensa en el hipocampo del paciente de un año de edad, tanto en el soma neuronal como en los neuropilos. En los hipocampos de los pacientes con asfixia perinatal, de un día de edad y un mes, la intensidad de la reacción es menor y principalmente localizada en el pericarion. x300. Sub: Subículo. GD: Giro dentado.

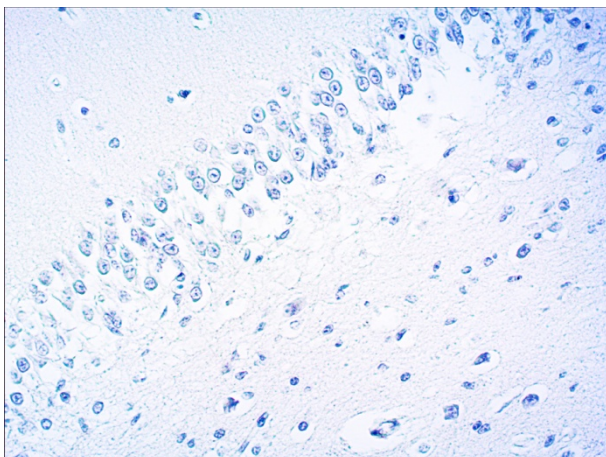


Figura 60. Giro dentado del hipocampo del paciente con asfixia perinatal mostrando reacción negativa para la esfingosina quinasa 1. x300.

RESULTADOS RADIOLÓGICOS

A continuación se presentan las IRM de cada uno de los 40 lóbulos temporales de los 20 pacientes con secuencias T1, T2 FLAIR y Difusión, en los pacientes 4 y 5 solo se realizó secuencia de Difusión. Las interpretaciones de las IRM se anexan con cada imagen.

Paciente 1

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales (Fig. 61).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. Los ganglios basales y el sistema ventricular no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad.

Se observa adecuado desarrollo del cuerpo calloso, tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, que muestran adecuada morfología e intensidad de señal. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales. Se observa patrón de mielinización adecuada para la edad de la paciente. Las imágenes

por difusión y ADC no muestran alteraciones o áreas que sugieran restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central. Las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: paciente referido por antecedente de circular de cordón y APGAR bajo al nacimiento. El presente estudio muestra características normales.

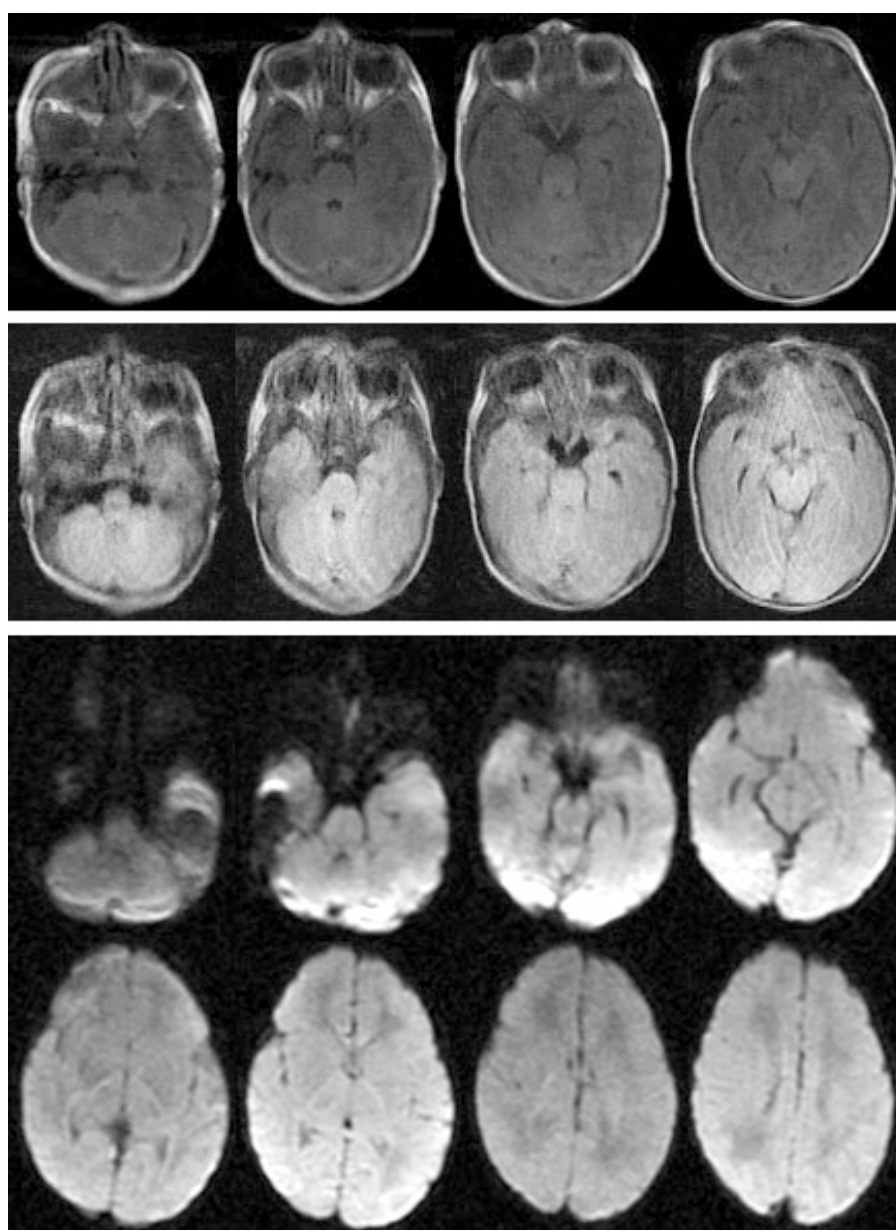


Figura 61. Paciente 1. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 2

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 62).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

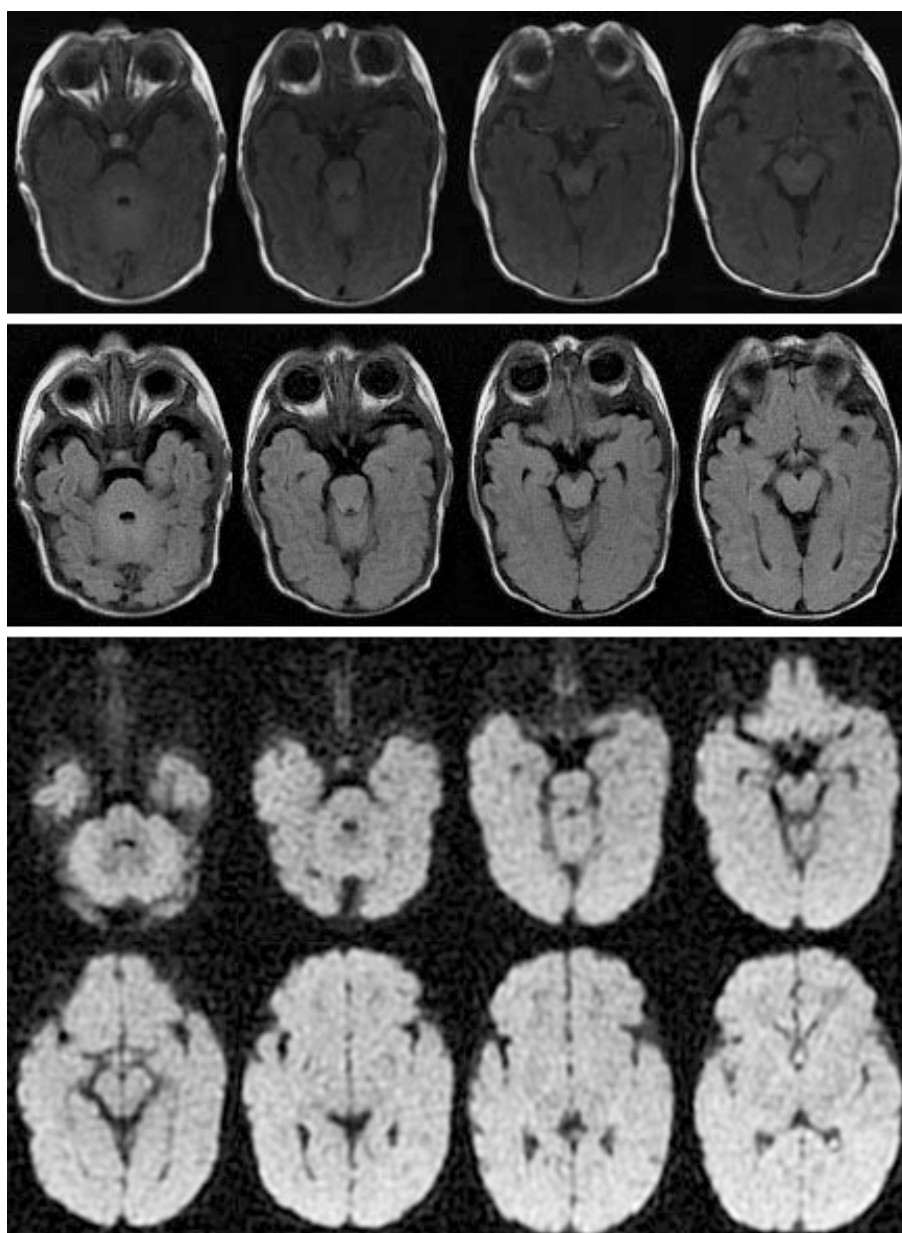


Figura 62. Paciente 2. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 3

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 63).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

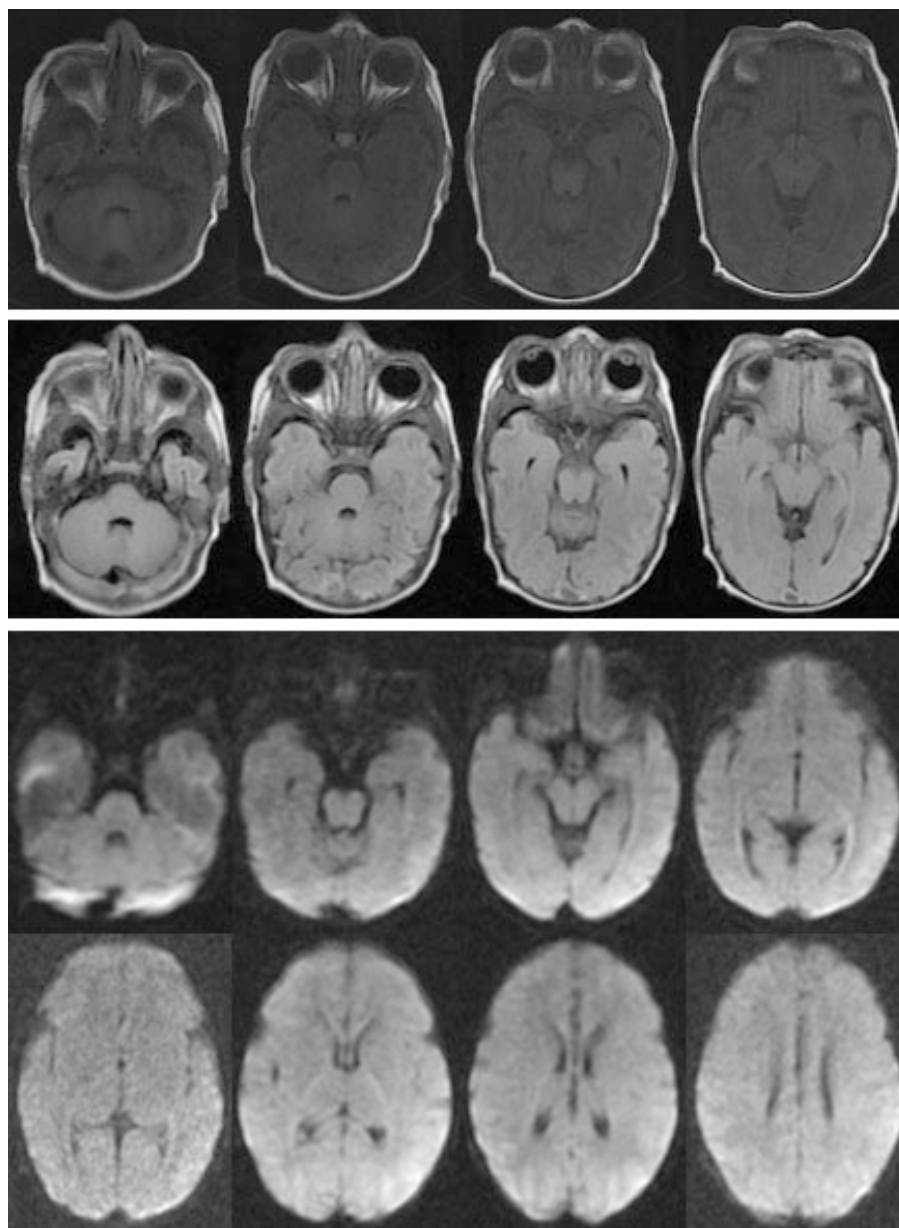


Figura 63. Paciente 3. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 4

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica de difusión así como mapeo en ADC en cortes axiales, en paciente referido por presentar APGAR bajo al nacimiento, a descartar hipoxia del lóbulo temporal (Fig. 64).

El presente estudio revela restricción de la difusión en la región periventricular izquierda adyacente al atrio y centro semioval derecho, y llama la atención la hiperintensidad localizada en la pared externa del ventrículo lateral izquierdo en sus porciones más altas, que no se correlaciona con el mapeo ADC, por lo que no se puede confirmar restricción de la difusión relacionada con un evento isquémico. La región temporal es normal de forma bilateral.

Conclusión: pequeña zona de isquemia en región periatrinal izquierda y centro semioval derecho. Hiperintensidad localizada en la pared externa del ventrículo lateral izquierdo, con evidencia de restricción en la difusión. No se observa restricción de la difusión a nivel temporal.

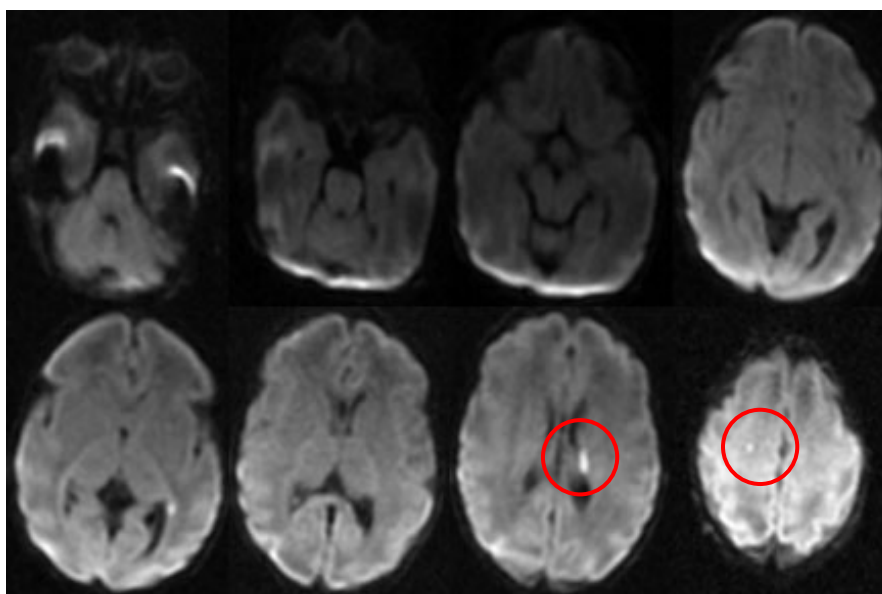


Figura 64. Paciente 4. Sequencia de difusão. Pequenas zonas de isquemia (círculos rojos) en región periatrinal izquierda (tercera imagen de la segunda línea) y centro semioval derecho (imagen esquina inferior derecha).

Paciente 5

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica por diffusion, así como mapeo en ADC en cortes axiales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 65).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

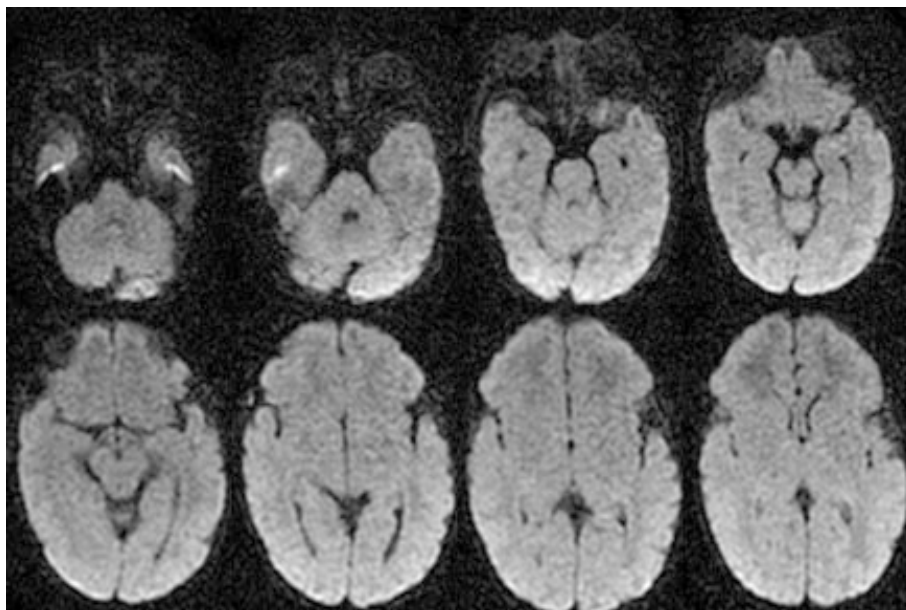


Figura 65. Paciente 5. Secuencia de difusión.

Paciente 6

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 66).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

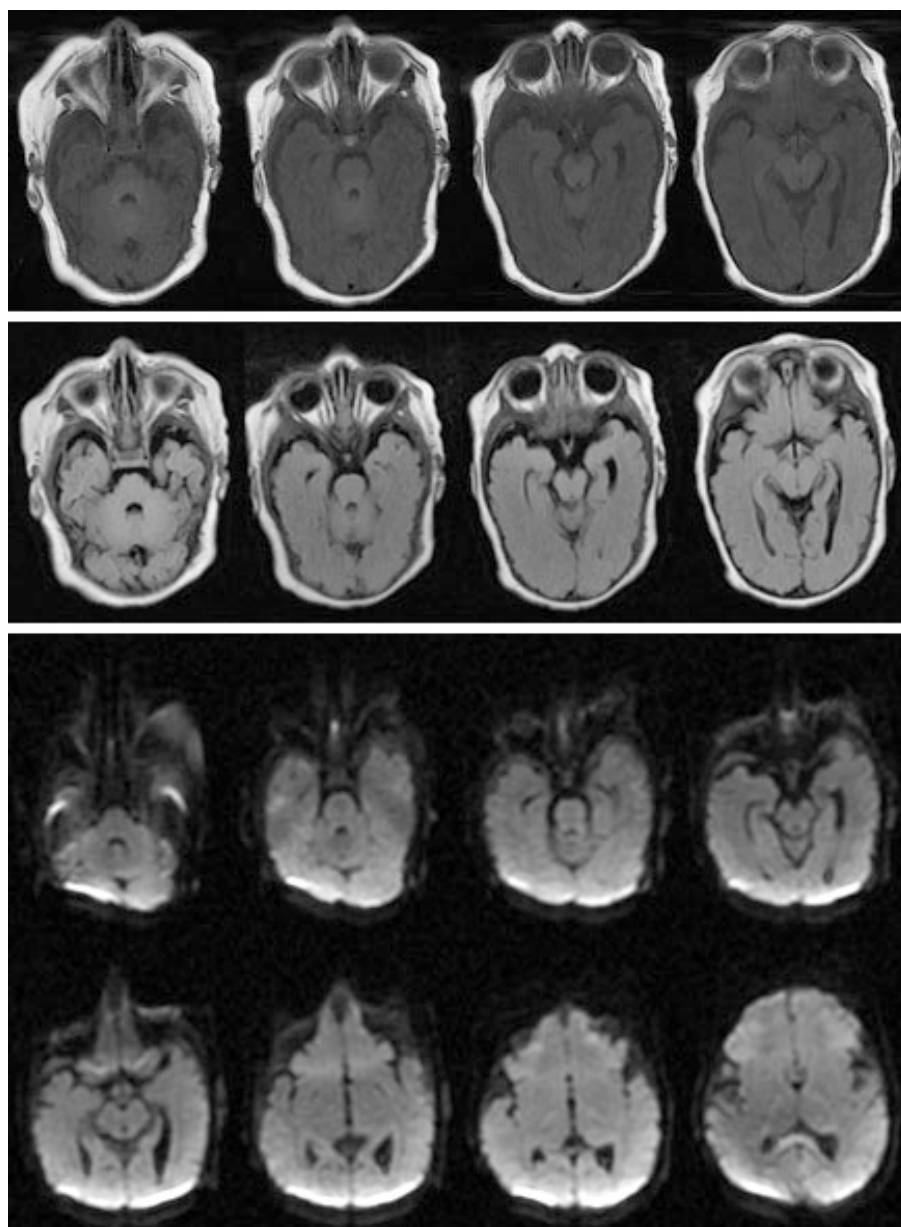


Figura 66. Paciente 6. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 7

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 67).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: El presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

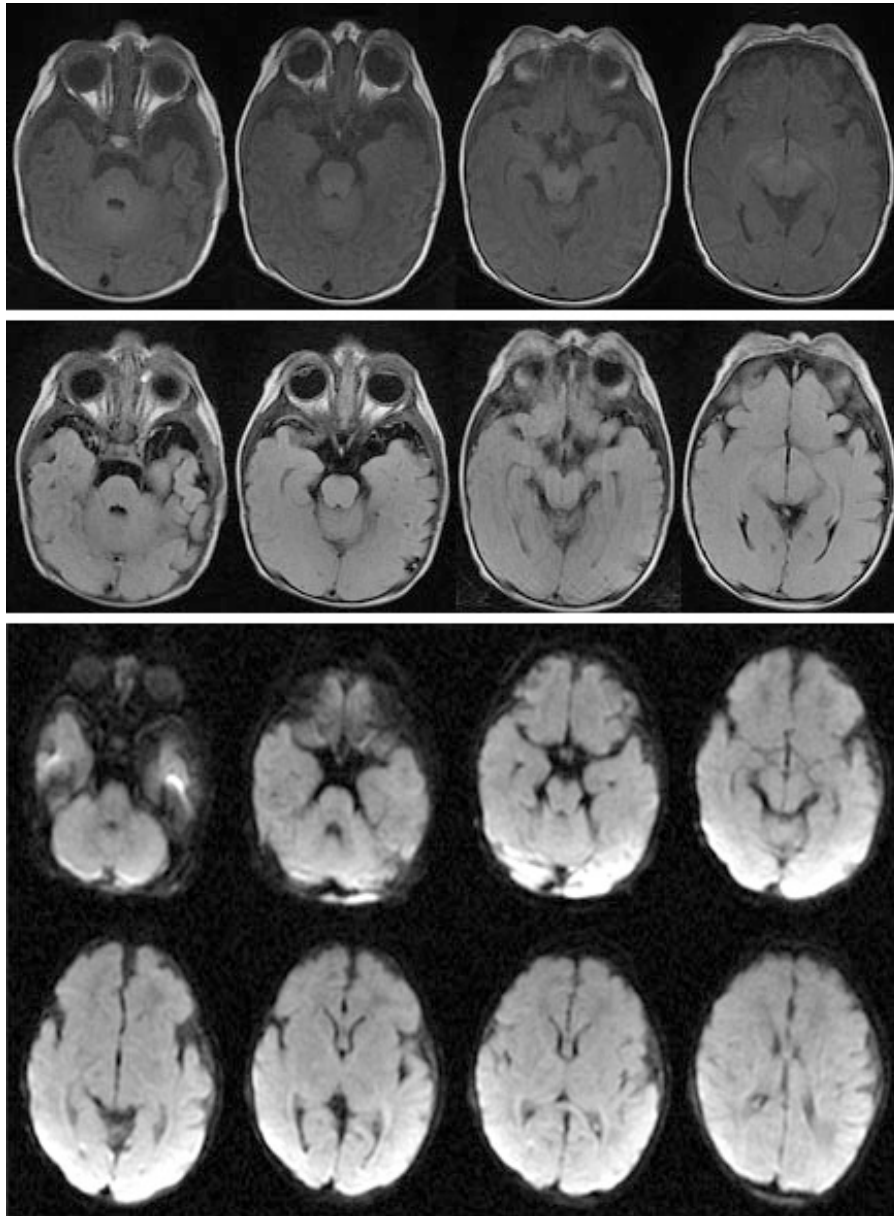


Figura 67. Paciente 7. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 8

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 68).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

