

# Malformacions cerebrals induïdes per radiacions

Joan Santamaria Cano

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**MALFORMACIONS CEREBRALS  
INDUIDES PER RADIACIÓ**

**TESI PER ACCEDIR AL GRAU DE DOCTOR  
PER LA FACULTAT DE MEDICINA  
UNIVERSITAT DE BARCELONA**

**Presentada per  
JOAN SANTAMARIA I CANO**



UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA  
CATEDRA DE ANATOMIA PATOLOGICA  
Prof. Dr. A. CARDESA

Casanova, 143  
Tel. 254 68 18  
BARCELONA-36



Isidre Ferrer Abizanda, Metge Adjunt a càrrec de la Secció de Neuropatologia de l'Hospital de Bellvitge i Professor Adjunt de la Facultat de Medicina de Barcelona en la Càtedra d'Anatomia Patològica.

CERTIFICA: que la tesi "Malformacions cerebrals induïdes per radiacions", que presenta En Joan Santamaria i Cano per optar al grau de Doctor en Medicina i Cirurgia, ha estat realitzada sota la meua direcció i es troba en condicions d'ésser llegida.

Barcelona, 30 de maig de 1984

*A la Maria*  
*Als meus pares*



## AGRAIMENTS

Sense l'incansable iniciativa investigadora i professionalitat del Dr. Isidre Ferrer, neuropatòleg a l'Hospital de Bellvitge i Professor adjunt a la Càtedra d'Anatomia Patològica de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona, aquesta tesi no hauria estat possible. Agraïm també al Dr. Enrique Cañadas, Cap del Departament d' Anatomia Patològica de l'Hospital de Bellvitge el no haver posat obstacle al desenvolupament d'aquest treball.

A les físiques Ma. Cruz Lizuain i Concepción Cinos del Servei de Radioteràpia de l'Hospital de Bellvitge, per la seva col.laboració en l'administració de les radiacions.

Al Professor Dr. Antonio Cardesa, Catedràtic i Cap del Departament d'Anatomia Patològica de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona que em va facilitar la col.laboració del seu departament, imprescindible per a l'acabament d'aquest treball. Així mateix he d'agrair als membres del seu departament que m'han acollit sense reserves i especialment a la Dra. Teresa Ribalta i Dr. Josep Ramírez, que han col.laborat desinteressadament en la realització de les exposicions fotogràfiques.

Als membres del Servei de Neurologia de l'Hospital Clínic de Barcelona que m'han animat a la realització d'aquest treball i especialment al Dr. Eduard Tolosa, Cap del Servei, per haver facilitat en gran part la finalització d'aquesta tesi.

Als meus amics, els neuròlegs Francesc Graus i David Genís, pel seu suport i llurs ensenyances i al Dr. Roman Pallarés que m'ha encoratjat sense descans.

Finalment agraeixo a Oscar Marquina el seu ajut desinteressat en algunes tècniques fotogràfiques, a Manuel Balasch per la correcció del català i a Mercè Pinyol que tantes hores, interès i habilitat professional ha dedicat en la realització gràfica d'aquesta tesi.

## ÍNDEX

## INDEX

INTRODUCCIÓ .....	10
I. Estructura del còrtex cerebral normal .....	11
a) Capes bàsiques	
b) Organització horitzontal	
c) Organització vertical o columnar	
II. Desenvolupament del neocòrtex .....	16
a) Fase inicial: tub neural	
b) Formació de les zones embrionàries bàsiques	
c) Formació del neocòrtex en la rata	
c.1. Capa plexiforme primordial	
c.2. Placa cortical	
c.3. Capes ventricular i intermèdia	
d) Formació del neocòrtex en l'home	
e) Etapa postnatal	
f) Origen postnatal d'algunes neurones	
III. Migració neuronal en el neocòrtex .....	30
IV. Desenvolupament i migració en l'hipocamp i nuclis basals .....	35
a) Hipocamp	
1. Desenvolupament	
2. Gradients de migració	
b) Estriat	
1. Desenvolupament	
2. Estructura	
3. Tipus cel.lulars	
4. Migració	
c) Globus pàlid	
Origen i desenvolupament	