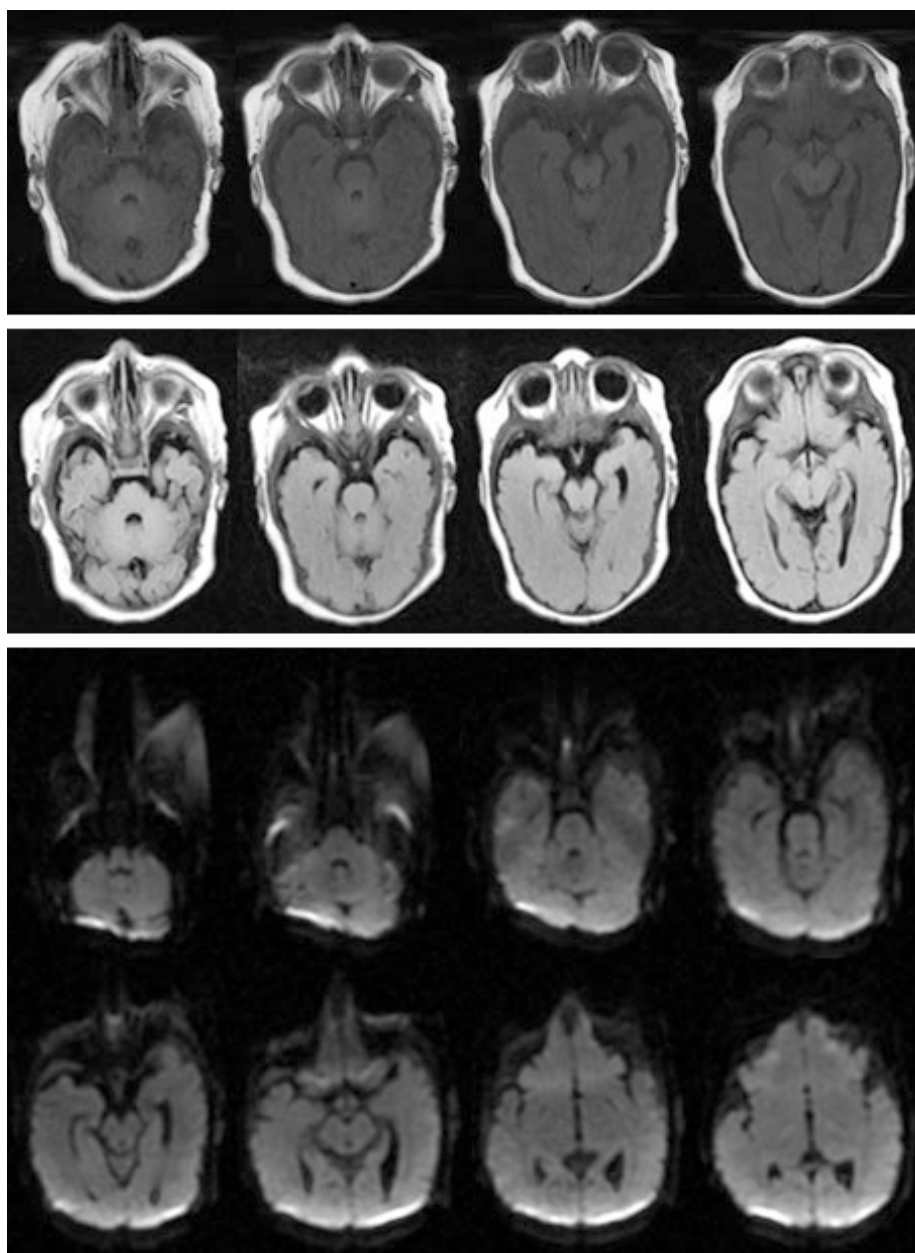


Figura 68. Paciente 8. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 9

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 69).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

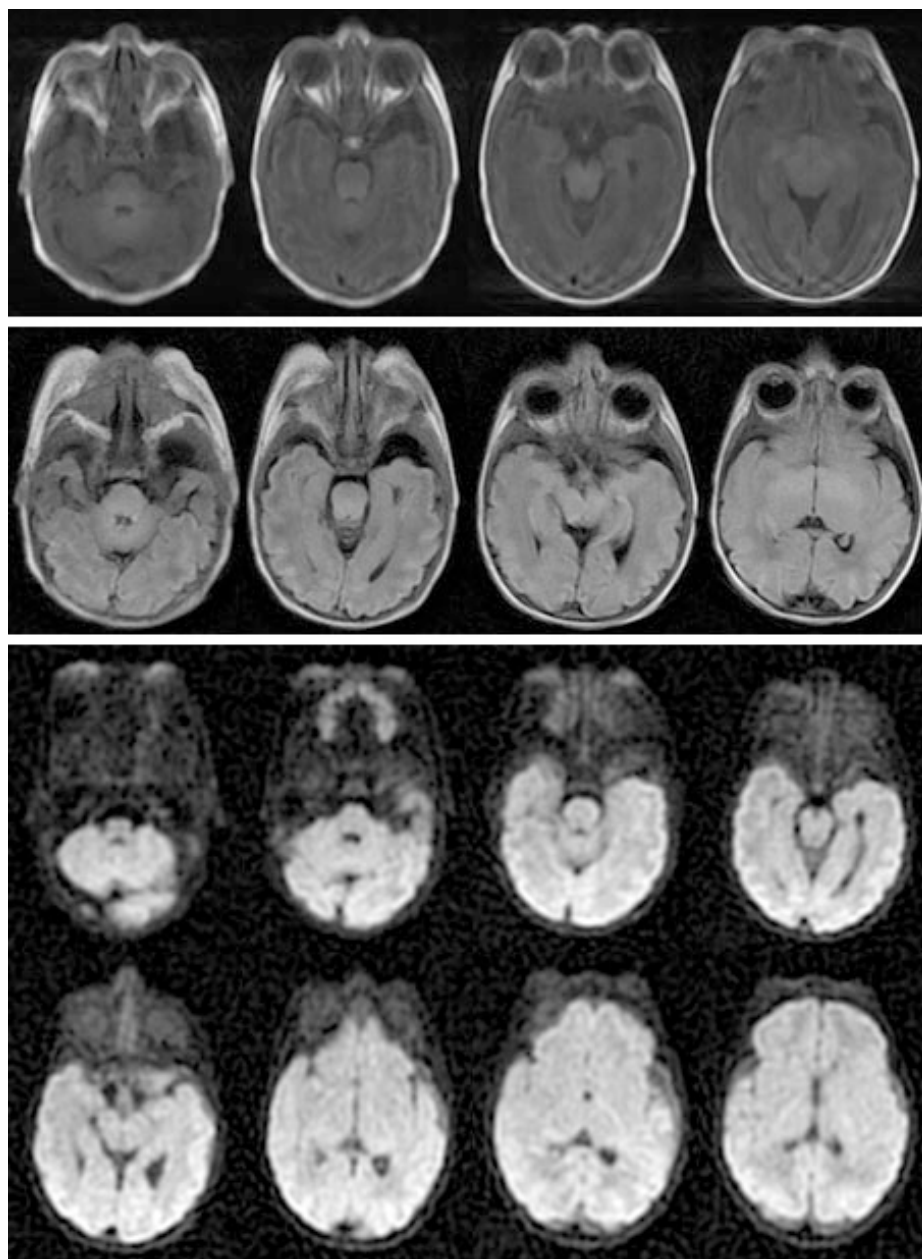


Figura 69. Paciente 9. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 10

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 70).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: El presente estudio muestra características normales, sin evidencias de áreas de restricción en la difusión.

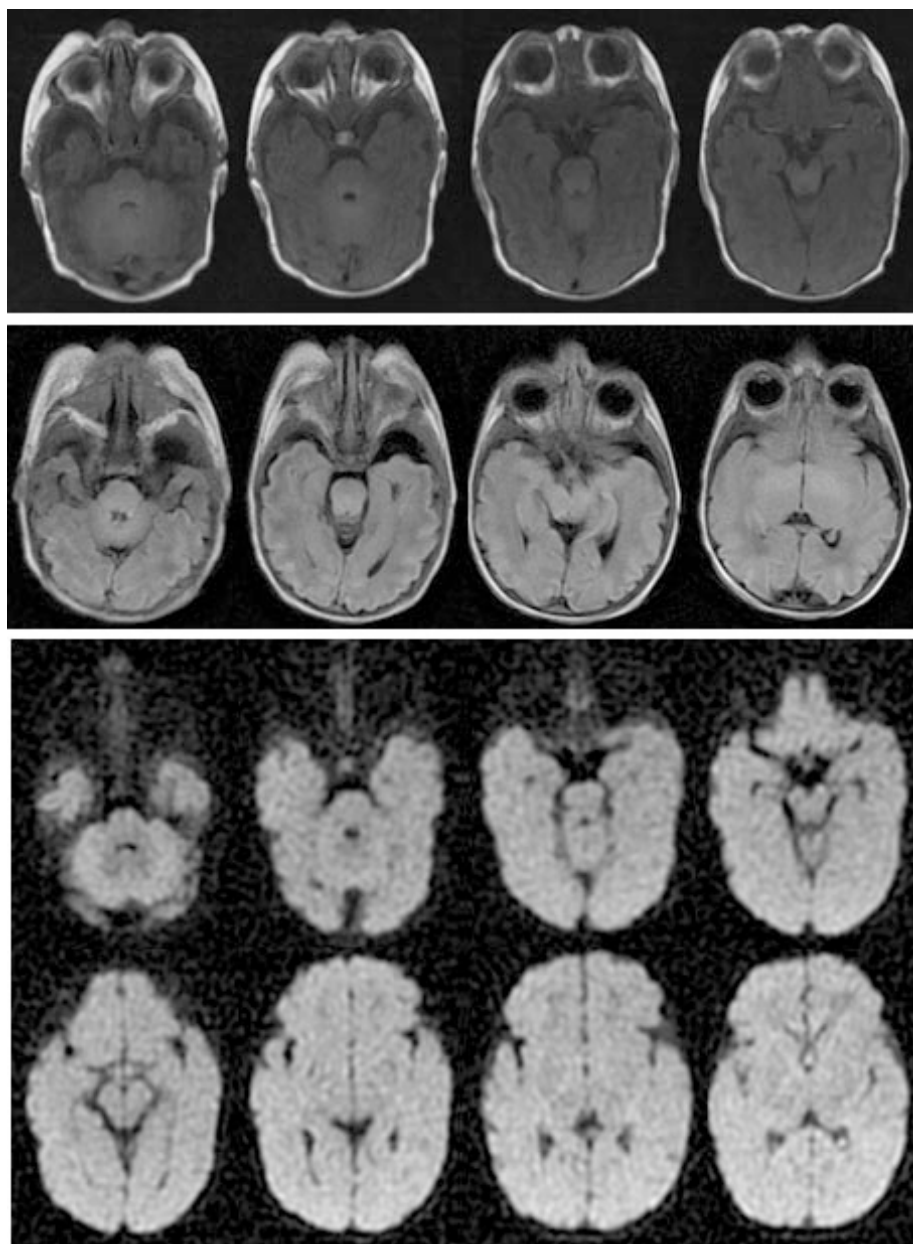


Figura 70. Paciente 10. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 11

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 71).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

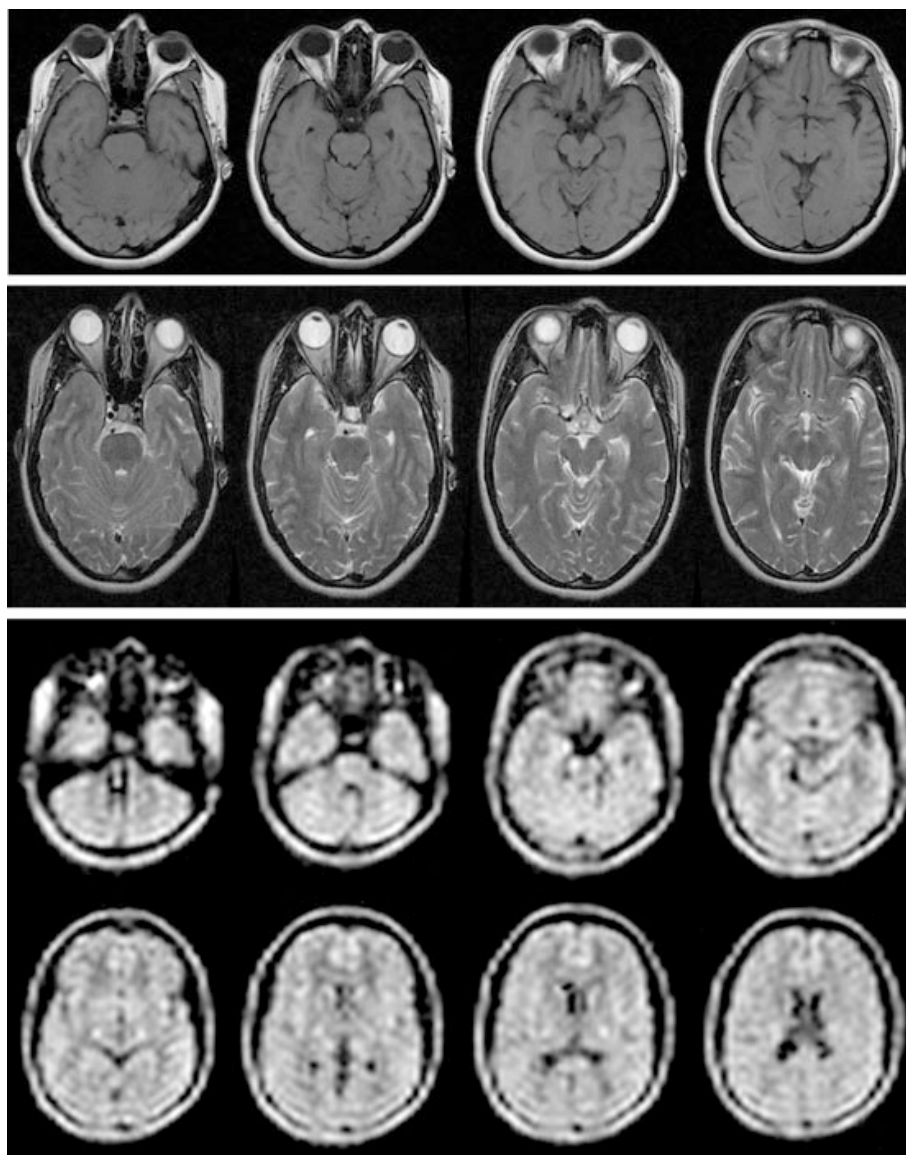


Figura 71. Paciente 11. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 12

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 72).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

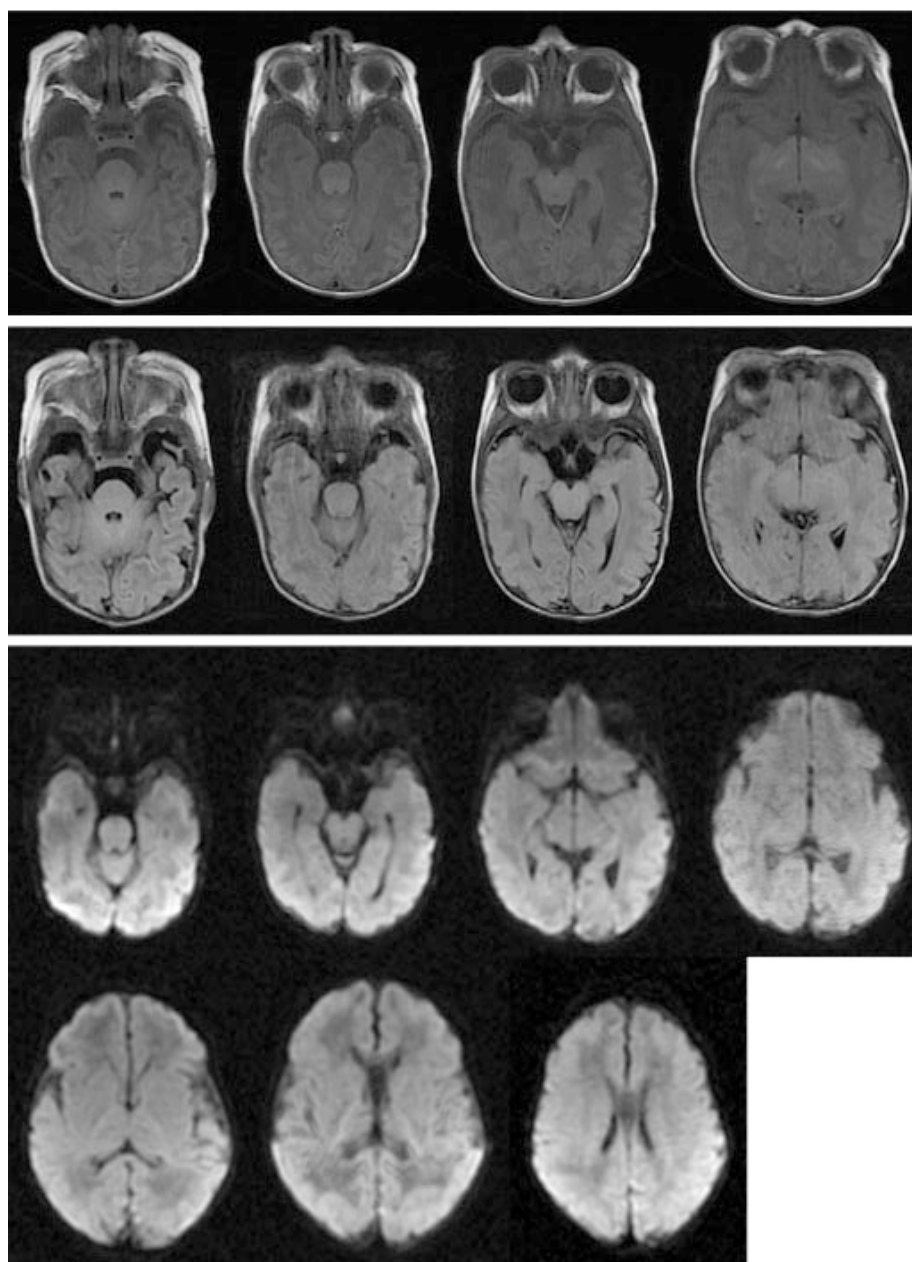


Figura 72. Paciente 12. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 13

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión en cortes axiales (Fig. 73).

Supratentorialmente se observan ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, con adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca, sin evidencia de lesiones ocupativas, así como tampoco alteración de la señal de la sustancia blanca. No se observaron colecciones epi o subdurales La línea media es central. Imagen puntiforme hiperintensa a nivel de la cabeza del núcleo caudado de lado derecho, con restricción en la imagen de difusión en relación con evento isquémico agudo.

El contenido de la fosa posterior, como son cerebelo, tallo encefálico, cisternas basales y el cuarto ventrículo se muestran de morfología e intensidad normales.

Las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: Imagen hiperintensa a nivel de la cabeza del núcleo caudado de lado derecho, la cual presenta restricción en la secuencia de difusión en relación con evento isquémico agudo.

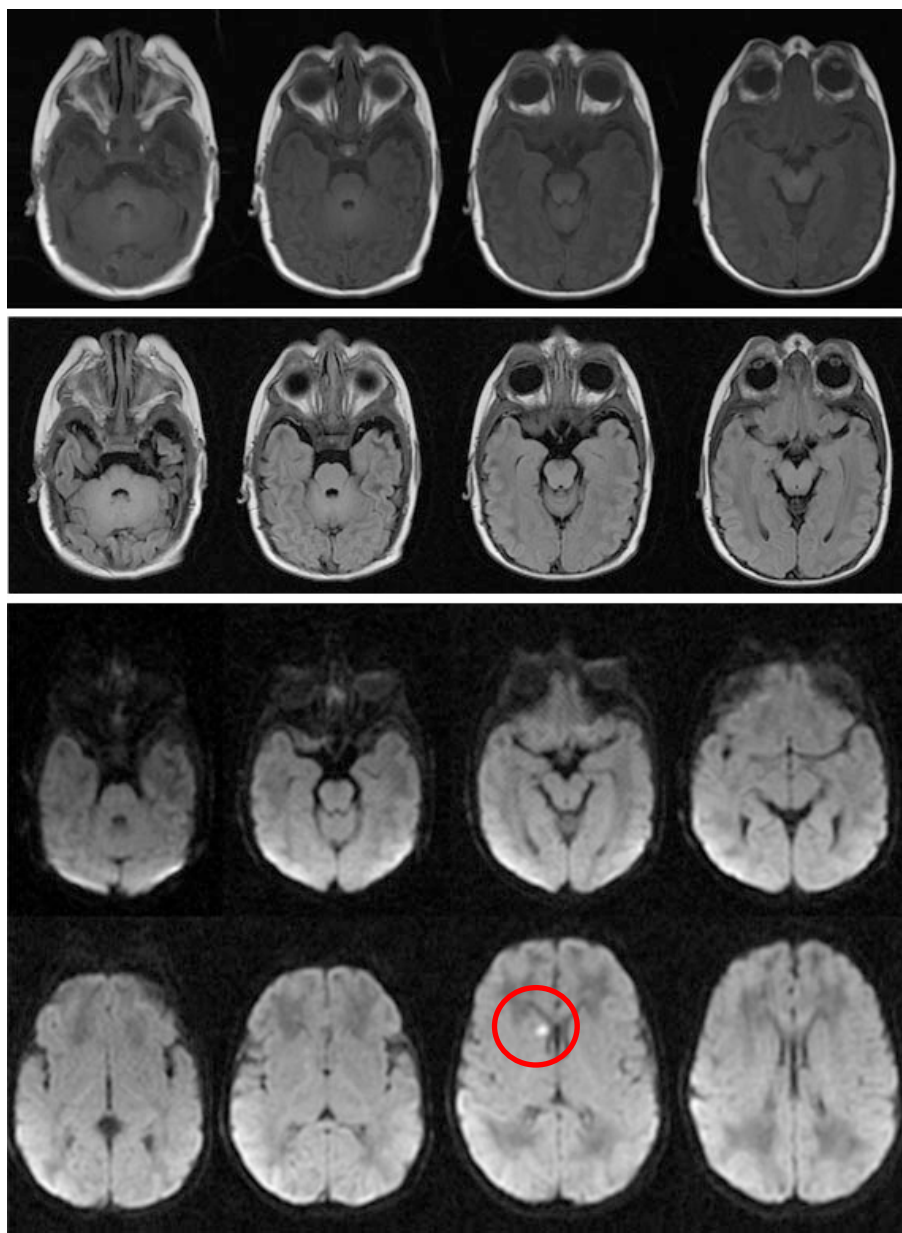


Figura 73. Paciente 13. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión. Imagen puntiforme hiperintensa a nivel de la cabeza del núcleo caudado del lado derecho, la cual presenta restricción en la secuencia de difusión en relación con evento isquémico agudo (círculo rojo). No se observa restricción de la difusión a nivel temporal.