d) Tàlem	
1. Desenvolupament	
2. Gradients de formació	
3. Divisió citogenètica	
V. Models d'alteració de la migració neuronal .....	49
a) Mutació "reeler"	
b) Alteracions induïdes	
1. Metilazoxymetanol (MAM)	
2. Arabinòsid de citosina	
3. 6-OH-dopamina	
4. Metil mercuri	
5. Congelació per contacte	
6. Radiacions ionitzants	
1. Introducció	
2. Radiosensibilitat de les cèl.lules en formació	
– Dosis administrada	
– Característiques de la cèl.lula	
3. Canvis precoços en el pali després de la irradiació	
4. Mecanisme d'acció de les radiacions ionitzants	
5. Malformacions en el SNC per radiacions	
OBJECTIUS .....	69
MATERIAL I MÈTODES .....	71
RESULTATS .....	74
I. Estudis amb hematoxilina & eosina .....	75
A. Canvis morfològics en el neocòrtex i l'hipocamp	
1. Animals irradiats en el dia embrionari 14	
Examen els dies ED 16 i ED 18	
Examen el dia ED 22	
Examen el dia PD 5	
Examen el dia PD 12	
Examen el dia PD 20	

- 2. Animals irradiats en el dia embrionari 16
  - Examen el dia PD 7
  - Examen el dia PD 13 i PD 20
  - Examen el PD 45
- 3. Animals irradiats en el dia embrionari 18
  - Examen el dia PD 5
  - Examen el dia PD 12
  - Examen el dia PD 20
  - Examen el dia PD 45
- B. Masses ectòpiques subcorticals
  - 1. Animals irradiats en el dia embrionari 14
    - Examen el dia ED 22
    - Examen el dia PD 5
- II. Estudi amb Mètode de Golgi..... 123
  - 1. Animals irradiats en el dia embrionari 14
    - Examen el dia ED 22
    - Examen el dia PD 3 i PD 5
    - Examen en dia PD 22 i PD 45
  - 2. Animals irradiats en el dia embrionari 16
    - Examen en PD 45
  - 3. Animals irradiats en el dia embrionari 18
    - Examen en el dia PD 45
- III. Estudi autoradiogràfic amb timidina tritiada.....233
  - a) RX 14 Injecció de timidina tritiada en ED 16, ED 17 i ED 19
  - b) RX 16 Injecció de timidina tritiada en ED 16, ED 17-18 i ED 20
  - c) RX 18 Injecció de timidina tritiada en ED 16, ED 17 i ED 19
- DISCUSSIÓ..... 238
  - A. Alteracions en el neocòrtex
    - RX ED 14
    - RX ED 16
    - RX ED 18

- B. Alteracions en l'hipocamp
- C. Masses ectòpiques subcorticals. Desenvolupament
- D. Masses ectòpiques subcorticals. Tipus cel.lulars, contactes i organització
- E. Comparació amb la patologia humana

CONCLUSIONS ..... 260

BIBLIOGRAFIA..... 266

## INTRODUCCIÓ

## INTRODUCCIÓ

Durant la formació del sistema nerviós central (SNC) tenen lloc processos de proliferació, migració, diferenciació i ordenació de milions de cèl·lules en estructures anatòmiques i funcionals complexes. La naturalesa d'aquests fenòmens roman en molta part desconeguda però se sap que la seva alteració és responsable d'un seguit d'anomalies malformatives amb repercussions funcionals variables.

La causa per la qual es produeix una malformació no es pot determinar si no se sap quin és el desenvolupament normal de l'òrgan que la malaltia altera. Una manera d'obtenir aquest coneixement és estudiar les característiques de les alteracions quan apareixen espontàniament en l'home, però tan útil com això és intentar reproduir-les experimentalment en altres animals o observar en aquests la seqüència detallada de la formació normal de l'òrgan en qüestió.

La migració neuronal és una de les característiques comunes a totes les regions del SNC en formació. En efecte, milers de neurones immadures es desplacen distàncies considerables des de llurs llocs d'origen en els epitelis germinals fins a llurs punts definitius de destí.

Quin és el mecanisme d'aquesta migració i com i perquè s'altera són preguntes de les quals no es coneixen més que alguns aspectes parcials.

Les radiacions ionitzants, quan s'administren en dates determinades de la neurogènesi, provoquen alteracions característiques en la proliferació, migració i ordenació de les neurones de determinades regions del cervell en formació, i per tant, l'estudi d'aquestes alteracions pot ajudar a la millor comprensió dels fenòmens citats. En afectar les radiacions el neocòrtex i l'hipocamp sobre tot, i en produir masses de neurones ectòpiques subcorticals, vora el ventricle i els nuclis basals, és interessant conèixer les característiques del desenvolupament en aquestes parts del SNC per a poder comparar-les amb les que es troben experimentalment. Una revisió dels mecanismes migratoris en aquestes regions i de les alteracions que s'observen en els mateixos tot administrant diversos agents físics o químics completaran aquesta introducció.



## I. ESTRUCTURA DEL CÒRTEX CEREBRAL NORMAL

El còrtex cerebral és una complexa construcció neuronal i glial que al llarg de l'escala filogenètica s'ha anat modelant i adquirint formes diverses. En els vertebrats inferiors, per sota dels rèptils, no hi ha escorça definida i el cervell consisteix en diverses subdivisions cadascuna de les quals està relacionada amb un tipus d'aferència sensorial —olfactòria, visual, laberíntica o visceral— i amb els centres motors separatament situats en la part ventral de cada subdivisió. En els rèptils moderns es comencen a acumular neurones en la superfície, insinuant el còrtex, però constituint una sola capa de cèl.lules. En els mamífers el sistema olfatori perd l'enorme importància que té en els vertebrats inferiors i els impulsos sensorials, després de fer escala en el tàlem, arriben a l'escorça cerebral, la qual està ja ben desenvolupada, distingint-se una paret medial o hipocamp (arquicòrtex), una paret lateral o àrea piriforme (paleocòrtex) i una paret dorsal o neocòrtex, la d'aparició més recent i la que ha estat més estudiada per la seva importància en l'home (Diamond i Hall 1969; Crosby et al 1982).

El neocòrtex consisteix en milers de milions de neurones que s'interconnecten entre si i amb les estructures subcorticals mitjançant processos aferents i eferents de longitud variable. Tradicionalment el neocòrtex ha estat dividit en capes horitzontals de sis a deu, i nombroses àrees citoarquitectòniques, però amb algunes modificacions totes les regions poden col·locar-se en un esquema general de sis capes quan s'examina en preparacions per cèl.lules nervioses (Ramón y Cajal 1891, 1899, 1900, a, b, c, 1911; Lorente de Nó 1922, 1933, 1934, 1938; Conel 1939-1963; Caviness i Williams 1979; Brodal 1981).

Aquestes sis capes bàsiques són les següents:

### A. Capes bàsiques

I. Capa molecular o zonal, immediatament per sota de la piamater; rica en fibres però pobre en cèl.lules: les petites cèl.lules horitzontals de Cajal o de Cajal-Retzius, orientades amb el seu eix major paral·lel a la superfície del còrtex. Les fibres formen un plexe tangencial molt dens (Barón-Maldonado 1976). La funció d'aquesta capa es desconeix.

II. Capa granular externa constituïda per petites cèl.lules densament empaquetades, algunes piramidals, altres rodones o estrellades. Les cèl.lules piramidals tant en aquesta capa com en les altres tenen llurs àpex dirigits cap a la superfície.

III Capa piramidal (externa) formada principalment per cèl.lules piramidals de dimensió mitja, les més grans de les quals es troben en les parts més profundes de la capa.