Paciente 14

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión en cortes axiales (Fig. 74).

Supratentorialmente se observan ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, con adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca, sin evidencia de lesiones ocupativas, así como tampoco alteración de la señal de la sustancia blanca. Los núcleos basales y el sistema ventricular son de características normales. No se observa colección epi o subdurales. La línea media es central. Como variante anatómica se identifica la persistencia del *cavum* del *septum pellucidum*.

El contenido de la fosa posterior, como son cerebelo, tallo encefálico, cisternas basales y el cuarto ventrículo, presenta morfología e intensidad normales.

Las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: estudio dentro de los parámetros normales.

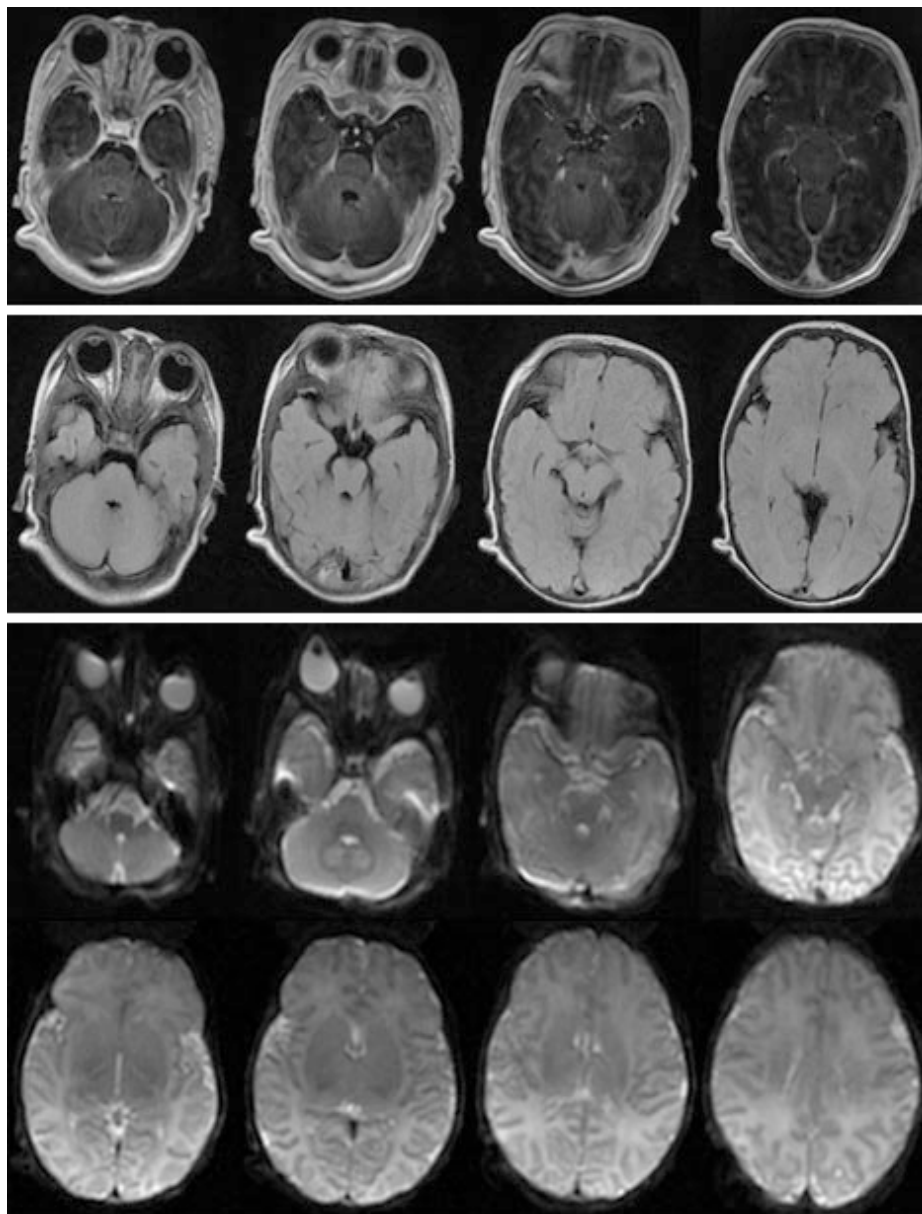


Figura 74. Paciente 14. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 15

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y T1 con Gadolinio. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 75).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

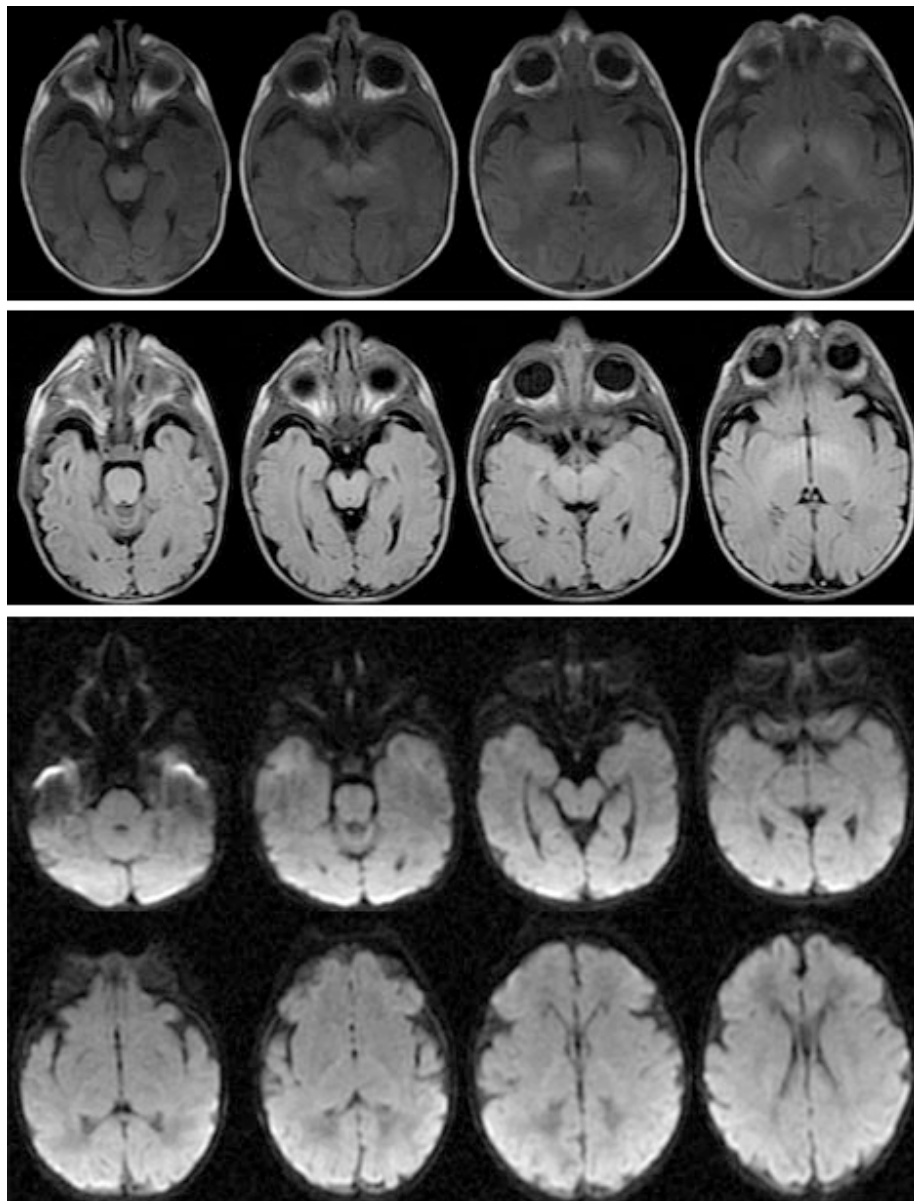


Figura 75. Paciente 15. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 16

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 76).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

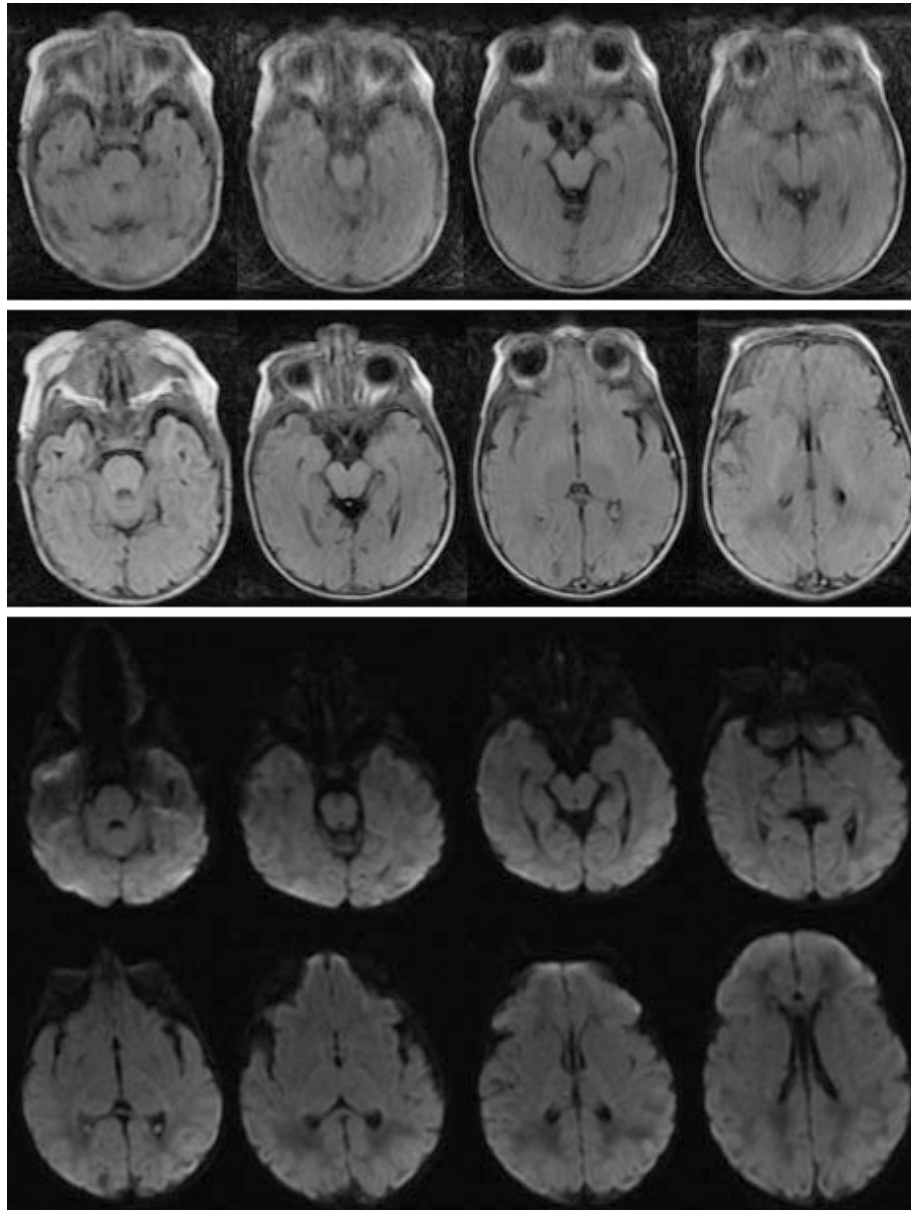


Figura 76. Paciente 16. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 17

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y T1 con Gadolinio. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 77).

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. No se identifica el cuerpo calloso. Los ganglios basales así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosss y vermis no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. Se observa dilatación bilateral de ambos ventrículos laterales en relación con hidrocefalia no comunicante. Tercer y cuarto ventrículos sin alteraciones.

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: agenesia del cuerpo calloso. Hidrocefalia de los ventrículos laterales no comunicante. El resto de estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

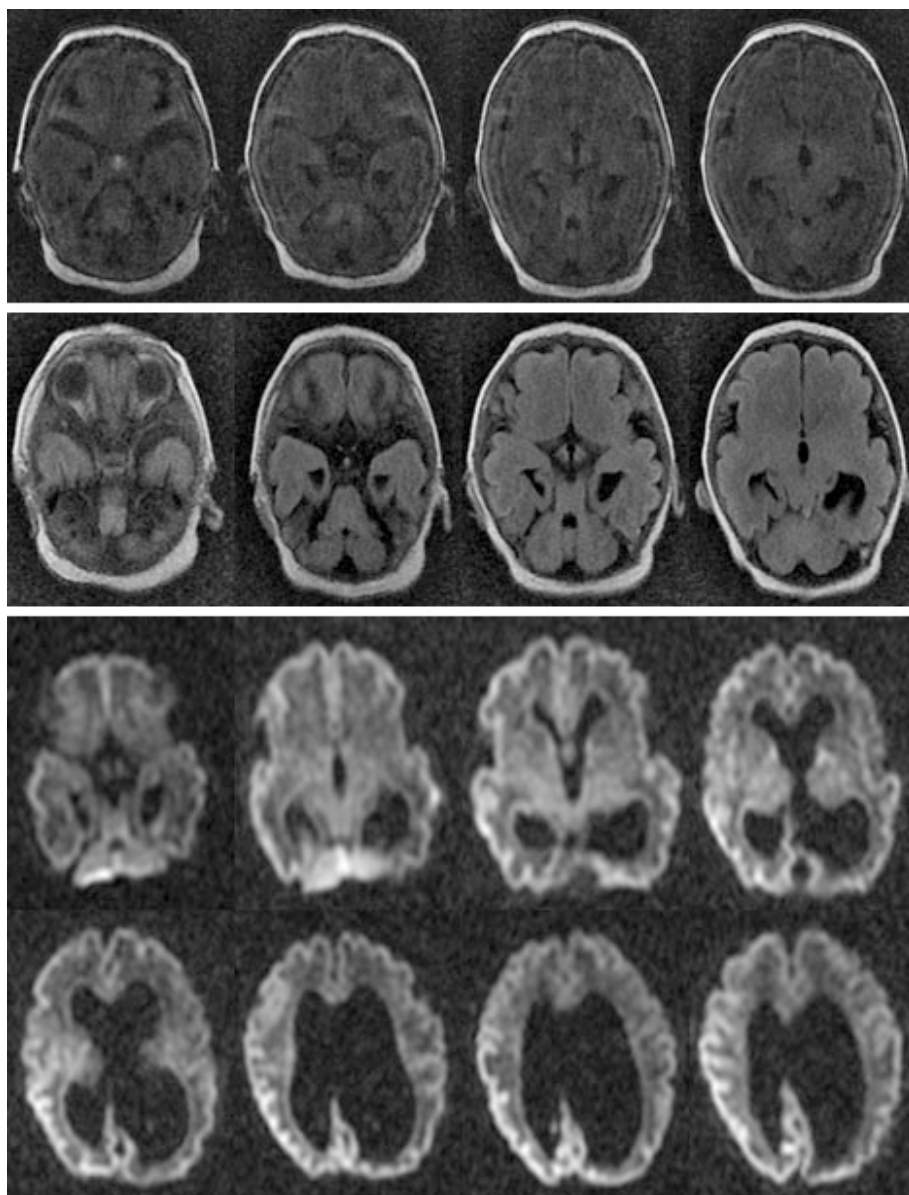


Figura 77. Paciente 17. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 18

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 78).

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

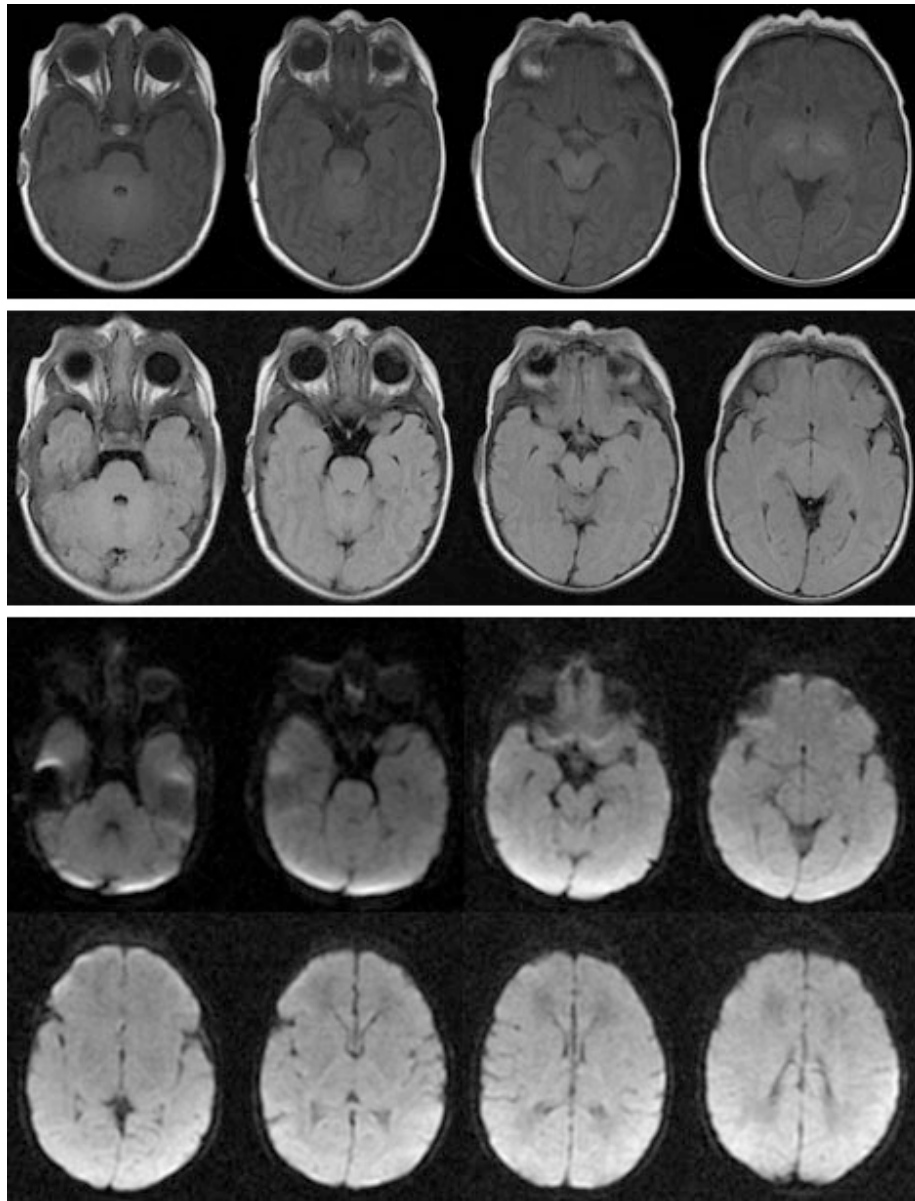


Figura 78. Paciente 18. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 19

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 79).

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Como variante anatómica se observa persistencia del *cavum del septum pellucidum*.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción en la difusión.

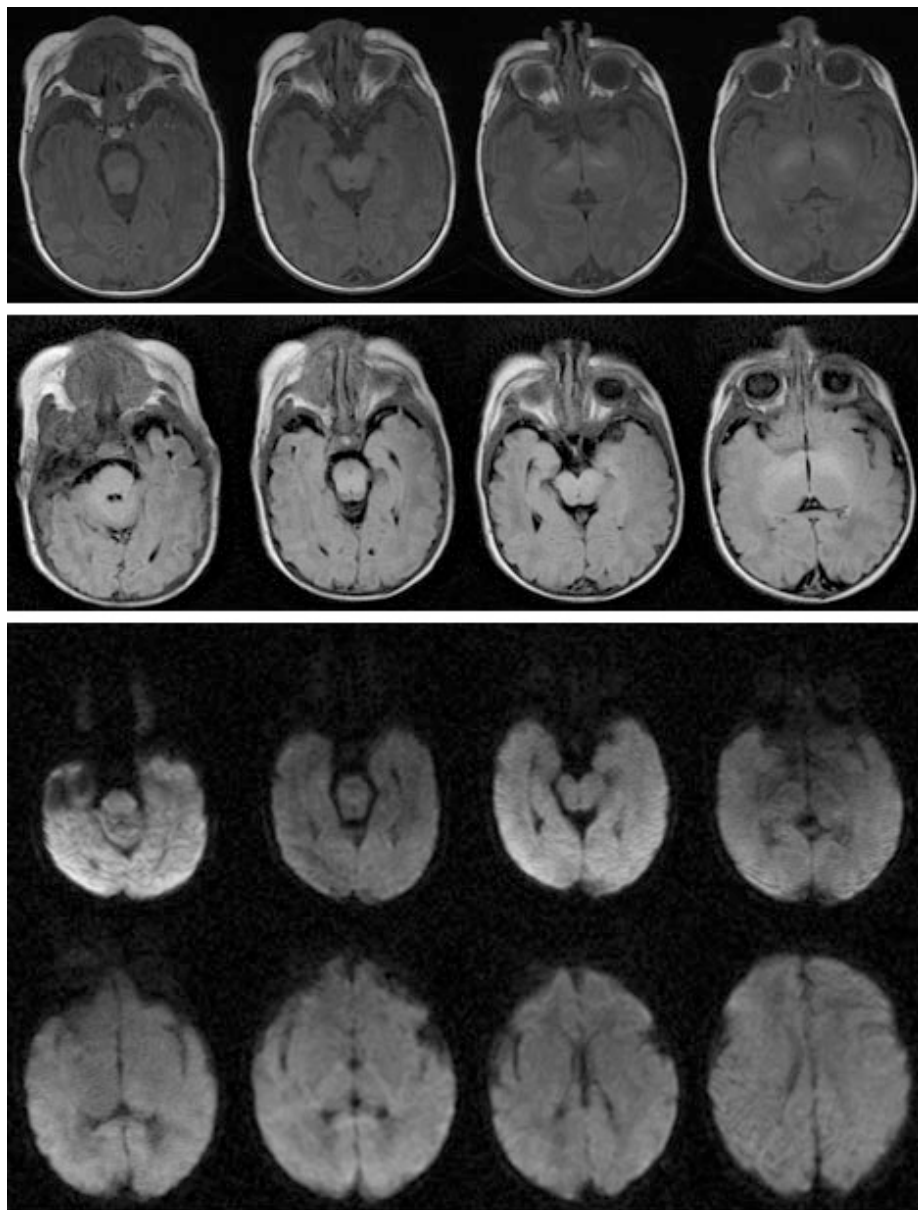


Figura 79. Paciente 19. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

Paciente 20

Se practicó IRM de cerebro simple, utilizando técnica Fast spin echo, en imágenes dependientes de T1, T2, Flair, T2* e imágenes por difusión, así como mapeo en ADC en cortes axiales y coronales. No se cuenta con estudios previos para su comparación (Fig. 80).

Se valora intencionadamente la región temporal de forma bilateral, sin lograr identificar áreas de restricción de la difusión. No hay evidencia de colecciones epi o subdurales y la línea media es central.