IV Capa granular interna, integrada per petites cèl.lules, molt juntes, amb forma d'estel la majoria, i piramidal la resta. Les cèl.lules estrellades de la capa IV i les piràmides de la part inferior de la capa III son els llocs d'arribada principals de les aferències tàlem-corticals (Jones 1981). Les cèl.lules piramidals de les capes II i III son les cèl.lules de destí així com d'origen dels sistemes axonals cortico-corticals aferents i eferents.

V. Capa glanglionar o piramidal interna, composta principalment per cèl.lules piramidals, la major part de la dimensió mitja o gran, amb llargues dentrites apicals dirigides cap a la superfície i amb un nombre important de dentrites basals. Les cèl.lules de les capes V i VI donen origen als sistemes eferents subcorticals (Jacobson et al 1975).

VI. Capa multiforme on es troben principalment cèl.lules amb forma de fus. Clàssicament es reconeixen dues parts, una més externa o capa VI a, més prima i rica en elements neuronals de tipus polimorf i piramidal de dimensió mitja, i una més interna o capa VI b (capa VII per alguns autors com Marín-Padilla, 1978) més ampla, rica en fibres i fusionant-se amb la substància blanca en molts llocs, i amb escassos elements neuronals de tipus polimorf gros i piramidal mitjà.

## B. Organització horitzontal

Encara que la presència de làmines és coneguda des de mitjan segle passat, el seu significat no s'ha pogut començar a aclarir fins els darrers anys. Diversos mètodes com el marcatge dels axons amb aminoàcids o sucres tritiats o els estudis de

degeneració axonal, han permès identificar l'origen de les aferències i eferències del còrtex cerebral (Jacobson et al 1974, 1975; Gilbert et al 1975; Lund et al 1975; Le Vay et al 1976; Swadlow et al 1981; Lund 1981; Jones 1981). Sobre aquesta base es pot dividir l'escorça en tres parts: un terç superior, un terç mig i un terç inferior. (Caviness et al 1979).

— El terç superior del còrtex és d'associació. Les capes II i III emeten i reben les fibres d'associació cortico-corticals ipsilaterals i contralaterals (o calloses). Les fibres cortico-corticals curtes s'originen en la capa II, mentre que les cortico-corticals llargues i les calloses ho fan majoritàriament en la capa III. Fora dels primats aquesta segregació no és tan perfecta i, per exemple, en la rata, les fibres calloses s'originen també en les capes V i VI (Jacobson et al 1975; Wise et al 1976; Swadlow et al 1981).

— El terç mig es la part de recepció de les aferències talàmiques. Segons Lorente de Nó (1938) poden dividir-se en dos tipus, d'acord amb la manera d'arboritzar-se en el còrtex: específiques, que es troben densament agragades en les capes IV i III i inespecífiques, que es dispersen al llarg de totes les capes del còrtex, en especial la I i VI. Les aferències específiques, provinents dels nuclis de relleu sensorials s'accepta unànimement que acaben en la capa IV i part inferior de la III del còrtex sensitiu (Jacobson et al 1975; Jones et al 1976). Aquest fet no vol dir que les cèl.lules granuloses de la capa IV siguin les úniques receptores sinó que, tal com ja suggeria Lorente de Nó (1934) i altres han corroborat (White 1979, 1981; Jones 1981), s'estableixen contactes amb les dendrites apicals i basals de totes les cèl.lules de les capes III a VI quan travessen la capa IV. Pel que fa a les aferències inespecífiques hi ha un grau major de confusió, probablement degut al fet que es considera el tàlem com una unitat. Així, diversos autors refereixen l'arribada d'aferències directes del "tàlem" a la capa VI o a l'unió de la V-VI en el còrtex visual del gat (Le Vay et al 1976; Jones et al 1976), en la capa V del còrtex motor (Jacobson et al 1975) o en la capa I del còrtex visual de la rata (Parnavelas et al 1981). Killackey et al (1973) i sobre tot Herkenham (1980) injectant selectivament diferents nuclis talàmics distingeixen 4 regions amb un patró propi d'arribada al còrtex:

- a) Els nuclis sensorials ho fan en les capes III-IV del còrtex sensitiu.
- b) Els nuclis intralaminars arriben fins a les capes V i VI de tot el neocòrtex.