El presente estudio revela ambos hemisferios cerebrales de morfología e intensidad normales, observando adecuada mielinización para la edad del paciente, con una adecuada diferenciación de la sustancia gris-blanca. El ribete cortical se observa intacto. Los ganglios basales y el sistema ventricular, así como el tallo encefálico, hemisferios cerebelosos, amígdalas cerebelosas y vermis, no muestran alteraciones en su morfología ni en su intensidad. El cuarto ventrículo y las cisternas basales son normales.

El resto de las estructuras de la base del cráneo, bóveda craneana y contenido orbitario son normales.

Conclusión: el presente estudio muestra características normales, sin evidencia de áreas de restricción de la difusión.

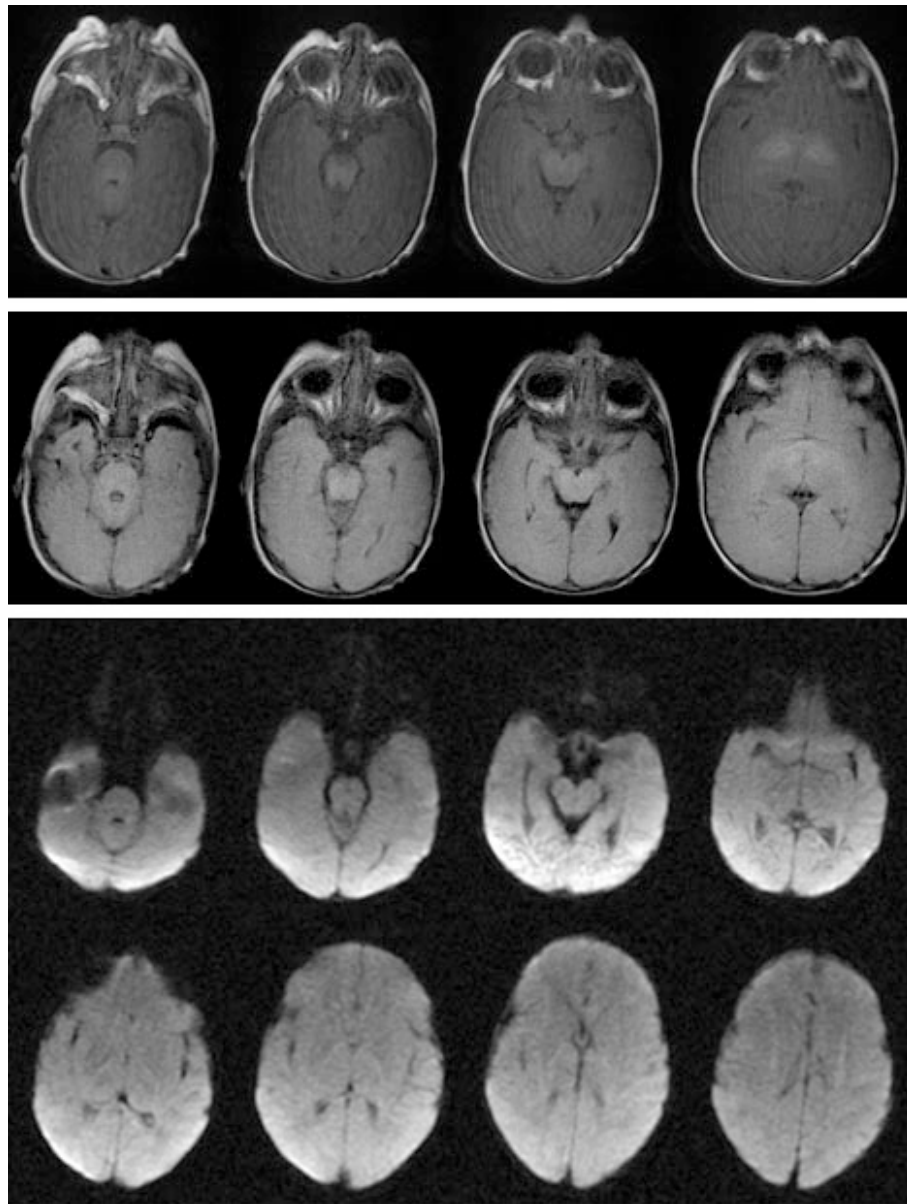


Figura 80. Paciente 20. Arriba: secuencia T1; medio: secuencia T2 FLAIR; abajo: secuencia de difusión.

RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LOS ANTECEDENTES CLÍNICOS

Los 40 lóbulos temporales analizados en el apartado anterior procedían de 20 pacientes que cumplieron los criterios establecidos en el presente protocolo. El promedio de edad de las madres se encontraba en 23.4 años (DE: 6.9 años), siendo la moda 18 años y la mediana 22 años de edad.

Las variables cuantitativas: número de gestas, semanas de gestación, horas transcurridas entre el nacimiento y la realización del estudio de RM, Apgar al minuto, Apgar a los 5 minutos, número de abortos, consultas prenatales, edad de inicio de la vida sexual activa (IVSA) y días de permanencia en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), están registradas en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Análisis descriptivo de las variables cuantitativas de la población de estudio.

Estadístico	Edad (n=20)	Nº Gestas (n=18)	Semanas DG (n=20)	Horas hasta RM (n=20)
$\bar{X} \pm DE$	24.3 \pm 8.14	1.7 \pm 0.9	38.4 \pm 2.0	54:36 \pm 30:21
Mediana	23	1.5	39	52:25
Moda	17	1	39	3:25
Mínimo	17	0	34	3:25
Máximo	42	3	42	94:51
Asimetría \pm ES	1.5 \pm 0.5	0.2 \pm 0.5	-0.7 \pm 0.5	-0.1 \pm 0.5
Curstosis \pm ES	2 \pm 1.0	-0.9 \pm 1.0	0.4 \pm 1.0	-1.4 \pm 1.0

Semanas DG: semanas de gestación; RM: resonancia magnética; \bar{X} : media; DE: desviación estándar; ES: error estándar

Tabla 6. Análisis descriptivo de las variables cuantitativas de la población de estudio.

Estadístico	Apgar		Abortos (n=18)	CP (n=18)	IVSA (n=18) (años)	UCIN (n=18) (días)
	1 min (n=20)	5 min (n=20)				
$\bar{X} \pm DE$	3.5 ± 1.3	6.5 ± 0.8	4.4 ± 0.5	6.4 ± 3.3	18.8 ± 3.6	1.7 ± 1.3
Mediana	4	7	0	6.0	18.5	2.0
Moda	5	7	0	5	16.0	0
Mínimo	1	5	0	0	14	0
Máximo	5	7	1	12	28	4.0
Asimetría ± ES	-0.4 ± 0.5	-1.2 ± 0.5	0.5 ± 0.5	-0.4 ± 0.5	1.1 ± 0.5	0.02 ± 0.5
Curtosis ± ES	-1.0 ± 1.0	-0.03 ± 1.0	-2.0 ± 1.0	-0.1 ± 1.0	1.2 ± 1.0	-1.3 ± 1.0

CP: número de consultas prenatales; IVSA: inicio de la vida sexual activa; UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales; \bar{X} : media; DE: desviación estándar; ES: error estándar

El análisis de la vía de nacimiento mostró un predominio de cesárea (66.7%) con respecto al parto natural (Fig. 81). Por otra parte, se observaron complicaciones prenatales en el 16.7% (Fig. 82), aunque no se detectaron casos de epilepsia durante el embarazo. Otra de las variables del estudio fue el registro del estado civil de las madres de los pacientes; en este sentido, se encontró que el 38.9% estaban casadas en el momento del estudio y el restante 61.1% se encontraban en unión libre (Fig. 83).

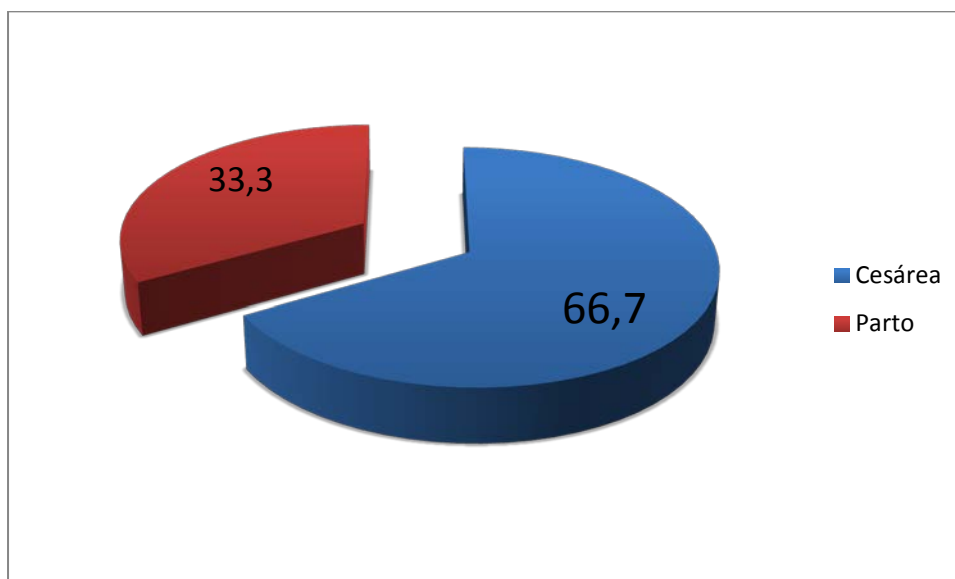


Figura 81. Distribución porcentual de la población de estudio según la vía de nacimiento.

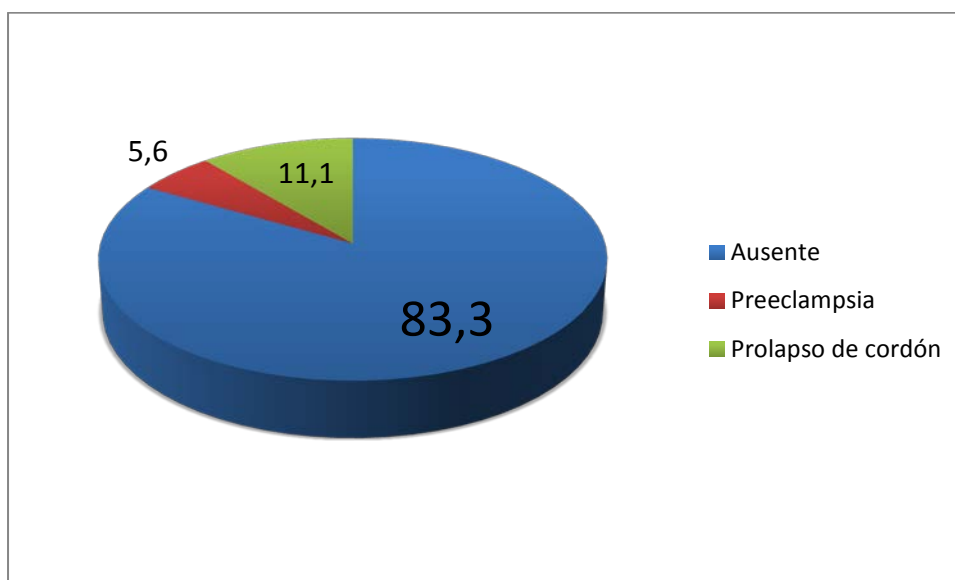


Figura 82. Distribución porcentual de la población de estudio según las complicaciones.

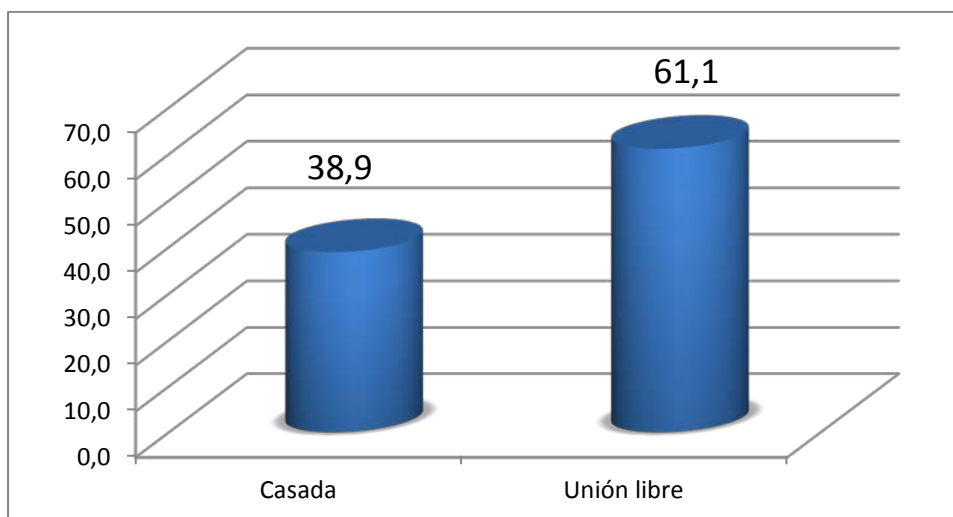


Figura 83. Distribución porcentual de la población de estudio según el estado civil.

El 5.6% de las pacientes mostraron migraña, así como familiares con epilepsia en esta misma proporción; sin embargo, en ninguno de los casos se presentó hipertensión arterial, diabetes mellitus, tabaquismo o alcoholismo, observando ingesta de ácido fólico en todas las pacientes. De otra parte, el 27.8% de las pacientes utilizaron algún método de planificación familiar (Fig. 84), siendo la píldora la más común como se muestra en la figura 85.

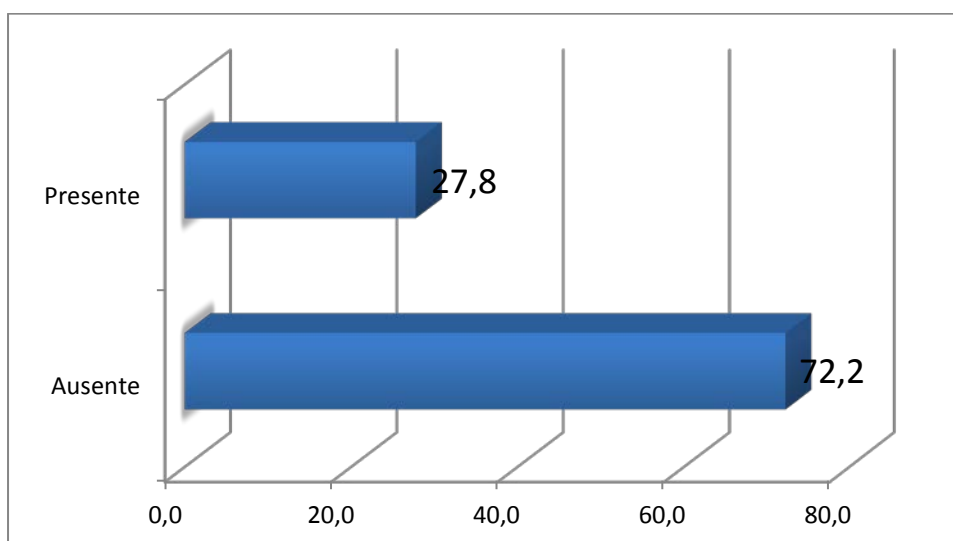


Figura 84. Distribución porcentual de la población de estudio atendiendo a la utilización o no de algún método de planificación familiar.

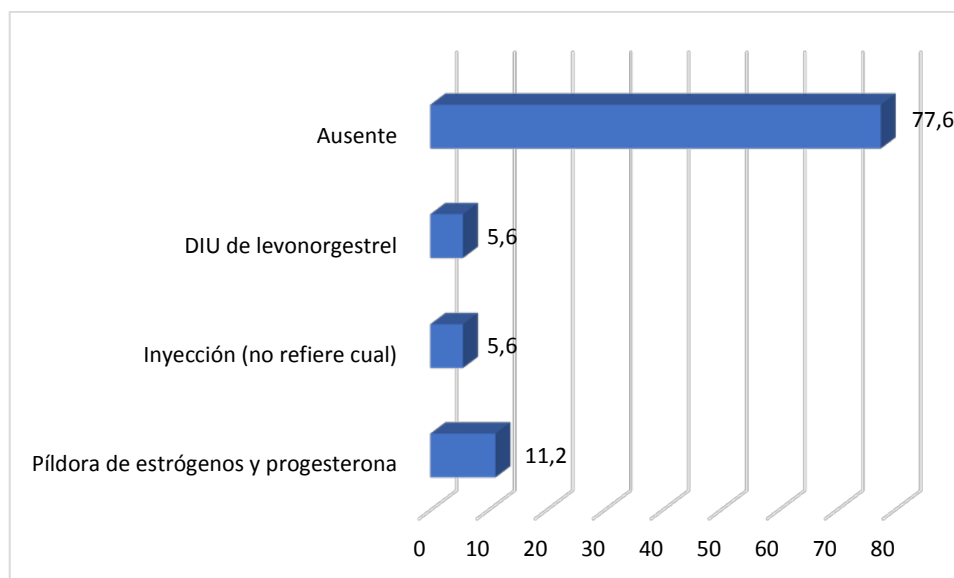


Figura 85. Distribución porcentual de la población de estudio según el método de planificación familiar utilizado.

En las siguientes tablas se presentan los resultados de las variables cuantitativas obtenidos al segmentar la población según la vía de nacimiento: edad, número de gestas, semanas de gestación, horas transcurridas hasta el estudio de RM, Apgar 1 minuto, Apgar 5 minutos, abortos, consultas prenatales, IVSA y UCIN (tablas 7 y 8). La descripción de las complicaciones según la vía de nacimiento se muestra en la figura 86. De otra parte, con respecto al estado civil de las pacientes en el momento del estudio, se observa que la unión libre es el estado civil más frecuente (83.3%) entre las pacientes con parto natural, mientras que en las pacientes con cesárea representa el 50% (Fig. 87). Así mismo, el 16.7% de las pacientes del grupo con cesárea utilizaban algún método de planificación familiar; este porcentaje subió al 50% en las pacientes con parto natural (Fig. 88). La distribución del tipo de método de planificación familiar utilizado atendiendo a la vía de nacimiento se muestra en la figura 89.

Tabla 7. Análisis descriptivo de las variables cuantitativas de la población de estudio según la vía de nacimiento.

Vía de Nacimiento	Estadístico	Edad (años)	Semanas DG (n=20)	Horas hasta RM (n=20)
Parto Natural (n=6)	$\bar{X} \pm DE$	20.5 \pm 2.79	37.8 \pm 1.8	58:22 \pm 27:26
	Mediana	20.5	38.0	57.44
	Moda	17	38.0	27:23
	Mínimo	17	35.4	27:23
	Máximo	24	40.1	93:29
	Asimetría \pm ES	0 \pm 0.8	-0.2 \pm 0.8	0.1 \pm 0.8
	Curtosis \pm ES	-1.5 \pm 1.7	-1.4 \pm 1.7	-2.0 \pm 1.7
Cesárea (n=12)	$\bar{X} \pm DE$	24.9 \pm 8.0	38.6 \pm 2.3	56:01 \pm 31:28
	Mediana	23.5	39.0	52:25
	Moda	18	39.0	9:44
	Mínimo	17	34	9:44
	Máximo	42	42	94.51
	Asimetría \pm ES	1.1 \pm 0.6	-0.9 \pm 0.6	-0.0 \pm 0.6
	Curtosis \pm ES	0.3 \pm 1.2	0.8 \pm 1.2	-1.8 \pm 1.2

Semanas DG: semanas de gestación; RM: resonancia magnética; \bar{X} : media; DE: desviación estándar; ES: error estándar

Tabla 8. Análisis descriptivo de las variables cuantitativas de la población de estudio según la vía de nacimiento.

Vía de Nacimiento	Estadístico	Apgar 1 min (n=20)	CP (n=18)	IVSA (n=18) (años)	UCIN (n=18) (días)
Parto Natural (n=6)	$\bar{X} \pm DE$	3.7 ± 1.2	6.0 ± 2.1	18.2 ± 2.9	2.2 ± 1.5
	Mediana	3.5	8.5	18.0	2.5
	Moda	3	10	16.0	3
	Mínimo	2	5	15	0
	Máximo	5	10	22	4.0
	Asimetría ± ES	-0.07 ± 0.85	-0.6 ± 0.8	0.2 ± 0.8	-0.4 ± 0.8
	Curtosis ± ES	-1.5 ± 1.7	-1.5 ± 1.7	-2.2 ± 1.7	-0.9 ± 1.7
Cesárea (n=12)	$\bar{X} \pm DE$	3.5 ± 1.4	5.7 ± 3.6	19.1 ± 4.0	1.4 ± 1.2
	Mediana	4.0	5.5	18.5	1.5
	Moda	5	5	16.0	0
	Mínimo	1	0	14.0	0
	Máximo	5	12	28.0	3.0
	Asimetría ± ES	-0.4 ± 0.6	-0.02 ± 0.6	1.1 ± 0.6	0.05 ± 0.6
	Curtosis ± ES	-1.3 ± 1.2	-0.2 ± 1.2	1.0 ± 1.2	-1.7 ± 1.2

CP: número de consultas prenatales; IVSA: inicio de la vida sexual activa; UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales; \bar{X} : media; DE: desviación estándar; ES: error estándar

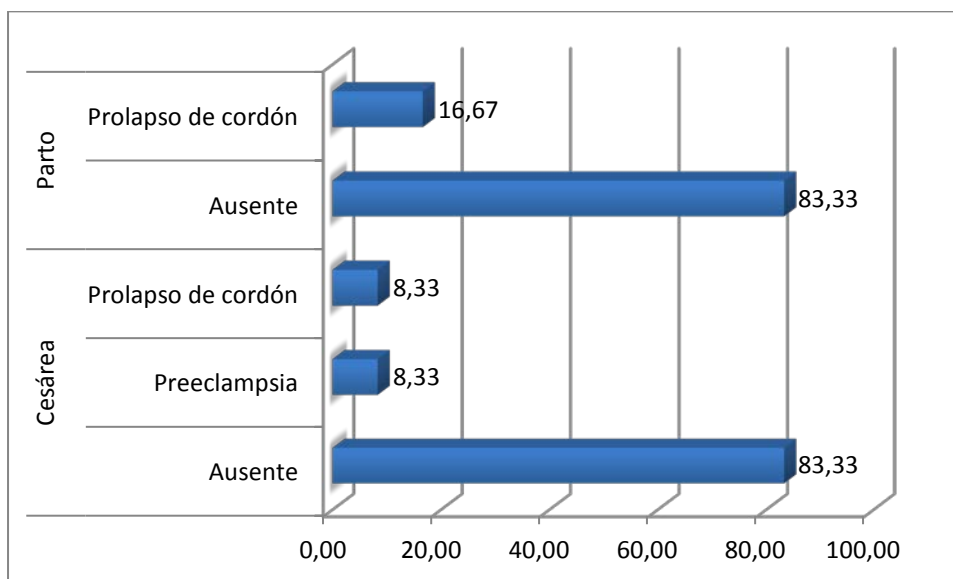


Figura 86. Distribución porcentual de las complicaciones en la población de estudio según la vía de nacimiento.