- c) Els nuclis ventromedial i geniculat medial, part magnocèl.lular, s'extenen difosament per la capa I.
- d) El darrer grup el formen els nuclis que projecten a la capa I i a més a una de les altres capes, la qual varia segons la regió del còrtex. Per exemple el nucli ventrolateral envia aferències a la capa I i a la VI d'una ampla àrea del còrtex, i a més en la regió del còrtex motor ho fa a la capa V.

— El terç inferior és de projecció extracortical. La capa V dona origen als feixos corticostriat, corticorúbric, corticotalàmic (intralaminar), corticobulbar i corticospinal i corticotectal, en aquest ordre de fora a dins. La capa VI envia massivament eferències als nuclis de relleu talàmics.

Es pot dir, doncs, que cada làmina del còrtex representa una agregació de somas de cèl.lules piramidals els axons de les quals projecten al mateix lloc cortical o subcortical (Jones 1981).

### C. Organització vertical o columnar

En els darrers anys s'ha fet palès que junt amb aquesta disposició cèl.lular en làmines horitzontals existia en el còrtex mamífer algun tipus d'organització vertical. La primera observació en aquest sentit la devem a Lorente de Nó que ja al 1938 ho feia notar basant-se en les evidències histològiques que li proporcionà el mètode de Golgi. Així, deia: "Des del punt de vista funcional el còrtex és un sistema unitari compost per cadenes verticals de neurones, entre les quals les més importants anatómicament són aquelles que comencen a l'articulació de les aferències específiques (és a dir, la capa IV) i de les cèl.lules de la làmina externa." Es evident que les dendrites apicals de les cèl.lules piramidals en travessar verticalment el còrtex estableixen contactes amb neurones de les capes superiors. A més interneurons de diferents tipus (cèl.lules en cistell "Basket", cèl.lules amb doble arborització dentrítica de Cajal, etc.) estableixen contactes de característiques inhibidores o excitatòries sobre les cèl.lules piramidals del mateix territori vertical (Colonnier 1981).

Histològicament, però, aquesta estructura vertical o columnar no és tan evident com l'horitzontal i la demostració definitiva s'ha fet amb estudis electrofisiològics, iniciats per Mountcastle el 1957, Hubel i Wiesel (1962, 1963), Wiesel i

Hubel (1963, 1965) i Asanuma (1975) i mitjançant el marcatge amb aminoàcids i sucres tritiats (Hubel i Wiesel 1969, 1972; Wiesel et al 1974; Le Vay et al 1978, 1981, en el còrtex visual; Goldman i Nauta 1977, en el frontal). Mountcastle (1957) registrant els potencials del còrtex somatosensorial del gat va descobrir que en cada penetració vertical de l'electrode les cèl.lules trobades responien a la mateixa modalitat sensorial i tenien el seu camp receptiu en la mateixa part de la perifèria sensorial: Wiesel i Hubel trobaren en el còrtex visual del mico que, amb penetracions obliques al llarg de la capa IV l'electrode registrava primer una àrea que s'estimulava només des d'un ull i seguidament un altra que només ho feia des del ull contralateral; de forma alternativa i repetidament aquest fenomen es produïa a mesura que s'avançava en la penetració. Aquestes bandes verticals o columnes de dominància ocular tenen electrofisiològicament un gruix d'unes 400 micres. Mitjançant marcadors axonals (aminoàcids o sucres tritiats) es demostra de forma clara l'existència de columnes de còrtex visual de gruix comparable al citat i que es marquen en injectar contrast en l'ull ipsilateral, intercalables amb altres que no es marquen i que corresponen a projeccions del ull contralateral. El mateix succeeix en injectar el marcador en el còrtex frontal i observant la tinció en el còrtex contralateral, configurant-se bandes de un gruix entre 200-500 micres (Goldman i Nauta 1977).