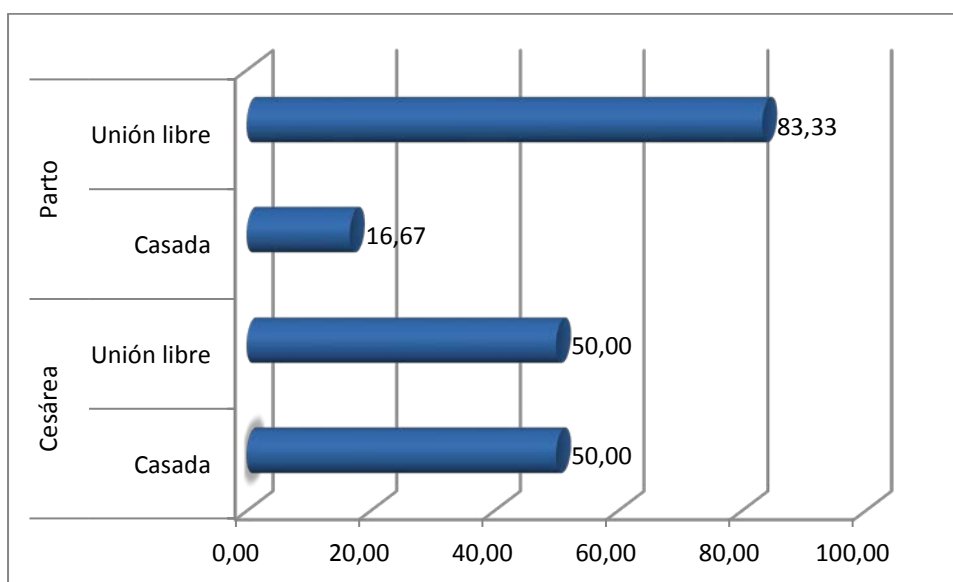


Figura 87. Distribución porcentual del estado civil de la población de estudio según la vía de nacimiento.

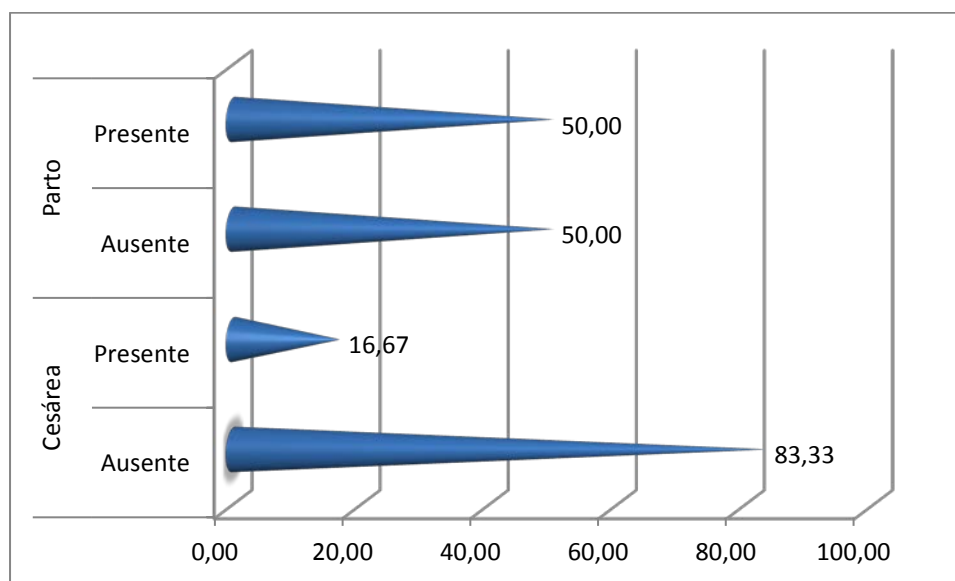


Figura 88. Distribución porcentual de la utilización de algún método de planificación familiar en la población de estudio según la vía de nacimiento.

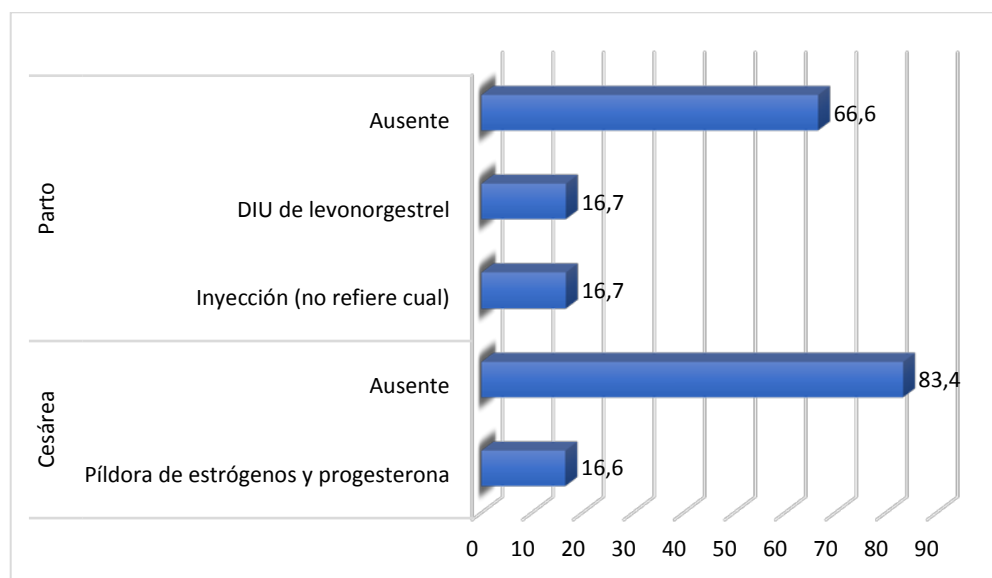


Figura 89. Distribución porcentual del tipo de método de planificación familiar utilizado en la población de estudio según la vía de nacimiento.

Al contrastar las variables entre ambos grupos, parto o cesárea, mediante pruebas de hipótesis para medias: t de *Student* en el caso de las variables de tipo cuantitativo (tabla 9) y proporciones en las de tipo cualitativo, a un 95% de confiabilidad, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$) entre ninguna de las variables; así mismo, tampoco se percibieron correlaciones significativas (tabla 9) ni asociaciones entre las variables.

Tabla 9. Análisis comparativo (t de *Student*) y de correlación (*Sperman*) entre las variables cuantitativas de la población de estudio según la vía de nacimiento.

Variable	Vía de Nacimiento		P	R	P
	Parto Natural (n=6) Media	Cesárea (n=12) Media			
Edad (años)	20.5	24.92	0.21	0.251	0.31
Nº Gestas	1.2	1.9	0.10	0.423	0.08
Semanas DG	37.8	38.6	0.49	0.205	0.41
Horas hasta RM	58:22	56:01	0.88	0	1
Apgar 1 min	3.7	3.5	0.81	-0.047	0.85
Apgar 5 min	6.7	6.4	0.54	-0.082	0.75
Nº abortos	0.2	0.5	0.16	0.322	0.19
CP	8.0	5.7	0.17	-0.344	0.16
IVSA (años)	18.2	19.1	0.63	0.069	0.78
UCIN (días)	2.2	1.4	0.27	-0.269	0.28

Semanas DG: semanas de gestación; RM: resonancia magnética; CP: número de consultas prenatales; IVSA: inicio de la vida sexual activa; UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

De otra parte, se observó positividad para hipoxia, en una área distinta a la de interés para este estudio, en el 15.4%, no observando diferencias estadísticamente significativas al contrastar todas las anteriores variables, tampoco se pudo establecer la presencia de asociación o correlación significativa; todo lo anterior a un 95% de confianza.

DISCUSIÓN

El hipocampo es una estructura de sustancia gris localizada en la profundidad de la región medial del lóbulo temporal y, aunque no tiene el número de capas ni las conexiones que existen en la neocorteza, representa una región por demás compleja donde coinciden estructuras filogenéticamente primitivas con las neocorticales; además, participa en diferentes funciones: modulación de la conducta emocional, memoria y aprendizaje, regulación de funciones hipotalámicas y control motor. La conducta emocional, es llevada a cabo a través de las conexiones con el sistema límbico, en tanto que la asociación con las funciones hipotalámicas y de control motor es a través de las conexiones con los cuerpos mamilares y con el tálamo.

El propósito de este estudio ha sido evaluar la presencia de alteraciones en el lóbulo temporal sugestivas de hipoxia-isquemia en las primeras horas de vida, en aquellos pacientes con sufrimiento fetal determinado por la puntuación Apgar. La evaluación de las alteraciones en el lóbulo temporal se ha realizado a través de las secuencias en la IRM, como es la de la *difusión*, que nos permiten apreciar cambios en el intercambio intra-extracelular, cuando existe esta clase de afección, dentro de las primeras 96 horas posteriores a la lesión.

La selección de pacientes se llevó a cabo utilizando la puntuación Apgar, por ser una prueba universal y reproducible y cuya puntuación tiene un valor pronóstico de sobrevivencia que ha perdurado en el tiempo. Se seleccionaron los pacientes con puntuación igual o menor de 7 a los cinco minutos siguiendo los criterios de inclusión ya señalados. Estos criterios permiten eliminar factores ya conocidos por alterar dicha puntuación, por ejemplo, se eliminaron pacientes con puntuación baja sugestiva de asfixia severa, cuya población no era el objetivo primario de este estudio ya que estos pacientes suelen tener asociadas lesiones encefálicas difusas severas con afección neurológica severa temprana; a diferencia de estos pacientes, nuestro interés se centró en aquellos que no suelen tener afección cognitiva o parálisis cerebral y que presentan inicialmente un desarrollo neurológico normal, aunque

posteriormente puedan desarrollarse diferentes patologías, incluida epilepsia, con los frecuentes cambios que se observan en la calidad de vida asociada a la enfermedad.

A los pacientes se les realizó la IRM sin utilizar sedación y acompañados por el médico residente de pediatría, previo consentimiento informado; solo en dos de ellos no se pudo llevar a cabo el estudio con las secuencias completas por estar intranquilos en el momento del estudio; sin embargo, sí se les pudieron realizar las secuencias de difusión.

El análisis de los 40 lóbulos temporales de estos pacientes seleccionados demostró la ausencia de cambios sugestivos de hipoxia-isquemia en dichas regiones y la correlación con las diferentes variables no dio un valor estadísticamente predictivo; sin embargo, cabe señalar que en los pacientes número cuatro y número trece se observaron discretas áreas de isquemia en regiones diferentes al lóbulo temporal, las cuales no guardan relevancia para este estudio, que pueden constatar la presencia de este tipo de fenómeno hipóxico-isquémico con una puntuación Apgar que sugiera asfixia moderada, y que posiblemente haya regiones más susceptibles a éste que el propio lóbulo temporal.

Estos resultados muestran que con un sufrimiento fetal moderado no existe evidencia de cambios de hipoxia-isquemia en el lóbulo temporal que pudieran sugerir daño a ese nivel en el momento del nacimiento por la secuencia de difusión en la IRM.

Con estos hallazgos, deberían considerarse otras etiologías diferentes a la hipoxia perinatal como factores causales de la EMT; y éstas deben incluir aquellas donde el fenómeno inflamatorio genera alteraciones en la barrera hematoencefálica de dicha región;¹⁵⁹⁻¹⁶² las anomalías vasculares –ya descritas desde finales del siglo XIX¹⁶³ y que han cobrado importancia en los últimos años- con resultados controvertidos, ya que hay reportes de un incremento de la vascularidad dando pie a

la teoría de un proceso angiogénico,¹⁶⁴⁻¹⁶⁷ en tanto que otros autores encuentran una reducción del volumen vascular en el tejido asociada a alteraciones microvasculares, consistentes en atrofia y disminución del lumen en el asta de Ammón particularmente en la región CA1;^{160,168} y, por último, la relación existente entre la expresión de la fosfatasa alcalina endotelial en aquellos individuos con atrofia hipocámpica, en donde se encuentra disminuida y que incluso sugiere una etiología genética;^{160,169-174} además de aquellas asociadas a procesos, como trauma craneal, meningitis, encefalitis, estado epiléptico y crisis febriles, que se pueden asociar a un daño que genere una respuesta inflamatoria que progrese hasta la conformación de la esclerosis hipocámpica, como ha sido sugerido por Yang *et al.* y Pitkänen y Sutula,^{161,162} y la EMT familiar con características propias tanto clínica como histopatológicamente.

En nuestro estudio, el número de pacientes, y por lo tanto de lóbulos temporales analizados, es pequeño ya que, por un lado, afortunadamente la presencia de datos de asfixia perinatal moderada ha disminuido –al menos en la población del Hospital Universitario “José E. González”- y, por otro lado, los criterios de exclusión eliminaron los factores que pudieran dar puntuaciones Apgar bajas como falsos positivos, dando por resultado una población selecta y escasa pero sin variables que pudieran contaminar los resultados. Creemos que sería recomendable continuar con el registro de pacientes, si bien el aspecto económico de los estudios de IRM es otro factor que se interpone en la realización de este protocolo.

Otro aspecto a evaluar es el seguimiento de estos pacientes en los próximos años para investigar el desarrollo de una epilepsia, u otras patologías que pudieran asociarse con la esclerosis hipocámpica, y, si ésta ocurriera, valorar algún otro factor asociado de los conocidos; sin embargo, por las características demográficas de estos pacientes dicho seguimiento se vuelve difícil ya que suelen tener una habitación un tanto nómada y con pobre acceso a las vías de comunicación tradicionales.

La formación hipocampal humana está formada por algunas estructuras del lóbulo temporal medial que desempeñan papeles muy importantes en la memoria. La formación comprende el hipocampo propiamente dicho, así como las estructuras principales a las que sus neuronas se conectan. La formación hipocampal se divide en subregiones con funciones diferentes en el sistema de memoria y que son diferencialmente afectadas por procesos como el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer.^{175,176} Debido a las conexiones que existen en el circuito hipocampal, una lesión primaria o una disfunción en cualquier subregión, puede afectar a las subregiones vecinas.¹⁷⁶

Dependiendo del tipo de trastornos que originan muerte neuronal, se verán afectadas unas u otras áreas del hipocampo. Así, con una enfermedad vascular, el área más afectada es CA1,^{177,178} en la enfermedad de Alzheimer, es la corteza entorrinal la que se verá más afectada,¹⁷⁹⁻¹⁸¹ CA1 y el subículo también se ven comprometidos y, sin embargo, el giro dentado y CA3, se preservan.¹⁸⁰⁻¹⁸² En la epilepsia del lóbulo temporal la muerte celular es extensa y ocurre preferentemente en el giro dentado y en las subregiones CA.¹⁸³ Nosotros hemos observado que en el caso del paciente que sufrió asfixia perinatal, el giro dentado es la región del hipocampo que presentó un mayor número de células apoptóticas junto con la región CA4. Una mención especial debe hacerse con las muestras del paciente con un mes de edad en el que observamos en todas las regiones hipocampales un gran número de células apoptóticas, tanto neuronas como células gliales; la causa de la defunción de este paciente fue un fallo orgánico múltiple debido a choque séptico, por lo que, en principio, no tendría relación con el elevado número de células muertas que hemos observado.

Anderova *et al.*⁹⁶ han observado en la región CA1 del hipocampo de rata, tras un proceso de isquemia y reperfusión, que ocurre muerte neuronal, proliferación de células gliales y gliosis, acompañadas por una disminución del coeficiente de difusión

de agua y una disminución de la fracción de volumen del espacio extracelular en las primeras etapas de la reperfusión; mientras que, posteriormente existe un aumento del coeficiente de difusión debido al aumento de células gliales. Nuestros resultados concuerdan con los descritos por estos autores, ya que hemos observado que en las regiones CA1 y CA2 del paciente que presentó asfixia perinatal, existen células PCNA positivas, tanto neuronas como células gliales. Esto induce a pensar que acompañando a la muerte neuronal observada con la técnica TUNEL, se origina un mecanismo de reparación en la zona mediante la proliferación de células gliales.

De todas las muestras estudiadas destaca, por el número de células PCNA-positivas, el hipocampo del paciente con un año de edad. PCNA es co-factor de las ADN polimerasas y se expresa durante la fase G1/S del ciclo celular; está implicado en la replicación del ADN¹⁸⁴ por lo que se utiliza ampliamente como marcador de proliferación celular. Las regiones del cerebro que muestran proliferación en el adulto son la zona subventricular y el giro dentado del hipocampo donde se han localizado células precursoras neuronales.¹⁸⁵

La neurogénesis hipocampal es necesaria para algunos tipos de aprendizaje dependiente del hipocampo. Existen muchos factores que amplifican la neurogénesis hipocampal como son las hormonas, factores de crecimiento, drogas, neurotransmisores y ejercicio físico. Por el contrario, otros factores como el envejecimiento, el estrés y los glucocorticoides suprimen la neurogénesis.¹⁸⁶ Además, todos los tratamientos farmacológicos para la depresión amplifican la neurogénesis hipocampal y una neurogénesis alterada puede tener un papel patofisiológico en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer.¹¹¹

Uno de los mecanismos implicados en la regulación de la neurogénesis en el adulto es la ruta de señalización del óxido nítrico (NO).^{187,188} El NO ejerce numerosas acciones en el cerebro y está implicado en los procesos cognitivos del hipocampo, como el aprendizaje y la memoria. De las distintas isoformas de NO, promueven la

neurogénesis el óxido nítrico endotelial (eNOS) y el inducible (iNOS),¹⁸⁹ mientras que el neuronal (nNOS) ejerce un efecto inhibitorio en la neurogénesis hipocampal. La neurogénesis inducida por eNOS está mediada por VEGF, ya que se ha visto en ratones knockout para eNOS una disminución de ARN mensajero de VEGF exclusivamente en el hipocampo y no en otras regiones del cerebro.¹⁸⁷

Se ha observado que la proliferación de las células madre neurales presentes en la zona subgranular del giro dentado es estimulada por la hipoxia,¹⁹⁰ a través de la vía de señalización Wnt/ β -catenina, con un incremento en la expresión de HIF-1 α .¹⁹¹ La hipoxia también induce la proliferación en la zona subgranular del giro dentado en un modelo de ratones transgénicos con enfermedad de Alzheimer.¹⁹¹

En el cerebro neonatal, la hipoxia es capaz de regular múltiples mediadores moleculares que pueden contribuir a inducir un daño neuronal a largo plazo.¹⁹² Cuando la hipoxia está acompañada de una reducción en el flujo sanguíneo (isquemia) son mayores las alteraciones en la expresión de HIF-1 α . En el cerebro de ratas recién nacidas, el córtex y el hipocampo son los lugares que presentan mayor expresión del RNA mensajero de HIF-1 α .¹⁹³ A las tres horas de un episodio hipóxico, Kaur *et al.*¹⁹⁴ han observado que aumenta la expresión del ARN mensajero de HIF-1 α , así como de la proteína, junto con genes diana como VEGF, eNOS, iNOS y nNOs, que son los responsables del daño causado a las dendritas y los axones en el hipocampo inmaduro. Nosotros hemos observado expresión de HIF-1 α localizada principalmente en la región CA1 y el subículo del paciente que presentó asfisia perinatal. En las otras muestras cabe destacar la mayor expresión de HIF-1 α en el paciente de un año de edad, donde se observa un mayor número de núcleos neuronales marcados, lo que indicaría la activación de este factor de transcripción.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Feast *et al.*,¹⁹⁵ quienes estudiaron la expresión de HIF-1 α y VEGF en el hipocampo de pacientes con epilepsia y esclerosis hipocampal, observando mayor expresión de HIF-1 α en CA1, CA3 y CA4.

También, Le *et al.*¹⁹⁶ han encontrado un aumento en la expresión de HIF-1 α en el hipocampo de pacientes con epilepsia del lóbulo temporal. En nuestro estudio, la expresión de HIF-1 α fue moderada, esto podría explicarse ya que HIF-1 α , en normoxia, tiene una vida media corta, de 5 a 8 minutos;¹⁹⁷ en condiciones hipóxicas, esta vida media aumenta hasta los 200 minutos.¹⁹⁸ Tras la hipoxia, la expresión de HIF-1 α aumenta rápidamente, alcanzando un pico a las 3-4 horas y manteniéndose 24 horas después del daño.¹⁹⁹

La expresión de HIF-1 α , con la subsecuente regulación al alza de VEGF en tejidos neurales, ha sido bien estudiada en el contexto de la respuesta celular adaptativa a hipoxia, anoxia y hemorragia cerebral.^{200,201} Diversos estudios han señalado el papel protector y restaurador de HIF-1 α que minimiza el daño producido por la ausencia de oxígeno y maximiza la recuperación.^{200,202} No hay estudios de la expresión de HIF-1 α en modelos de epilepsia, pero sí se ha estudiado la expresión de VEGF tras la inducción experimental de epilepsia²⁰³ en regiones sensibles como el hipocampo, tálamo y amígdala.²⁰³ Se ha observado expresión de VEGF en neuronas piramidales del hipocampo y células granulares y en astrocitos de la región CA1 y esta expresión está aumentada en los procesos con mayor frecuencia de ataques epilépticos.¹⁶⁴ VEGF podría ser responsable de alterar la permeabilidad vascular, modular la red vascular local, mediar en las reacciones inflamatorias, así como en la prevención de la pérdida neuronal que ocurre después de un episodio epiléptico.¹⁶⁴

Feast *et al.*¹⁹⁵ localizaron la expresión de VEGF con la de HIF-1 α en las neuronas del hipocampo, siendo esta expresión más frecuente en el giro dentado, CA1 y CA4. Nosotros hemos observado una intensa expresión de VEGF en todas las áreas hipocampales, tanto en el pericarion neuronal como en los neuropilos. Además, la expresión en el giro dentado en todas las muestras fue menor comparada con el resto de las regiones hipocampales, observaciones opuestas a las de Feast *et al.*,¹⁹⁵ si bien esta diferencia podría deberse a que ellos estudiaron hipocampos de pacientes

que sufrían epilepsia y esclerosis. Esta expresión fue más intensa en el paciente que sufrió asfixia perinatal. De todas las muestras estudiadas, la que presentó menor expresión de VEGF fue la que pertenecía al paciente con un año de edad que falleció debido a un síndrome de insuficiencia respiratoria. El patrón de expresión observado en el paciente con asfixia perinatal podría explicarse debido a una mayor demanda metabólica celular.

La mayoría de los desórdenes del cerebro se asocian con cambios regionales en el metabolismo basal. La energía metabólica en las neuronas requiere la ingesta de glucosa y el consumo de oxígeno. El estado metabólico en cualquier estructura del cerebro puede determinarse *in vivo* midiendo directamente la absorción de glucosa o el consumo de oxígeno mediante tomografía de emisión de positrones (PET); o bien, indirectamente midiendo la correlación del consumo de oxígeno mediante el flujo sanguíneo cerebral o el volumen sanguíneo cerebral con PET o IRM.²⁰⁴

Durante la isquemia, debido a la hipoxia, se produce el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa en las mitocondrias, de modo que no se puede generar ATP por este proceso. Esto provoca un descenso de la concentración de ATP con un aumento concomitante de la concentración de ADP, AMP y fosfato inorgánico. La glicolisis continúa con la glucosa remanente para proporcionar una mínima cantidad de ATP que resulta insuficiente. Debido al desequilibrio iónico se produce un aumento de la concentración de calcio en el citosol que conlleva una sobrecarga de calcio en la mitocondria al entrar este ión a través del *uniporter* de calcio mitocondrial.²⁰⁵ El resultado de todos estos efectos es una despolarización de la mitocondria que, si es muy alta y mantenida en el tiempo, conduce a una alteración irreversible y a la muerte de la célula, fundamentalmente por necrosis, pues ni hay ATP ni posibilidad de sintetizarlo.^{81,206}

En este contexto, se ha propuesto un papel fundamental de protección de la necrosis y apoptosis de la esfingosina1-fosfato frente al daño producido por la

hipoxia. La S1P, además de originar un incremento en los niveles del factor de transcripción HIF-1 α , induce la translocación de PKC ϵ a la mitocondria, tanto durante la isquemia como durante la recuperación,²⁰⁷ y PKC ϵ inhibe la apertura del poro en la membrana mitocondrial y, por tanto, la liberación de las moléculas proapoptóticas a través de dicho poro.²⁰⁸

S1P es un potente factor citoprotector que protege a las neuronas corticales de la toxicidad del β -amiloide.²⁰⁸ S1P también estimula la secreción de glutamato en las neuronas del hipocampo promoviendo la potenciación a largo plazo y la consolidación de la memoria.^{209,210} En el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer se ha descrito una disminución de los niveles de S1P y de la actividad de las esfingosinas quinasa (SK1 y SK2) en el hipocampo y el cortex temporal;²¹¹ también se observó una disminución de S1P en cerebros de pacientes con esclerosis.²¹²

S1P realiza su acción intracelularmente actuando como un segundo mensajero, o bien, extracelularmente actuando como ligando de los receptores S1P (S1PR1-5). En el hipocampo de rata, Kajimoto *et al.*²⁰⁹ han localizado principalmente los receptores S1PR1 y S1PR3. La activación del S1PR1 induce un reordenamiento del citoesqueleto en los axones neuronales, facilitando, por tanto, la fusión de las vesículas presinápticas con la membrana plasmática; además esta activación induce la liberación de glutamato.²⁰⁹ En el hipocampo de ratón, Kanno *et al.*²¹⁰ también detectaron los receptores S1PR1 y S1PR3, principalmente en la región CA3. Al igual que lo observado por los anteriores autores, en todas las muestras que hemos estudiado, detectamos una intensa expresión de S1PR1, en el pericarion y en los neuropilos, aunque esta expresión no se restringe al área CA3, si no que aparece en todas las regiones. Cabe destacar que en la muestra del paciente con un año de edad, la intensidad de la señal fue muy alta.

Kajimoto *et al.*²⁰⁹ han observado expresión de esfingosina quinasa-1 en las neuritas de neuronas del hipocampo de ratas, con un patrón punteado, localizado en

los axones y vesículas presinápticas; sin embargo, nosotros no detectamos expresión de SK1 en ninguna de las muestras estudiadas, lo que podría deberse a que el anticuerpo utilizado no reconozca la isoforma presente en el hipocampo, o bien, al procesamiento de las muestras, de modo que se haya alterado el epítipo y, por lo tanto, no pueda haber reacción antígeno-anticuerpo.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- Primera.** En neonatos con asfixia perinatal moderada no se encontró evidencia de alteraciones en el intercambio intra-extracelular, utilizando la secuencia de difusión en los lóbulos temporales, sugestiva de afección hipóxico-isquémica.
- Segunda.** En neonatos con asfixia perinatal moderada, se observaron cambios sugestivos de hipoxia en el 15.4% de la población estudiada en regiones diferentes al lóbulo temporal.
- Tercera.** El test de Apgar no presenta capacidad predictiva clínicamente relevante en el establecimiento de hipoxia en el lóbulo temporal, en la población estudiada.
- Cuarta.** En el hipocampo de neonatos con asfixia perinatal, se ha observado un elevado número de células apoptóticas principalmente en la capa CA4 y en el giro dentado.
- Quinta.** El hipocampo de neonatos con asfixia perinatal presentó intensa expresión de VEGF-A y del receptor 1 de la esfingosina 1-fosfato.

RESUMEN

RESUMEN

TÍTULO: Relación de la escala de APGAR con hipoxia del lóbulo temporal.

INTRODUCCIÓN

El hipocampo es una estructura de sustancia gris subcortical, localizada en el lóbulo temporal asociado al sistema límbico. Es un área de citoarquitectura simple donde la organización de la información es unidireccional, en lugar de bidireccional y recíproca, o de “ida y vuelta”, como en la neocorteza. En la actualidad se considera que las posibles funciones del hipocampo se pueden dividir en cuatro categorías: modulación de la conducta emocional, memoria y aprendizaje, regulación de funciones hipotalámicas y control motor.

El hipocampo, como estructura de sustancia gris del sistema nervioso central, se encuentra asociado a una serie de patologías diversas, pero es particularmente vulnerable al trauma, la hipoxia, las crisis epilépticas prolongadas e, incluso, la hipoglucemia. La encefalopatía hipóxico-isquémica (EHI) se considera la causa más frecuente de daño neurológico, y ha sido definida como el síndrome que presenta el recién nacido secundario a hipoxia o isquemia, debido a la disminución del oxígeno y el flujo sanguíneo en el sistema nervioso central, este síndrome cursa con alteración de las funciones neurológicas en los primeros días de vida, con dificultad para iniciar y mantener la respiración, disminución del tono muscular (hipotonía) y de los reflejos, estados anormales de la conciencia y, en algunos casos, presencia de convulsiones. La hipoxia provoca alteración en la fisiología celular y por ende anomalías bioquímicas que contribuyen a la disfunción celular particularmente del SNC en el recién nacido, dichas alteraciones incluyen cambios en la fosforilación oxidativa del metabolismo aeróbico el cual se vuelve altamente ineficiente, produciendo un agotamiento rápido de trifosfato de adenosina (TPA), acumulación de lactato intracelular y la consiguiente alteración de la función de la membrana celular (despolarización),

dando lugar a una afección en el intercambio iónico y líquido entre los espacios intra y extracelulares (de ahí la importancia de la secuencia de difusión por IRM que detecta las anomalías de intercambio de líquidos) y, por supuesto, la liberación de aminoácidos excitatorios, tales como el glutamato y el aspartato quienes participan en el proceso de lesión neuronal.

Durante estos episodios de hipoxia, células de diversa índole además de las neuronas pueden ser afectadas en el sistema nervioso, como las de la glía, dando lugar a afecciones también diversas; de acuerdo a la lesión establecida y las estructuras afectadas, se ha podido identificar y clasificar una serie de patrones lesionales histopatológicos en el Sistema Nervioso Central (SNC) que son: la necrosis neuronal selectiva, el status marmoratus, las alteraciones parasagitales, el daño focal y multifocal, y la leucomalacia paraventricular. Estos patrones son influenciados principalmente por la naturaleza misma de la alteración y por la edad gestacional en el momento del daño.

La Esclerosis Mesial Temporal es la afección del hipocampo caracterizado por pérdida neuronal y alteración de los circuitos, y puede ser focal o difusa, unilateral o bilateral y la etiología se ha relacionado históricamente a sufrimiento fetal y por ende afección hipóxico-isquémica, cuadros de meningitis, crisis epilépticas prolongadas o encefalitis previa,

A nivel pediátrico, se ha observado en estudios retrospectivos que un daño cerebral en edad temprana, tal como una crisis epiléptica prolongada o una crisis febril, puede asociarse a la presencia de una Esclerosis Mesial Temporal la cual se observa posterior a un periodo de latencia, en donde a partir de una lesión irreversible ocurren cambios estructurales y funcionales del hipocampo y aparentemente existe una mayor predisposición a ésta en edades tempranas; sin embargo, solo en 2 al 7% de los niños con crisis febriles desarrollan epilepsia y han mostrado la evolución de la EMT posterior a la presencia de crisis febriles

prolongadas en estudios seriados de IRM. En el adulto se reconoce la aparición de la Esclerosis Mesial Temporal posterior a episodios de estado epiléptico. En los últimos años se ha desarrollado una teoría basada en la existencia de una malformación de base en el hipocampo como anomalía primaria que predispone a esclerosis hipocámpica y crisis febriles; se ha observado que los cerebros con esclerosis hipocámpica muestran una persistencia anormal de células Cajal-Retzius calretinin positivas, éstas células desempeñan un papel principal en la organización neuronal del cerebro en desarrollo a través de la secreción de la reelina, detectándose un incremento de las mismas en los casos de EMT y crisis febriles que podrían corresponder a una respuesta de lesión en etapa temprana que altera el desarrollo del hipocampo.

Por todo lo anterior, diversos estudios y pruebas se han dado a la tarea de identificar el daño por hipoxia en el encéfalo, en 1952 la Dra. Virginia Apgar (1909-1974), médico anestesiólogo, propuso evaluar la vitalidad de los recién nacidos (RN) en el momento inmediato al nacer, a través de cinco signos clínicos objetivos y fáciles de describir, y relacionar el resultado con algunas prácticas anestésicas y obstétricas. Los elementos del test de Apgar son: frecuencia cardíaca, tono muscular, irritabilidad refleja, esfuerzo respiratorio y color; estos signos dependen de la madurez y por ello los RN prematuros presentan Apgar bajo sin evidencias bioquímicas de asfixia. Mientras más prematuro es el RN, el Apgar tiende a ser más bajo en presencia de pH arteria umbilical normal.

El examen de Apgar ha sido muy controvertido, porque históricamente se ha usado para diagnosticar asfixia al nacer, es así como el *International Classification of Disease* define asfixia moderada cuando el Apgar al minuto es de 6 puntos o menos y severa cuando Apgar al minuto menor de 3; la gran ventaja que existe con este puntaje es la facilidad para llevarlo a cabo y su reproducibilidad ya que consiste en una evaluación exclusivamente clínica; sin embargo, la utilidad de este puntaje se

cuestiona porque no siempre se correlaciona con el estado ácido-base del paciente, la evolución clínica y, lo que es más importante, con el pronóstico neurológico; la prueba de Apgar es útil para conocer la condición vital del neonato en los primeros minutos de vida que si se demuestra bajo y prolongado puede ser significativo para el pronóstico neurológico; sin embargo, en la actualidad para hablar de asfixia se recomienda correlacionar con el pH de arteria umbilical ya que ésta última en forma aislada tampoco es evidencia firme de asfixia debiendo señalar que dicha asociación es válida para reconocimiento de riesgo de parálisis cerebral donde hay una afección difusa; en el sistema nervioso central, las afecciones a las células del hipocampo particularmente CA1 son conocidas por ser las más sensibles a la hipoxia junto a las de Purkinje y estas pueden estar lesionada sin afección al resto del SNC.

Por otro lado, considerando que un test de Apgar <6 presenta una sensibilidad del 46,7% y una especificidad del 90%, y que para una Apgar < 7 la sensibilidad es del 43,5% y la especificidad del 81%, podemos concluir que este test no posee las características de tamizaje rápido que frecuentemente se le otorgan; sin embargo, al ser una evaluación de sencilla aplicación y de utilización mundial, con características de confirmación en presencia de salud relevantes, se puede establecer como un buen sistema de segmentación.

Desde el punto de vista de pruebas de imagen, con la IRM, existen técnicas específicas para la evaluación de lesiones hipóxico-isquémicas que permiten identificarlas con relativa facilidad, tanto por las secuencias convencionales T1 y T2, como por la relativamente nueva secuencia de difusión (diffusion weighted imaging-DWI). Las imágenes en secuencia de difusión se incorporan en la mayoría de los protocolo de RMN y son componentes esenciales para la evaluación de lesiones hipóxico-isquémicas tempranas que permiten identificar lesiones de esta índole en periodos donde las secuencias convencionales (T1 y T2) aún no demuestran la lesión. La *secuencia de difusión* permite observar alteraciones por cambios asociados a

hipoxia debido a que evidencia los trastornos de la difusión del agua a nivel celular, del espacio intracelular al extracelular; cuando está alterado el paso entre ambos espacios se “restringe” dicha difusión, demostrando la alteración de la función de la membrana celular. Esta lesión no se aprecia en las secuencias ponderadas en T1 y T2 ni en la secuencia FLAIR, ya que requieren un daño estructural establecido.

En el neonato, las zonas de mayor predisposición a la lesión hipóxica perinatal son los ganglios basales, los centros semiovaes, las áreas limítrofes y las lesiones puntiformes en la sustancia blanca; sin embargo, *no se han reportado cambios en la región del lóbulo temporal*. Por lo mismo, en los últimos años, la secuencia de difusión ha venido a dar un giro en este campo al poder evidenciar las anomalías en el intercambio del líquido extra e intracelular asociadas al daño por hipoxia en el periodo agudo; habiendo, de hecho, autores que sugieren esta evaluación como incuestionable e indispensable en pacientes con encefalopatía o sospecha de ella en los centros que cuenten con este equipo.

En definitiva, el hipocampo es muy susceptible al daño producido por la hipoxia, especialmente el área CA1 del cuerno de Ammón. Además, se ha observado que la hipoxia genera cambios agudos y crónicos en la excitabilidad de la red neuronal del área CA1.

La hipoxia se origina por la disminución brusca del aporte sanguíneo hasta unos niveles que resultan insuficientes para mantener el metabolismo y las funciones normales de las células cerebrales. El resultado es que el riego sanguíneo se interrumpe, produciéndose la isquemia. Debido a la falta de glucosa y oxígeno no se puede mantener la homeostasis celular, produciéndose diversos efectos, como desequilibrio iónico, excitotoxicidad, aumento de la concentración de calcio, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, disminución de la concentración de ATP y estrés oxidativo, lo que termina provocando finalmente la muerte de la célula por apoptosis o necrosis.

Si la isquemia se prolonga varios minutos, las neuronas de la zona más afectada sufren un daño irreversible y mueren por necrosis. Sin embargo, en las regiones que rodean a esta región (zona de penumbra) existe un cierto riego sanguíneo y por lo tanto la intensidad de la isquemia es menor, de modo que aunque el metabolismo se detiene, disminuyen las propiedades de excitabilidad eléctrica neuronales y se perturban los gradientes iónicos, se produce menos daño y las células mueren fundamentalmente por apoptosis e, incluso, se pueden recuperar si se restablece el flujo sanguíneo.

Es por ello que quisimos analizar la expresión de diferentes proteínas implicadas en procesos de hipoxia (HIF-1 α), proliferación (PCNA, VEGF y Esfingosina 1-fosfato), diferenciación y muerte celular (apoptosis).

OBJETIVO

El objetivo general del estudio fue determinar la prevalencia de hipoxia en el lóbulo temporal evaluado por IRM en secuencia de difusión, en pacientes con puntaje igual o menor a 7 en la escala Apgar a los cinco minutos, correlacionar el puntaje de la escala de Apgar con la hipoxia encefálica en el lóbulo temporal y analizar la expresión inmunohistoquímica de diferentes proteínas implicadas en procesos hipóxicos en el hipocampo de pacientes que presentaron asfisia perinatal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron un total de 40 lóbulos temporales de 20 pacientes. Los neonatos fueron mayores de 34 semanas de gestación, con un periodo menor a 96 horas de nacido, con un consentimiento informado firmado por los padres, estables metabólicamente y hemodinámicamente, nacidos por parto o cesárea y con puntaje Apgar igual o menor a 7 a los 5 minutos.

Se realizó un estudio cualitativo, descriptivo y correlacional. Se registraron los datos generales, tanto de los padres como de los abuelos y tíos, y se realizó estudio

de IRM antes de las primeras 96 horas posteriores al nacimiento del paciente con protocolo estandarizado de secuencias T1, T2 y difusión, con evaluación completa del lóbulo temporal.

De otra parte, para el estudio inmunohistoquímico se analizaron muestras de hipocampo humano, de cuatro pacientes pediátricos, obtenidas de los archivos de patología del Hospital.

RESULTADOS

La edad de las madres se encontraba en los 23.4 ± 6.9 años; la vía de nacimiento mostró un ligero predominio de cesárea (66.7%). El 38.9% de las madres de los pacientes estaban casadas en el momento del estudio y el restante 61.1% vivían en unión libre.

Ninguno de los casos mostró migraña, hipertensión arterial, diabetes mellitus, tabaquismo, alcoholismo o familiares con epilepsia, observando ingesta de ácido fólico en todas las pacientes; el 22.4% de las pacientes utilizaban algún método de planificación familiar, siendo la píldora el más común; al analizar los 20 pacientes (7 femeninos y 13 masculinos) no se observó en ninguno de los lóbulos la presencia de cambios sugestivos de hipoxia-isquemia en la región de interés para este estudio; sin embargo, un 10% de los pacientes (2 pacientes) mostraron lesión en otras regiones.

Aunque los resultados mostraron la ausencia de alteración hipoxico-isquémica en el lóbulo temporal y, por ende, no presentaron un valor estadísticamente predictivo, es importante señalar que en dos pacientes se observaron áreas de isquemia en regiones diferentes al lóbulo temporal (las cuales no guardan relevancia para este estudio); sin embargo, podrían relacionarse con la presencia de este tipo de fenómeno hipóxico-isquémico y un puntaje APGAR que sugiera asfixia moderada; además, es posible que haya regiones más susceptibles a este fenómeno que el mismo lóbulo temporal.

Estos resultados sugieren que un sufrimiento fetal moderado, determinado por la escala de Apgar, no evidencia cambios de hipoxia-isquemia en el lóbulo temporal que puedan indicar daño a ese nivel en el momento del nacimiento, según la secuencia de difusión en la IRM. Sin embargo, el número de pacientes y, por tanto, el de lóbulos temporales analizados es discreto ya que, por un lado, afortunadamente la presencia de datos de asfixia perinatal moderada ha disminuido en la población de los centros estudiada y, por otro lado, los criterios de exclusión eliminaron los factores que podrían dar puntuaciones Apgar bajas como falso positivo; de este modo, nuestra población ha sido selecta y escasa, pero no presenta variables que puedan contaminar los resultados.

De otra parte, la tinción de Klüver-Barrera reveló que con la hipoxia disminuye el número de cuerpos neuronales en todas las regiones del hipocampo. La técnica TUNEL mostró un mayor número de células apoptóticas en el neonato que presentó asfixia perinatal y en el paciente de 1 mes de edad. La inmunotinción para PCNA indicó escasa proliferación celular en el hipocampo, excepto en el paciente de un año de edad. La expresión de HIF-1 α fue nula o moderada; sin embargo, la expresión de VEGF A fue intensa en casi todas las regiones del hipocampo. La intensidad de la reacción para S1PR1 fue menor en los pacientes con asfixia perinatal y se localizó principalmente en el pericarion.

CONCLUSIONES

El presente estudio demuestra que en los neonatos con asfixia perinatal moderada, determinada por la escala de Apgar, no se evidencian alteraciones en el intercambio intra-extracelular, utilizando la secuencia de difusión en los lóbulos temporales, sugestiva de afección hipóxico-isquémica. Asimismo, el test de Apgar no presenta capacidad predictiva clínicamente relevante en el establecimiento de hipoxia en el lóbulo temporal, en la población estudiada. De otra parte, en el hipocampo de neonatos con asfixia perinatal, se ha observado un elevado número de

células apoptóticas, principalmente en la capa CA4 y en el giro dentado, y una intensa expresión de VEGF-A y del receptor 1 de la esfingosina 1-fosfato.

REFERENCIAS MÁS RELEVANTES

Ng YTN, McGregor AL, Duane DC, Jahnke HK, Bird CR, Wheless JW. Childhood mesial temporal sclerosis. *J Child Neurol* 2006;21:512-517.

Farina L, Bergqvist C, Zimmerman RA, Haselgrove J, Hunter JV, Bilaniuk LT. Acute diffusion abnormalities in the hippocampus of children with new-onset seizures: the development of mesial temporal sclerosis. *Neuroradiology* 2004;46:251-257.

Wolf HK, Campos MG, Zentner J, Hufnagel A, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD. Surgical pathology of temporal lobe epilepsy. Experience with 216 cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:499-506.

Auer RN, Siesjö BK. Biological differences between ischemia, hypoglycemia, and epilepsy. *Ann Neurol* 1988;24:699-707.

Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953;32:260-267.

Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology* 2000;217:331-345.

Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology* 2008;55:310-318.

Jensen FE, Wang C, Stafstrom CE, Liu Z, Geary C, Stevens MC. Acute and chronic increases in excitability in rat hippocampal slices after perinatal hypoxia in vivo. *J Neurophysiol* 1998;79:73-81.

Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev* 1999;79:1431-1568.

Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiopulmonary arrest. *Neurology* 1987;37:1281-1286.

SUMMARY

SUMMARY

TITLE: Relationship between the APGAR score and temporal lobe hypoxia.

INTRODUCTION

The hippocampus is a structure of subcortical gray matter associated with the limbic system that is located in the temporal lobe. It is an area of simple cytoarchitecture where the organization of information is unidirectional, rather than bidirectional and reciprocal, or "back and forth" as in the neocortex. It is currently considered that the possible functions of the hippocampus can be divided into four categories: modulation of emotional behavior, memory and learning, regulation of hypothalamic functions, and motor control.

The hippocampus, as a structure of gray matter of the central nervous system (CNS), is associated with a number of different pathologies, but it is particularly vulnerable to trauma, hypoxia, prolonged seizures, and even hypoglycemia. Hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) is considered the most common cause of neurological damage, and has been defined as a syndrome present in the newborn, secondary to hypoxia or ischemia due to decreased oxygen and blood flow in the central nervous system. This syndrome presents with impaired neurological functions in the first days of life, with difficulty initiating and maintaining breathing, decreased muscle tone (hypotonia) and reflexes, abnormal states of consciousness and, in some cases, seizures. Hypoxia causes alterations in cell physiology and therefore biochemical abnormalities that contribute to cell dysfunction, particularly in the CNS of the newborn. These alterations include changes in oxidative phosphorylation of aerobic metabolism, which becomes highly inefficient, producing a rapid depletion of adenosine triphosphate (ATP), intracellular accumulation of lactate, thus altering the function of the cell membrane (depolarization), a condition that results in ion and fluid exchange between the intracellular and extracellular spaces (hence the

importance of the MRI diffusion sequence that detects anomalies in fluid exchange) and the release of excitatory amino acids, such as glutamate and aspartate, which participating in neuronal lesions.

During these episodes of hypoxia, different kinds of cells, in addition to neurons, may be affected in the nervous system, such as glial cells. This results in various conditions. According to the established lesion and the affected structures, a series of histopathological lesion patterns in the CNS have been identified and classified: selective neuronal necrosis, status marmoratus, parasagittal disorders, focal and multifocal damage, and paraventricular leukomalacia. These patterns are influenced mainly by the nature of the alteration and gestational age at the time of injury.

Mesial temporal sclerosis is the condition of the hippocampus characterized by neuronal loss and circuit alteration; it may be focal or diffuse, unilateral or bilateral, and its etiology has historically been associated with fetal distress, and therefore, hypoxic-ischemic disease, meningitis, prolonged seizures, or prior encephalitis.

In children, in retrospective studies, it has been observed that brain damage at an early age, such as a prolonged seizure or febrile crisis, may be associated with the presence of mesial temporal sclerosis, which is observed after a period of latency, where after irreversible damage, hippocampal structural and functional changes occur and apparently there is a greater predisposition to it at an early age; however, only 2 to 7% of children with febrile seizures develop epilepsy and have shown evolution of the EMT in serial MRI studies after prolonged febrile seizures. In the adult, mesial temporal sclerosis occurs after episodes of status epilepticus. In recent years a theory based on the existence of a basic malformation in the hippocampus as a primary abnormality that predisposes to hippocampal sclerosis and febrile seizures has been developed. It has been observed that brains with hippocampal sclerosis show abnormal persistence of calretinin-positive Cajal-Retzius cells. These cells play a major role in neuronal organization of the developing brain through the secretion of

reelin detecting an increase thereof in cases of EMT and febrile seizures that could correspond to an early response to injury that alters hippocampal development.

Given the above, various studies and tests have been used to identify damage from brain hypoxia. In 1952, Dr. Virginia Apgar (1909-1974), anesthesiologist, proposed a score that evaluates the vitality of newborns at the moment of birth through five clinical signs which are easy to detect, and that relate to the results of anesthetic and obstetric practices. The elements of the Apgar score are: heart rate, muscle tone, reflex irritability, respiratory effort, and color. These signs depend on maturity; therefore, preterm infants have a low Apgar score with no biochemical evidence of asphyxia. The more premature the newborn, the lower the Apgar score tends to be in the presence of normal umbilical artery pH.