L'estructura columnar de les aferències cortico-corticals, calloses i tàlem-corticals s'ha demostrat amplament. Probablement en alguns punts aquestes columnes aferents coincideixen amb columnes eferents les quals, però, han estat menys estudiades (Jones i Wise 1977; Jones 1981).

Les columnes es generen en dates diferents segons les àrees estudiades formant-se primer les associatives frontals que les visuals (Goldman i Nauta 1977, Rakic 1976).

## II. DESENVOLUPAMENT DEL NEOCORTEX

Les neurones de la majoria d'estructures del sistema nerviós central es formen en zones germinals que estan lluny dels llocs definitius que ocuparan les cèl·lules en l'animal adult. Des de la fase de tub neural primitiu fins a la constitució definitiva del neocòrtex hi han diversos estadis en els quals tenen lloc processos de proliferació, migració i diferenciació cel·lular que han estat objecte de nombrosos estudis des de l'època d'His fins a l'actualitat. Aspectes prou importants estan encara subjectes a controvèrsia actualment; per això aquest serà un recull i alhora un intent de síntesi de conjunt.

- A. Fase inicial - Tub neural
- B. Formació de les zones embrionàries bàsiques
- C. Formació del neocòrtex en la rata
- D. Formació del neocòrtex en l'home

### A. Fase inicial - Tub neural

El tub neural consisteix únicament en un epitelí pseudoestratificat de cèl·lules germinals neuroepiteliales en fases asíncrones del cicle mitòtic (Jacobson 1978). L'estudi detallat d'aquestes cèl·lules amb microscopia òptica i electrònica, marcatge amb timidina tritiada ( $^3\text{H-Tim}$ ) i medicions citofotomètriques del DNA (Sauer i cols 1959) (Hicks i cols 1961) demostra que els seus nuclis no estan fixos sino que es mouen de dins a fora i de fora a dins del tub neural segons la fase del cicle cel·lular en que es trobin. D'acord amb la terminologia de Howard i Pelc (1953) per al cicle del DNA, una vegada acomplerta la divisió mitòtica la cèl·lula té un lapsus d'espera abans no s'inicia la síntesi del DNA.

Durant aquest període inicial o fase G 1 la cèl·lula comença a desplaçar-se cap a fora, però aquest moviment és més evident quan comença la fase de síntesi del DNA, durant la qual el nucli es va engruixint (fase S). Quan arriba quasi fins a la part lateral del tub neural, torna cap a la superfície ventricular continuant incre-

mentant la dimensió nuclear. Abans no s'inicia la mitosi hi ha un altre període d'espera (fase G 2) en la qual el nucli té una dotació cromosòmica tetraploide. Aquesta fase es a vegades difícil distingir-la de la profase (Hicks 1961) i es consideren juntes sovint. Quan comença la metafase la cèl.lula perd l'ancoratge que tenia amb la paret lateral del tub neural i el nucli es desplaça fins a la mateixa vora ventricular, es divideix i torna a iniciar el cicle començant a desplaçar-se cap a fora.

Aquest fenomen, anomenat migració nuclear intermitòtica no és exclusiu de les cèl.lules germinals neuroepitelials, sinó que es pot veure en una varietat de teixits embrionaris amb forma de epitelí pseudostratificat (Sauer 1936, 1937; Zwaan et al 1960).

Segons Jacobson (1978) aquest moviment a dins i a fora afavoriria que el nucli entrés en contacte amb "factors citoplasmàtics" regionals diversos i així es promogué una activitat genètica concreta.