The Apgar score has been controversial because historically, it has been used to diagnose asphyxia at birth. The International Classification of Disease defines moderate asphyxia as an Apgar score at one minute of 6 points or less, and severe asphyxia when the Apgar score at one minute is 3. The greatest advantage of this score is that it is easy to perform and it is reproducible, since it is a purely clinical evaluation; however, its usefulness has been questioned because it does not always correlate with the acid-base status of the patient, the clinical course and, more importantly, with the neurological outcome. The Apgar score is most useful to assess the vital status of the infant in the first minutes of life. If it is low it can be important to define the neurological outcome; however, when discussing asphyxia it is recommended to correlate it with the pH of umbilical artery blood, although this measure alone is not firm evidence of asphyxia. Nevertheless, this association is valid for recognition of cerebral palsy risk, where there is a diffuse condition in the central nervous system. CA1 hippocampal cells are particularly known to be more sensitive to hypoxia together with Purkinje cells, and these may be damaged without affecting the rest of the CNS.

Furthermore, considering that an Apgar score <6 has a sensitivity of 46.7% and a specificity of 90%, and an Apgar < 7, a sensitivity of 43.5% and a specificity of 81%, we can conclude that this score does not possess the characteristics of a rapid screening test; however, since it is a simple assessment used worldwide, with relevant health features, it can be established as a good segmentation system.

From the standpoint of MR imaging, there are specific techniques that relatively easily identify hypoxic-ischemic lesions: conventional T1 and T2 sequences, and the relatively new diffusion-weighted imaging (DWI). Sequential diffusion images are incorporated into most MRI protocols and are essential components for the evaluation of early hypoxic-ischemic lesions. They allow identification of these lesions when conventional sequences (T1 and T2) do not show a lesion. The diffusion sequence can observe alterations caused by changes associated with hypoxia because it demonstrates disorders in water diffusion at the cellular level, from the intracellular to the extracellular space. When diffusion between these two spaces is "restricted", altered cell membrane function is demonstrated. This lesion is not seen in T1 and T2 weighted sequences nor in the FLAIR sequence because these require established structural damage.

In the neonate, the areas with the greatest susceptibility to perinatal hypoxic damage are the basal ganglia, the semioval centers, borderline areas and punctate lesions in the white matter; however, changes in the temporal lobe region have not been reported. In recent years, diffusion sequence has changed CNS imaging because it highlights anomalies in extracellular and intracellular fluid exchange associated with acute damage caused by hypoxia. In fact, authors suggest that this assessment is unquestionable and indispensable in the evaluation of patients with or with suspicion of encephalopathy.

In short, the hippocampus is very susceptible to damage from hypoxia, especially the CA1 area of the horn of Ammon. Furthermore, it has been observed

that acute and chronic hypoxia produce changes in the excitability of the neuronal network of the CA1 area.

Hypoxia is caused by a sudden decrease in the blood supply to levels that are insufficient to maintain normal brain cell metabolism and function. The outcome is that the blood supply is interrupted, resulting in ischemia. Due to the lack of glucose and oxygen, cell homeostasis can not be maintained, producing diverse effects, such as ion imbalance, excitotoxicity, increased calcium concentration, uncoupling of oxidative phosphorylation, a decrease in ATP concentration, and oxidative stress, which eventually cause cell death by apoptosis or necrosis.

If ischemia lasts several minutes, neurons in the affected area suffer irreversible damage and die from necrosis. However, in the regions surrounding the area (penumbra), there is still a certain amount of blood flow and therefore the severity of ischemia is less; although metabolism stops, neuronal properties and electrical excitability decrease, and ionic gradients are disturbed, less damage occurs and the cells die mainly from apoptosis, and they can even recover if blood flow is restored.

That is why we decided to analyze the expression of different proteins involved in hypoxia (HIF-1 α), proliferation (PCNA, VEGF and sphingosine 1-phosphate), differentiation, and cell death (apoptosis).

OBJECTIVE

The overall objective of the study was to determine the prevalence of hypoxia in the temporal lobe assessed by MRI diffusion sequence in patients with an Apgar score equal to or less than 7 at five minutes, correlating the Apgar score with brain hypoxia and analyzing immunohistochemical expression of different proteins involved in hypoxic processes in the hippocampus of patients with perinatal asphyxia.

MATERIAL AND METHODS

A total of 40 temporal lobes from 20 patients were assessed. The neonates were older than 34 weeks gestation, with less than 96 hours after birth, with informed consent signed by the parents, metabolically and hemodynamically stable, born vaginally or by cesarean section and with an Apgar score equal to or less than 7 at 5 minutes.

A qualitative, descriptive and correlational study was performed. General data of the parents, grandparents, and aunts and uncles were recorded and an MRI study was performed before the first 96 hours of birth with a standardized T1, T2, and diffusion sequences protocol with complete evaluation of the temporal lobe.

Human hippocampus samples of four pediatric patients were obtained from the hospital pathology files for immunohistochemical analysis.

RESULTS

The age of the mothers was 23.4 ± 6.9 years with a slight prevalence of birth by caesarean section (66.7%); 38.9% of the mothers were married at the time of the study and the remaining 61.1% lived in common law marriage.

None of the mothers had migraine, hypertension, diabetes mellitus, smoked, consumed alcohol or had relatives with epilepsy; all patients consumed folic acid; 22.4% used some method of family planning with the most common being oral contraception; of the 20 patients analyzed (7 girls and 13 boys), no changes suggestive of hypoxia-ischemia of the temporal lobe were observed; however, two patients (10%) showed a lesion elsewhere.

Although the results showed the absence of a hypoxic-ischemic alteration in the temporal lobe and therefore, did not have a statistically predictive value, it is important to point out that in two patients areas of ischemia in different regions of

the temporal lobe were observed (which were not relevant to this study); however, these could be related to the presence of this type of hypoxic-ischemic phenomenon and an APGAR score that suggests moderate asphyxia; in addition, there may be regions that are more susceptible to this phenomenon than the temporal lobe.

These results suggest that moderate fetal distress, as determined by the Apgar scale, does not produce hypoxic-ischemic changes in the temporal lobe that could indicate damage at that level at the time of birth, according to MRI diffusion sequence. However, the number of patients, and therefore the number of temporal lobes analyzed, is discrete, because moderate perinatal asphyxia has decreased in the population from the studied centers, and moreover, exclusion criteria eliminated the factors that could cause a low Apgar score as a false positive; thus, our population has been select and small, but with no variables that can contaminate the results.

Furthermore, Kluver-Barrera staining revealed that hypoxia reduces the number of neuronal cell bodies in all regions of the hippocampus. The TUNEL technique showed a higher number of apoptotic cells in the neonate who presented perinatal asphyxia and in a 1-month-old patient. PCNA immunostaining indicated poor cell proliferation in the hippocampus, except in the 1-year-old patient. HIF-1 α expression was null or moderate; however, VEGF expression was intense in almost all regions of the hippocampus. The intensity of the reaction to S1PR1 was lower in patients with perinatal asphyxia and was located mainly in the perikaryon.

CONCLUSIONS

The present study demonstrates that in neonates with moderate perinatal asphyxia, determined by the Apgar score, no changes in intra-extracellular exchange are evident, using the diffusion sequence in temporal lobes, which is suggestive of hypoxia-ischemia. Also, the Apgar score does not have a clinically relevant predictive ability for establishing hypoxia in the temporal lobe, in the population studied.

Furthermore, in the hippocampus of neonates with perinatal asphyxia, a large number of apoptotic cells was observed, mainly in the CA4 layer and in the dentate gyrus; also, an intense expression of VEGF-A and the sphingosine 1-phosphate receptor was seen.

MORE RELEVANT REFERENCES

Ng YTN, McGregor AL, Duane DC, Jahnke HK, Bird CR, Wheless JW. Childhood mesial temporal sclerosis. *J Child Neurol* 2006;21:512-517.

Farina L, Bergqvist C, Zimmerman RA, Haselgrove J, Hunter JV, Bilaniuk LT. Acute diffusion abnormalities in the hippocampus of children with new-onset seizures: the development of mesial temporal sclerosis. *Neuroradiology* 2004;46:251-257.

Wolf HK, Campos MG, Zentner J, Hufnagel A, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD. Surgical pathology of temporal lobe epilepsy. Experience with 216 cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:499-506.

Auer RN, Siesjö BK. Biological differences between ischemia, hypoglycemia, and epilepsy. *Ann Neurol* 1988;24:699-707.

Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953;32:260-267.

Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology* 2000;217:331-345.

Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology* 2008;55:310-318.

Jensen FE, Wang C, Stafstrom CE, Liu Z, Geary C, Stevens MC. Acute and chronic increases in excitability in rat hippocampal slices after perinatal hypoxia in vivo. *J Neurophysiol* 1998;79:73-81.

Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev* 1999;79:1431-1568.

Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiopulmonary arrest. *Neurology* 1987;37:1281-1286.

REFERENCIAS

1. **Panayiotopoulos CP.** Atlas of Epilepsies. Springer-Verlag London Limited; 2010.
2. **Andrade-Valença LP, Valença MM, Velasco TR, Carlotti CG Jr, Assirati JA, Galvis-Alonso OY, Neder L, Cendes F, Leite JP.** Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Clinical and neuropathological findings of familial and sporadic forms. *Epilepsia* 2008;49:1046-1054.
3. **Dickson DW, Davies P, Bevana C, Van Hoeven KH, Factor SM, Grober E, Aronson MK, Crystal HA.** Hippocampal sclerosis: a common pathological feature of dementia in very old (> or = 80 years of age) humans. *Acta Neuropathol* 1994;88:212-221.
4. **Ng YTN, McGregor AL, Duane DC, Jahnke HK, Bird CR, Wheless JW.** Childhood mesial temporal sclerosis. *J Child Neurol* 2006;21:512-517.
5. **Ng YT, McGregor AL, Wheless JW.** Magnetic resonance imaging detection of mesial temporal sclerosis in children. *Pediatr Neurol* 2004;30:81-85.
6. **Farina L, Bergqvist C, Zimmerman RA, Haselgrove J, Hunter JV, Bilaniuk LT.** Acute diffusion abnormalities in the hippocampus of children with new-onset seizures: the development of mesial temporal sclerosis. *Neuroradiology* 2004;46:251-257.
7. **CoCaTotILa Epilepsy.** Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
8. **Bruton CJ.** The neuropathology of temporal lobe epilepsy. Oxford, UK: Oxford University Press (Maudsley Monographs); 1998.
9. **Wieser H-G, PD W.** Ictal Semiology. In: Surgical Treatment of the Epilepsies. Engel Jr (ed), 2nd ed. New York: Raven Press; 1993. pp 161-171.
10. **Wolf HK, Campos MG, Zentner J, Hufnagel A, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD.** Surgical pathology of temporal lobe epilepsy. Experience with 216 cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:499-506.
11. **French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, Spencer DD.** Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol* 1993;34:774-780.
12. **Davies KG, Hermann BP, Dohan FC, Foley KT, Bush AJ, Wyler AR.** Relationship of hippocampal sclerosis to duration and age of onset of epilepsy, and childhood febrile seizures in temporal lobectomy patients. *Epilepsy Res* 1996;24:119-126.
13. **Annegers JF, Hauser WA, Shirts SB, Kurland LT.** Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions. *N Eng J Med* 1987;316:493-498.
14. **VanLandingham KE, Heinz ER, Cavazos JE, Lewis DV.** Magnetic resonance imaging evidence of hippocampal injury after prolonged focal febrile convulsions. *Ann Neurol* 1998;43:413-426.
15. **Free SL, Bergin PS, Fish DR, Cook MJ, Shorvon SD, Stevens JM.** Methods for normalization of hippocampal volumes measured with MR. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995;16:637-643.

16. **Shorvon SD.** The treatment of epilepsy. Blackwell Publishing; 1996.
17. **Fernandez G, Effenberger O, Vinz B, Steinlein O, Elger CE, Döhring W, Heinze HJ.** Hippocampal malformation as a cause of familial febrile convulsions and subsequent hippocampal sclerosis. *Neurology* 1998;50:909-917.
18. **Baulac M, De Grissac N, Hasboun D, Oppenheim C, Adam C, Arzimanoglou A, Semah F, Lehericy S, Clemenceau S, Berger B.** Hippocampal developmental changes in patients with partial epilepsy: magnetic resonance imaging and clinical aspects. *Ann Neurol* 1998;44:223-233.
19. **Blümcke I, Beck H, Suter B, Hoffmann D, Fodisch HJ, Wolf HK, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD.** An increase of hippocampal calretinin-immunoreactive neurons correlates with early febrile seizures in temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 1999;97:31-39.
20. **Blümcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Bartolomei F, Bernasconi A, Bernasconi N, Bien CG, Cendes F, Coras R, Cross JH, Jacques TS, Kahane P, Mathern GW, Miyata H, Moshé SL, Oz B, Özkara Ç, Perucca E, Sisodiya S, Wiebe S, Spreafico R.** International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: a Task Force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods. *Epilepsia* 2013 ;54:1315-1329.
21. **Auer RN, Siesjö BK.** Biological differences between ischemia, hypoglycemia, and epilepsy. *Ann Neurol* 1988;24:699-707.
22. **Longo DL, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson JJ, Loscalzo J.** Harrison's Principles of Internal Medicine. 18th ed. McGraw-Hill; 2011.
23. **Romero Esquilano G, Mendez Ramírez I, Tello Valdés A., Torner Aguilar CA.** Neurological damage due to perinatal ischemia. *Arch Neurocién (Mex, DF)* 2004;9:143-150.
24. **Volpe JJ.** Neurology of the Newborn. 4th Ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001.
25. **González de Dios J, Moya M.** Asfixia peri natal, encefalopatía hipóxico-isquémica y secuelas neurológicas en recién nacidos a término: estudio epidemiológico. *Rev Neurol* 1996;24:812-819.
26. **Wu YW, Backstrand KH, Zhao S, Fullerton HJ, Johnston SC.** Declining diagnosis of birth asphyxia in California: 1991-2000. *Pediatrics*. 2004;114:1584-1590.
27. **Levy S, Hyman S.** Valoración pediátrica del niño con retraso del desarrollo. En minusvalidez del desarrollo. *Pediatr Clin N Am* 1993;31:489-504.
28. **Task Force on Joint Assessment of Prenatal and Perinatal Factors Associated with Brain Disorders.** National Institutes of Health report on causes of mental retardation and cerebral palsy. Task Force on Joint Assessment of Prenatal and Perinatal Factors Associated with Brain Disorders. *Pediatrics* 1985;76:457-458.
29. **González C, Lima OP, Huesca J, González S, Sobrino M.** Aspectos epidemiológicos de la encefalopatía hipóxico-isquémica. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1985;42:541-550.

30. **Hagberg G, Hagberg B, Olow I.** The changing panorama of cerebral palsy in Sweden 1954–1970. III. The importance of foetal deprivation of supply. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:403-408.
31. **Sarnat HB, Sarnat MS.** Neonatal encephalopathy following fetal distress. *Arch Neurol* 1976;33:696-705.
32. **du Plessis AJ, Volpe JJ.** Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Curr Opin Neurol* 2002;15:151-157.
33. **Volpe JJ.** Brain injury in the premature infant--current concepts of pathogenesis and prevention. *Biol Neonate* 1992;62:231-242.
34. **Volpe JJ.** Brain injury in the premature infant--from pathogenesis to prevention. *Brain Dev* 1997;19:519-534.
35. **Srinivasan A, Goyal M, Al Azri F, Lum C.** State-of-the-art imaging of acute stroke. *Radiographics* 2006;26:s75-s95.
36. **Hill A, Volpe JJ.** Perinatal asphyxia: clinical aspects. *Clin Perinatol* 1989;16:435-457.
37. **Volpe JJ.** Brain injury in the premature infant. Neuropathology, clinical aspects, pathogenesis, and prevention. *Clin Perinatol* 1997;24:567-587.
38. **Eastwood JD, Lev MH, Wintermark M, Fitzek C, Barboriak DP, DeLong DM, Lee TY, Azhari T, Herzau M, Chilukuri VR, Provenzale JM.** Correlation of early dynamic CT perfusion imaging with whole-brain MR diffusion and perfusion imaging in acute hemispheric stroke. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003;24:1869-1875.
39. **Barkovich AJ, Raybaud C.** Pediatric Neuroimaging. 5th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
40. **Sie LT, van der Knap MS, van Wezel-Meijler G, Taets van Amerongen AH, Lafeber HN, Valk J.** Early MR features of hypoxic-ischemic brain injury in neonates with periventricular densities on sonograms. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;21:852-861.
41. **Apgar V.** A proposal for a new method of evaluation of newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953;32:260-267.
42. **Hübner ME, Juárez ME.** Test de Apgar. Después de medio siglo ¿sigue vigente? *Rev Méd Chile* 2002;130:925-930.
43. **Thorp JA, Rushing RS.** Umbilical cord blood gas analysis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1999;26:695-709.
44. **Goldenberg RL, Huddleston JF, Nelson KG.** Apgar scores and umbilical arterial pH in preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol* 1984;149:651-654.
45. **Catlin E, Carpenter MW, Brann BS 4th, Mayfield SR, Shaul PW, Goldstein M, Oh W.** The Apgar score revisited: influence of gestational age. *J Pediatr* 1986;109:865-868.
46. **Stark CF, Gibbs RS, Freedman WL.** Comparison of umbilical artery pH and 5-minute Apgar score in the low-birth-weight and very-low-birth-weight infant. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:818-823.

47. **Nelson KB, Ellenberg JH.** Apgar scores as predictors of chronic neurologic disability. *Pediatrics* 1981;68:36-44.
48. **Freeman JM, Nelson KB.** Intrapartum asphyxia and cerebral palsy. *Pediatrics* 1988;82:240-249.
49. **Committee on fetus and Newborn American Academy of Pediatrics, and Committee on Obstetric Practice, American College of Obstetricians and Gynecologists.** Use and abuse of the Apgar score. *Pediatrics* 1996;98:141-142.
50. **Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ.** The continuing value of the Apgar score for the assessment of newborn infants. *N Engl J Med* 2001;344:467-471.
51. **Papile LA.** The Apgar score in 21st century. *N Engl J Med* 2001;344:519-520.
52. **Hübner ME, Ramírez R, Muñoz H.** Asfixia neonatal evaluada a través del test de Apgar y pH de vena umbilical. *Rev Pediatr* 1991;34:166-170.
53. **Silverman F, Suidan J, Wasserman J, Antoine C, Young BK.** The Apgar score: is it enough? *Obstet Gynecol* 1985;66:331-336.
54. **Jackson JH, Beevor CE.** Case of tumor of the right temporo-sphenoidal lobe bearing on the localization of the sense of smell and on the interpretation of a particular variety of epilepsy. *Brain* 1890;12:346-357.
55. **Penfield W, Erickson TC.** Epilepsy and cerebral localization: a study of the mechanism, treatment, and prevention of epileptic seizures. Springfield, IL.: Charles C. Thomas; 1941.
56. **Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J.** The Hippocampus Book. New York: Oxford University Press; 2007.
57. **Brodal A.** Hippocampus and the sense of the smell. *Brain* 1947;70:179-222.
58. **Papez JW.** A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiatry* 1937;38:725-743.
59. **Croissant De Garengéot RJ.** Splanchnologie ou l'anatomie des viscères. 2nd ed. París: Osmont; 1742.
60. **Testut L, Latarjet A.** Tratado de Anatomía Humana. tomo II. Barcelona: Salvat Editores; 1960. pp:915-929.
61. **Netter FH.** The Ciba Collection of Medical Illustrations. Vol. 1: The nervous system; part 1: anatomy and physiology. Summit NJ: CIBA; 1986.
62. **Aranzi GC.** De humano foetu opusculum. Bologna: Rubrii; 1564.
63. **Schaffer K.** Beitrag zur Histologie der Ammonshornformation. *Arch Mikrosk Anat* 1892;39:611-632.
64. **Gray H.** Anatomy of the Human Body. 28th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1969.
65. **Canals M.** Historia de la resonancia magnética de Fourier a Lauterbur y Mansfield: En Ciencias, nadie sabe para quién trabaja. *Rev Chil Radiol* 2008;14:39-45.

66. **Jackson GD, Berkovic SF, Duncan JS, Connelly A.** Optimizing the diagnosis of hippocampal sclerosis using MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 1993;14:753-762.
67. **Kido DK, Tien RD, Lee B, Bahn MM.** Hippocampal pathology. *Neuroimaging Clin N Am* 1997;7:51-65.
68. **Soffia P.** Difusión por resonancia magnética: Bases y aplicaciones oncológicas en órganos extracraneanos. *Rev Chil Radiol* 2009;15:s17-s24.
69. **Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG.** Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology* 2000;217:331-345.
70. **Rutherford M, Counsell S, Allsop J, Boardman J, Kapellou O, Larkman D, Hajnal J, Edwards D, Cowan F.** Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in term perinatal brain injury: a comparison with site of lesion and time from birth. *Pediatrics* 2004;114:1004-1014.
71. **Volpe JJ.** Neonatal seizures: current concepts and revised classification. *Pediatrics* 1989;84:422-428.
72. **Bergamasco B, Benna P, Ferrero P, Gavinelli R.** Neonatal hypoxia and epileptic risk: a clinical prospective study. *Epilepsia* 1984;25: 131-136.
73. **Connell J, Oozeer R, de Vries L, Dubowitz LM, Dubowitz V.** Continuous EEG monitoring of neonatal seizures: diagnostic and prognostic considerations. *Arch Dis Child* 1989;64:452-458.
74. **Holmes GL, Kull LL.** Neonatal seizures. *Am J EEG Technol* 1990;30: 281-308.
75. **Crain BJ, Westerkam WD, Harrison AH, Nadler JV.** Selective neuronal death after transient forebrain ischemia in the Mongolian gerbil: a silver impregnation study. *Neuroscience* 1988;27:387-402.
76. **Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F.** Delayed hippocampal damage in humans following cardiopulmonary arrest. *Neurology* 1987;37:1281-1286.
77. **Jensen FE, Wang C, Stafstrom CE, Liu Z, Geary C, Stevens MC.** Acute and chronic increases in excitability in rat hippocampal slices after perinatal hypoxia in vivo. *J Neurophysiol* 1998;79:73-81.
78. **Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP.** Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology* 2008;55:310-318.
79. **Lipton P.** Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev* 1999;79:1431-1568.
80. **Touzani O, Roussel S, MacKenzie ET.** The ischaemic penumbra. *Curr Opin Neurol* 2001;14:83-88.
81. **Krnjevic K.** Electrophysiology of cerebral ischemia. *Neuropharmacology* 2008;55:319-333.
82. **Patel T.** Apoptosis in hepatic pathophysiology. *Clin Liver Dis* 2000;4:295-317.
83. **Yoon JH, Gores G.** Death receptor-mediated apoptosis and the liver. *J Hepatol* 2002;37:400-410.