Una interpretació alternativa és l'oferta per Sidman & Rakic (1973) indicant que l'asincronia en el pas cel.lular a través del cicle generacional serveix per a garantir que tant el creixement dels processos citoplàsmics com la migració cel.lular es faci predominantment en un vector radial. Dit d'una altra forma, una cèl.lula epitelial en fase S tardana retira el seu ancoratge extern a mesura que es desplaça cap a la superfície ventricular i es divideix; en aquest moment alguna de les cèl.lules veïnes està encara en la seva forma allargada de manera que dona una guia o pas únic pel que cada cèl.lula post-mitòtica reestendrà el seu procés citoplasmàtic cap a la superfície externa. Per a Hicks & D'Amato (1966) es tracta únicament de l'organització més econòmica que permet que en un espai relativament petit un gran nombre de cèl.lules es reproduïxin. En el sistema nerviós la migració nuclear intermitòtica només s'observa en la zona germinal de la capa ventricular i no es veu en canvi en la zona subventricular (l'altra zona germinal del cervell).

Les diferents fases del cicle del DNA i la velocitat de la migració nuclear intermitòtica estan subjectes a variacions segons les espècies, zones del SNC i fase del desenvolupament. En general són més llargues quan més avançat és el procés de formació.

El procés de migració nuclear intermitòtica pot ésser aturat experimentalment amb fàrmacs que inhibeixen l'acció dels microfilaments cel.lulars contràctils, com la citocalasina B (Messier & Auclair 1974) o amb altres que inhibeixen la mitosi com la colxicina (Waterson et al 1956) o el sulfat de vincristina (Langman et al 1966).

A mesura que s'incrementa el nombre de cèl.lules de la capa germinal, comencen a disminuir les mitosis ja que una part de les cèl.lules filles es queden en fase G 1 o postmitòtica, és a dir, no inicien un altre cop la síntesi de DNA i comencen a preparar-se per a la migració. Una altra part important de cèl.lules filles repeteix, però, el cicle de nou.

#### **B. Formació de les zones embrionàries bàsiques**

Durant la formació del neocòrtex s'originen diverses capes en la paret de la vesícula cerebral, la majoria transitòries i difícilment recognoscibles en el còrtex adult (Sidman & Rakic 1973). No hi ha hagut unanimitat entre els diferents autors per a designar i interpretar aquestes capes. En un intent d'unificar criteris i nomenclatura, integrant els nous coneixements adquirits, un grup d'investigadors va definir en 1970 les següents zones embrionàries bàsiques (Boulder Committee):

– **Capa Ventricular:** és la zona interna i conté les cèl.lules germinals ventricular. Es la primera zona en desenvolupar-se i la que dona origen a totes les altres capes. Les seves cèl.lules substitueixen els anomenats anteriorment espongioblastos (precursors glials) i a les cèl.lules germinals (neuroblastos) en què His dividia les cèl.lules de la capa germinal.

– **Capa Marginal:** La zona més externa, escassa en cèl.lules i que no és envaïda pels nuclis de les cèl.lules ventriculars durant el seu moviment nuclear intermitòtic. Al principi conté només els processos citoplàsmics de les cèl.lules germinals ventriculars (Jacobson 1978, Smart 1981).

– **Capa Intermèdia:** Es desenvolupa entre les dues zones citades a mesura que les joves neurones postmitòtiques es mouen cap a fora i que axons aferents van creixent entre les dues regions prèvies.



– **Capa Subventricular:** és la zona transitòria en la unió de les zones ventricular i intermèdia, i que conté una o més classes de cèl·lules subventriculars proliferants que donaran lloc a la macròglia i a varies classes especials de neurones.

– **Placa Cortical:** encara que no és definida pròpiament com a capa embrionària es descriu com una zona específica situada en la unió de les capes marginals e intermèdia, formada per cèl·lules postmitòtiques ventriculars migrades. Anirà esgruixint-se progressivament fins a donar lloc a les capes VI a II del còrtex adult.