84. **Kirino T.** Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* 1982;239:57-69.
85. **Dohi K, Shioda S, Mizushima H, Homma H, Ozawa H, Nakai Y, Matsumoto K.** Delayed neuronal cell death and microglial cell reactivity in the CA1 region of the rat hippocampus in the cardiac arrest model. *Med Electron Microsc* 1998;31: 85-93.
86. **Jiang JT, Sato S, Yamanaka N.** Changes in cerebral blood flow and blood brain barrier in the gerbil hippocampal CA1 region following repeated brief cerebral ischemia. *Med Electron Microsc* 1999;32:175-183.
87. **Chung Eh, Iwasaki K, Mishima K, Egashira N, Fujiwara M.** Repeated cerebral ischemia induced hippocampal cell death and impairments of spatial cognition in the rat. *Life Sci* 2002;72:609-619.
88. **Petito CK, Morgello S, Felix JC, Lesser ML.** The two patterns of reactive astrocytosis in postischemic rat brain. *J Cereb Blood Flow Meta* 1990;10:850-859.
89. **Ordy JM, Wengenack TM, Bialobok P, Coleman PD, Rodier P, Baggs RB, Dunlap WP, Kates B.** Selective vulnerability and early progression of hippocampal CA1 pyramidal cell degeneration and GFAP-positive astrocyte reactivity in the rat four-vessel occlusion model of transient global ischemia. *Exp Neurol* 1993;119:128-139.
90. **Niquet J, Ben-Ari Y, Represa A.** Glial reaction after seizure induced hippocampal lesion: immunohistochemical characterization of proliferating glial cells. *J Neurocytol* 1994;23:641-656.
91. **Kumar K, Evans AT.** Effect of hypothermia on microglial reaction in ischemic brain. *Neuroreport* 1997;8:947-950.
92. **Martinez G, Carnazza ML, Di Giacomo C, Sorrenti V, Avitabile M, Vanella A.** GFAP, S-100 and vimentin proteins in rat after cerebral post-ischemic reperfusion. *Int J Dev Neurosci* 1998;16:519-526.
93. **Mochizuki R, Takeda A, Sato N, Kimpara T, Onodera H, Itoyama Y, Muramatsu T.** Induction of midkine expression in reactive astrocytes following rat transient forebrain ischemia. *Exp Neurol* 1998;149:73-78.
94. **Soltys Z, Orzylowska-Sliwinska O, Zaremba M, Orlowski D, Piechota M, Fiedorowicz A, Janeczko K, Oderfeld-Nowak B.** Quantitative morphological study of microglial cells in the ischemic rat brain using principal component analysis. *J Neurosci Methods* 2005;146:50-60.
95. **Eda H, Sato S, Sasaki Y, Adachi A, Ghazizadeh M.** Ischemic damage and Subsequent proliferation of oligodendrocytes in hippocampal CA1 region following repeated brief cerebral ischemia. *Pathobiology* 2009;76:204-211.
96. **Anderova M, Vorisek I, Pivonkova H, Benesova J, Vargova L, Cicanic M, Chvatal A, Sykova E.** Cell death/proliferation and alterations in glial morphology contribute to changes in diffusivity in the rat hippocampus after hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011;31:894-907.

97. **Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM.** Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* 1978;121:2228-2234.
98. **Bravo R, Fey SJ, Bellatin J, Larsen PM, Arevalo J, Celis JE.** Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportions are sensitive to changes in the rate of cell proliferation. *Exp Cell Res* 1981;136:311-319.
99. **Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR Jr, Garrel JI.** Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 1984;309:374-376.
100. **Takasaki Y, Deng JS, Tan EM.** A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation. *J Exp Med* 1981;154:1899-1909.
101. **Celis JE, Celis A.** Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:3262-3266.
102. **Bravo R, Macdonald-Bravo H.** Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication. *EMBO J* 1985;4:655-661.
103. **Altman J, Das GD.** Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965;124:319-335.
104. **Kornack DR, Rakic P.** Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5768-5773.
105. **Gould E, Reeves AJ, Fallah M, Tanapat P, Gross CG, Fuchs E.** Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5263-5267.
106. **Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH.** More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997;386:493-495.
107. **Amrein I, Dechmann DK, Winter Y, Lipp HP.** Absent or low rate of adult neurogenesis in the hippocampus of bats (Chiroptera). *PLoS ONE* 2007;2:e455.
108. **Jessberger S, Kempermann G.** Adult-born hippocampal neurons mature into activity-dependent responsiveness. *Eur J Neurosci* 2003;18:2707-2712.
109. **Schinder AF, Gage FH.** A hypothesis about the role of adult neurogenesis in hippocampal function. *Physiology (Bethesda)* 2004;19:253-261.
110. **Kumar DU, Devaraj H.** Expression of Wnt 3a, β -catenin, cyclin D1 and PCNA in mouse dentate gyrus subgranular zone (SGZ): a possible role of Wnt pathway in SGZ neural stem cell proliferation. *Folia Biol (Praha)* 2012;58:115-120.
111. **Knoth R, Singec I, Ditter M, Pantazis G, Capetian P, Meyer RP, Horvat V, Volk B, Kempermann G.** Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. *PLoS One* 2010;5:e8809. doi:10.1371.
112. **Kenneth NS, Rocha S.** Regulation of gene expression by hypoxia. *Biochem J* 2008;414:19-29.
113. **Moniz S, Biddlestone J, Rocha S.** Grow2: The HIF system, energy homeostasis and the cell cycle. *Histol Histopathol* 2014;29:589-600.

114. **Semenza GL, Wang GL.** A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12:5447-5454.
115. **Wang GL, Jiang BH, Rue EA Semenza GL.** Hypoxia inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92, 5510-5514.
116. **Carroll VA, Ashcroft M.** Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha versus HIF-2alpha in the regulation of HIF target genes in response to hypoxia, insulin-like growth factor-I, or loss of von Hippel-Lindau function: implications for targeting the HIF pathway. *Cancer Res* 2006;66:6264-6270.
117. **Hu CJ, Iyer S, Sataur A, Covelto KL, Chodosh LA, Simon MC.** Differential regulation of the transcriptional activities of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1alpha) and HIF-2alpha in stem cells. *Mol Cell Biol* 2006;26:3514-3526.
118. **Patel SA, Simon MC.** Biology of hypoxia-inducible factor-2 alpha in development and disease. *Cell Death Differ* 2008;15:628-634.
119. **Pugh CW, Tan CC, Jones RW, Ratcliffe PJ.** Functional analysis of an oxygen-regulated transcriptional enhancer lying 3' to the mouse erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10553-10557.
120. **Semenza GL, Jiang BH, Leung SW, Passantino R, Concordet JP, Maire P, Giallongo A.** Hypoxia response elements in the aldolase a, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1996;271:32529-32537.
121. **Kaelin WG Jr, Ratcliffe PJ.** Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell* 2008;30:393-402,.
122. **Semenza G.** Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Pharmacol* 2002;64:993-998.
123. **Dachs GU, Tozer GM.** Hypoxia modulated gene expression: angiogenesis, metastasis and therapeutic exploitation. *Eur J Cancer* 2000;36:1649-1660.
124. **Poon RT, Fan ST, Wong J.** Clinical implications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *J Clin Oncol* 2001;19:1207-1225.
125. **Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Worren T, Feder J, Connolly DT.** Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989;246:1039-1312.
126. **Conn G, Bayne ML, Soderman DD, Kwok PW, Sullivan KA, Palisi TM, Hope DA, Thomas KA.** Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:2628-2632.
127. **Muller YA, Christinger HW, Keyt BA, de Vos AM.** The crystal structure of vascular endothelial growth factor (VEGF) refined to 1.93Å resolution: multiple copy flexibility and receptor binding. *Structure* 1997;5:1325-1338.

128. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, Powell-Braxton L, Hillan KJ, Moore MW. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996;380:439-442.
129. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fahrig M, Vandenhoeck A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Moons L, Collen D, Risau W, Nagy A. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380:435-439.
130. Gerbe HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med* 1999;5:623-628.
131. Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, Gerber HP, Kikkawa Y, Miner JH, Quaggin SE. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003;111:707-716.
132. Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, Kowalski J, Keller GA, Rangell L, Wright BD, Radtke F, Aguet M, Ferrara N. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development* 1999;126:1149-1159.
133. Ryan AM, Eppler DB, Hagler KE, Bruner RH, Thomford PJ, Hall RL, Shopp GM, O'Neill CA. Preclinical safety evaluation of rhuMAbVEGF, an antiangiogenic humanized monoclonal antibody. *Toxicol Pathol* 1999;27:78-86.
134. Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D, Chisholm V, Hillan KJ, Schwall RH. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med* 1998;4:336-340.
135. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-676.
136. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002;200:581-597.
137. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989;246:1306-1309.
138. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, Granger HJ. VEGF upregulates eNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *Am J Physiol* 1998;274:H1054-1058.
139. Kroll J, Waltenberger J. A novel function of VEGF receptor-2 (KDR): rapid release of nitric oxide in response to VEGF-A stimulation in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:636-699.
140. Benjamin LE, Keshet E. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8761-8766.

141. **Gerber HP, Dixit V, Ferrara N.** Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998;273:13313-13316.
142. **Storkebaum E, Lambrechts D, Carmeliet P.** VEGF: once regarded as a specific angiogenic factor, now implicated in neuroprotection. *Bioessays* 2004;26:943-954.
143. **Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R.** Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor-1 in microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:902-906.
144. **Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, Amento EP.** Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1992;153:557-562.
145. **Mandriota SJ, Seghezzi G, Vassalli JD, Ferrara N, Wasi S, Mazziere R, Mignatti P, Pepper MS.** Vascular endothelial growth factor increases urokinase receptor expression in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1995;270:9709-9716.
146. **Hannun YA, Obeid LM.** Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:139-150.
147. **An S, Bleu T, Huang W, Hallmark OG, Coughlin SR, Goetzl EJ.** Identification of cDNAs encoding two G protein-coupled receptors for lysosphingolipids. *FEBS Lett* 1997;417:279-282.
148. **Yamazaki Y, Kon J, Sato K, Tomura H, Sato M, Yoneya T, Okazaki H, Okajima F, Ohta H.** Edg-6 as a putative sphingosine 1-phosphate receptor coupling to Ca²⁺ signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;268:583-589.
149. **Van Brocklyn JR, Graler MH, Bernhardt G, Hobson JP, Lipp M, Spiegel S.** Sphingosine-1-phosphate is a ligand for the G protein-coupled receptor EDG-6. *Blood* 2000;95:2624-2629.
150. **Im DS, Heise CE, Ancellin N, O'Dowd BF, Shei -j, Heavens RP, Rigby MR, Hla T, Mandala S, McAllister G, George SR, Lynch KR.** Characterization of a novel sphingosine 1-phosphate receptor, Edg-8. *J Biol Chem* 2000;275:14281-14286.
151. **Lee MJ, Van Brocklyn JR, Thangada S, Liu CH, Hand AR, Menzeleev R, Spiegel S, Hla T.** Sphingosine-1-phosphate as a ligand for the G protein coupled receptor EDG-1. *Science* 1998;279:1552-1555.
152. **Gräler MH, Bernhardt G, Lipp M.** EDG6, a novel G-protein-coupled receptor related to receptors for bioactive lysophospholipids, is specifically expressed in lymphoid tissue. *Genomics* 1998;53:164-169.
153. **Glickman M, Malek RL, Kwitek-Black AE, Jacob HJ, Lee NH.** Molecular cloning, tissue-specific expression, and chromosomal localization of a novel nerve growth factor-regulated G-protein-coupled receptor, nrg-1. *Mol Cell Neurosci* 1999;14:141-152.
154. **Ishii I, Friedman B, Ye X, Kawamura S, McGiffert C, Contos JJ, Kingsbury MA, Zhang G, Brown JH, Chun J.** Selective loss of sphingosine 1-phosphate signaling with no obvious

- phenotypic abnormality in mice lacking its G protein-coupled receptor, LP(B3)/EDG-3. *J Biol Chem* 2001;276:33697-33704.
155. Mizugishi K, Yamashita T, Olivera A, Miller GF, Spiegel S, Proia RL. Essential role for sphingosine kinases in neural and vascular development. *Mol Cell Biol* 2005;25:11113-11121.
 156. Humeau Y, Popoff MR, Kojima H, Doussau F, Poulain B.. Rac GTPase plays an essential role in exocytosis by controlling the fusion competence of release sites. *J Neurosci* 2002;22:7968-7981.
 157. Kinnally KW, Antonsson B. A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP, in apoptosis. *Apoptosis* 2007;12:857-868.
 158. Bartke N, Hannun YA. Bioactive sphingolipids: metabolism and function. *J Lipid Res* 2009;50:s91-s96.
 159. Ravizza T, Noe F, Zardoni D, Vaghi V, Sifringer M, Vezzani A. Interleukin converting enzyme inhibition impairs kindling epileptogenesis in rats by blocking astrocytic IL-1beta production. *Neurobiol Dis* 2008;31:327-333.
 160. Alonso-Nanclares L, DeFelipe J. Alterations of the microvascular network in the sclerotic hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav* 2014. [Epub ahead of print].
 161. Yang T, Zhou D, Stefan H. Why mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis is progressive: uncontrolled inflammation drives disease progression? *J Neurol Sci* 2010;296:1-6.
 162. Pitkänen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal lobe epilepsy. *Lancet Neurol* 2002;1:173-81.
 163. Bratz E. Ammonshorn befunde bei Epileptikern. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1899;31:820-835.
 164. Rigau V, Morin M, Rousset MC, de Bock F, Lebrun A, Coubes P, Picot MC, Baldy-Moulinier M, Bockaert J, Crespel A, Lerner-Natoli M. Angiogenesis is associated with blood-brain barrier permeability in temporal lobe epilepsy. *Brain* 2007;130:1942-1956.
 165. Morin-Brureau M, Lebrun A, Rousset MC, Fagni L, Bockaert J, de Bock F, Lerner-Natoli M. Epileptiform activity induces vascular remodeling and zonula occludens 1 downregulation in organotypic hippocampal cultures: role of VEGF signaling pathways. *J Neurosci* 2011;31:10677-10688.
 166. Morin-Brureau M, Rigau V, Lerner-Natoli M. Why and how to target angiogenesis in focal epilepsies. *Epilepsia* 2012;53:s64-s68.
 167. Pitkanen A, Lukasiuk K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2009;14:s16-s25.
 168. Kastanauskaite A, Alonso-Nanclares L, Blazquez-Llorca L, Pastor J, Sola RG, DeFelipe J. Alterations of the microvascular network in sclerotic hippocampi from patients with epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:939-950.

169. Whyte MP, Mahuren JD, Fedde KN, Cole FS, McCabe ER, Coburn SP. Perinatal hypophosphatasia: tissue levels of vitamin B6 are unremarkable despite markedly increased circulating concentrations of pyridoxal-5'-phosphate. Evidence for an ectoenzyme role for tissue-nonspecific alkaline phosphatase. *J Clin Invest* 1988;81:1234-1239.
170. Waymire KG, Mahuren JD, Jaje JM, Guilarte TR, Coburn SP, MacGregor GR. Mice lacking tissue non-specific alkaline phosphatase die from seizures due to defective metabolism of vitamin B-6. *Nat Genet* 1995;11:45-51.
171. Narisawa S, Froehlander N, Millan JL. Inactivation of two mouse alkaline phosphatase genes and establishment of a model of infantile hypophosphatasia. *Dev Dyn* 1997;208:432-446.
172. Narisawa S, Wennberg C, Millan JL. Abnormal vitamin B 6 metabolism in alkaline phosphatase knock-out mice causes multiple abnormalities, but not the impaired bone mineralization. *J Pathol* 2001;193:125-133.
173. Nunes ML, Mugnol F, Bica I, Fiori RM. Pyridoxine-dependent seizures associated with hypophosphatasia in a newborn. *J Child Neurol* 2002;17:222-224.
174. Calhau C, Hipolito-Reis C, Azevedo I. Alkaline phosphatase and exchange surfaces. *Clin Biochem* 1999;32:153-154.
175. Mueller SG, Weiner MW. Selective effect of age, Apo E4, and Alzheimer's disease on hippocampal subfields. *Hippocampus* 2009;19:558-564.
176. Small SA, Schobel SA, Buxton RB, Witter MP, Barnes CA. A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. *Nat Rev Neurosci* 2011;12:585-601.
177. Rempel-Clower NL, Zola SM, Squire LR, Amaral DG. Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *J Neurosci* 1996;16:5233-5255.
178. Zola SM, Squire LR, Teng E, Stefanacci L, Buffalo EA, Clark RE. Impaired recognition memory in monkeys after damage limited to the hippocampal region. *J Neurosci* 2000;20:451-463.
179. Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW Jr, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1996;16:4491-4500.
180. Thal DR, Rub U, Orantes M, Braak H. Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 2002;58:1791-1800.
181. Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Del Tredici K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol* 2006;112:389-404.
182. West MJ, Coleman PD, Flood DG, Troncoso JC. Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease. *Lancet* 1994;344:769-772.

183. **Schwarcz R, Witter MP.** Memory impairment in temporal lobe epilepsy: the role of entorhinal lesions. *Epilepsy Res* 2002;50:161-177.
184. **Moldovan GL, Pfander B, Jentsch S.** PCNA, the maestro of the replication fork. *Cell* 2007;129:665-679.
185. **Hermann A, Maisel M, Liebau S, Gerlach M, Kleger A, Schwarz J, Kim KS, Antoniadis G, Lerche H, Storch A.** Mesodermal cell types induce neurogenesis from adult human hippocampal progenitor cells. *J Neurochem* 2006;98:629-640.
186. **Elder GA, De Gasperi R, Gama Sosa MA.** Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders. *Mt Sinai J Med* 2006;73:931-40.
187. **Reif A, Schmitt A, Fritzen S, Chourbaji S, Bartsch C, Urani A, Wycislo M, Mössner R, Sommer C, Gass P, Lesch KP.** Differential effect of endothelial nitric oxide synthase (NOS-III) on the regulation of adult neurogenesis and behaviour. *Eur J Neurosci* 2004;20:885-895.
188. **Kim SH, Won SJ, Mao XO, Ledent C, Jin K, Greenberg DA.** Role for neuronal nitric oxide synthase in cannabinoid-induced neurogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:150-154.
189. **Zhu DY, Liu SH, Sun HS, Lu YM.** Expression of inducible nitric oxide synthase after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult rodent dentate gyrus. *J Neurosci* 2003;23:223-229.
190. **Vieira HL, Alves PM, Vercelli A.** Modulation of neuronal stem cell differentiation by hypoxia and reactive oxygen species. *Prog Neurobiol* 2011;93:444-455.
191. **Varela-Nallar L, Rojas-Abalos M, Abbott AC, Moya EA, Iturriaga R, Inestrosa NC.** Chronic hypoxia induces the activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway and stimulates hippocampal neurogenesis in wild-type and APP^{swe}-PS1 Δ E9 transgenic mice in vivo. *Front Cell Neurosci* 2014;8:17. doi: 10.3389/fncel.2014.00017.
192. **van den Tweel ER, Kavelaars A, Lombardi MS, Nijboer CH, Groenendaal F, van Bel F, Heijnen CJ.** Bilateral molecular changes in a neonatal rat model of unilateral hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatr Res* 2006;59:434-439.
193. **Bergeron M, Ferriero DM, Vreman HJ, Stevenson DK, Sharp FR.** Hypoxia-ischemia, but not hypoxia alone, induces the expression of heme oxygenase-1 (HSP32) in newborn rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:647-658.
194. **Kaur C, Sivakumar V, Lu J, Tang FR, Ling EA.** Melatonin attenuates hypoxia-induced ultrastructural changes and increased vascular permeability in the developing hippocampus. *Brain Pathol* 2008;18:533-547.
195. **Feast A, Martinian L, Liu J, Catarino CB, Thom M, Sisodiya SM.** Investigation of hypoxia-inducible factor-1 α in hippocampal sclerosis: a postmortem study. *Epilepsia* 2012;53:1349-1359.
196. **Le Stunff H, Milstien S, Spiegel S.** Generation and metabolism of bioactive sphingosine-1-phosphate. *J Cell Biochem* 2004;92:882-899.

197. Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M. Induction of HIF-1alpha in response to hypoxia is instantaneous. *FASEB J* 2001;15:1312-1314.
198. Moroz E, Carlin S, Dyomina K, Burke S, Thaler HT, Blasberg R, Serganova I. Real-time imaging of HIF-1alpha stabilization and degradation. *PLoS One* 2009;4:e5077.
199. Fan X, Heijnen CJ, van der Kooij MA, Groenendaal F, van Bel F. The role and regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha expression in brain development and neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Brain Res Rev* 2009;62:99-108.
200. Ratan RR, Siddiq A, Smirnova N, Karpisheva K, Haskew-Layton R, McConoughey S, Langley B, Estevez A, Huerta PT, Volpe B, Roy S, Sen CK, Gazaryan I, Cho S, Fink M, LaManna J. Harnessing hypoxic adaptation to prevent, treat, and repair stroke. *J Mol Med* 2007;85:1331-1338.
201. Ara J, Fekete S, Frank M, Golden JA, Pleasure D, Valencia I. Hypoxic-preconditioning induces neuroprotection against hypoxiaischemia in newborn piglet brain. *Neurobiol Dis* 2011;43:473-485.
202. Zhang L, Qu Y, Yang C, Tang J, Zhang X, Mao M, Mu D, Ferriero D. Signaling pathway involved in hypoxia-inducible factor-1alpha regulation in hypoxic-ischemic cortical neurons in vitro. *Neurosci Lett* 2009;461:1-6.
203. Nicoletti JN, Shah SK, McCloskey DP, Goodman JH, Elkady A, Atassi H, Hylton D, Rudge JS, Scharfman HE, Croll SD. Vascular endothelial growth factor is up-regulated after status epilepticus and protects against seizure-induced neuronal loss in hippocampus. *Neuroscience* 2008;151:232-241.
204. Murray CJ, Lopez AD, Jamison DT. The global burden of disease in1990: summary results, sensitivity analysis and future directions. *Bull World Health Organ* 1994;72:495-509.
205. Rizzuto R, Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca²⁺: molecular determinants and functional consequences. *Physiol Rev* 2006;86:369-408.
206. Halestrap AP, Doran E, Gillespie JP, O'Toole A. Mitochondria and cell death. *Biochem Soc Trans* 2000;28:170-177.
207. Agudo López A. Efecto neuroprotector de la ceramida y de la esfingosina 1-fosfato en la muerte inducida por isquemia. Madrid: UCM, Tesis doctoral, 2010.
208. Malaplate-Armand C, Florent-Bechard S, Youssef I, Koziel V, Sponne I, Kriem B, Leininger-Muller B, Olivier JL, Oster T, Pillot T. Soluble oligomers of amyloid-beta peptide induce neuronal apoptosis by activating a cPLA2-dependent sphingomyelinase-ceramide pathway. *Neurobiol Dis* 2006;23:178-189.
209. Kajimoto T, Okada T, Yu H, Goparaju SK, Jahangeer S, Nakamura S. Involvement of sphingosine-1-phosphate in glutamate secretion in hippocampal neurons. *Mol Cell Biol* 2007;27:3429-3440.
210. Kanno T, Nishizaki T, Proia RL, Kajimoto T, Jahangeer S, Okada T, Nakamura S. Regulation of synaptic strength by sphingosine 1-phosphate in the hippocampus. *Neuroscience* 2010;171:973-980.

211. **Couttas TA, Kain N, Daniels B, Lim XY, Shepherd C, Kril J, Pickford R, Li H, Garner B, Don AS.** Loss of the neuroprotective factor Sphingosine 1-phosphate early in Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol Commun* 2014;2:9. doi: 10.1186/2051-5960-2-9
212. **Qin J, Berdyshev E, Goya J, Natarajan V, Dawson G.** Neurons and oligodendrocytes recycle sphingosine 1-phosphate to ceramide. Significance for apoptosis and multiple sclerosis. *J Biol Chem* 2010;285:14134-14143.