La divisió en aquestes quatre zones embrionàries bàsiques ha estat discutida per alguns investigadors, especialment pel que fa referència al paper de la capa marginal i a la formació de la placa cortical. Marín-Padilla i cols (1970, 1971, 1972, 1978, 1982), Raedler i cols (1976, 1978, 1980), Konig i cols (1975, 1977) i Rickmann i cols (1977) entre altres, en treballs experimentals en rates, gats i recentment en l'embrió humà suggereixen que hi han dues transformacions importants que donen lloc al desenvolupament del neocòrtex mamífer:

– La primera és l'arribada de fibres aferents a la vesícula telencefàlica primitiva, seguit per l'aparició i maduració entre aquestes fibres de neurones joves provinents de la capa germinal o ventricular. Aquestes fibres corticipetals penetren la vesícula telencefàlica externament i s'estenen per sota la superfície pial donant lloc a una substància blanca externa amb unes quantes neurones desenvolupant-se. Aquesta primera làmina externa del còrtex cerebral, considerada pel Boulder Committee com pràcticament desproveïda de neurones (zona marginal de la classificació antiga) la designa Marín-Padilla com la **capa plexiforme primordial**, i es forma en l'home en la setena setmana de vida intrauterina, precedint la formació de la placa cortical 1 a 3 setmanes (Marín-Padilla 1982). En la rata Raedler & Raedler (1978) la descriuen per primera vegada en el dia embrionari 13 (ED 13), mentre que la placa cortical no s'endevina fins el dia embrionari 15 (ED 15) i no s'estableix bé fins ED 16-17. Segons Marín-Padilla i cols (1982) la capa Plexiforme primordial del còrtex cerebral mamífer seria una organització cortical primitiva funcionalment activa ja durant la vida embrionària precoç i abans de l'aparició de la placa cortical. L'existència d'una organització cortical primitiva formada per una substància blanca externa (fibres corticals) amb neurones disperses entre les fibres es compartit pels amfibis, rèptils i mamífers (Marín-Padilla, 1978).

— L'altre fet que també està en desacord amb els criteris del Boulder Committee és que la Placa Cortical apareix DINS de la capa plexiforme primordial (Marín-Padilla 1971-1978). La seva aparició divideix per tant la capa plexiforme primordial en dos: una capa plexiforme superficial (capa I o marginal del Boulder Committee) i una capa plexiforme profunda o capa VII (capa VI b de altres classificacions König et al 1977; capa de neurones subcorticals segons Rickmann et al 1977). Aquesta segona transformació s'ha corroborat en estudis en humans (Larroche 1981). La capa I i la capa VII representen part d'aquesta organització cortical primitiva i les seves interrelacions constitueixen la primera i única organització funcional del còrtex cerebral mamífer abans de la maduració de la placa cortical. Les neurones de la capa VII perdran progressivament les seves connexions amb la capa I a mesura que són substituïdes per tipus similars de neurones provinents de la placa cortical (Marín-Padilla 1972). La capa I en canvi, sembla mantenir la seva organització plexiforme i els seus components originals al llarg del curs del desenvolupament cortical.

Basant-se en aquestes observacions Marín-Padilla formulà un concepte nou respecte a l'origen del còrtex cerebral mamífer (1978). Segons ell el neocòrtex dels mamífers, incloent-hi l'home, té un origen i naturalesa dual que ja es construeix, per una part, amb dues làmines plexiformes primitives (capa I i capa VII) derivades de l'organització cortical primordial (premamífera), i per l'altra, amb una làmina nova, en expansió, que creix entre les dues capes prèvies i que representa realment la característica distintiva del neocòrtex mamífer, la Placa Cortical, la qual donarà lloc progressivament a les capes VI, V, IV, III i II respectivament.

### C. Formació del neocòrtex en la rata

A la llum d'aquesta nova concepció Readler i cols (1976, 1978, 1980) treballant amb embrions de rata i fent servir microscopi electrònic i autoradiografia amb timidina tritiada ( $^3\text{H}$ ) descriuen detalladament els passos en la formació del neocòrtex, que en resum són els següents:

— Fins al dia embrionari 13 (ED 13) la paret lateral de la vesícula telencefàlica consisteix exclusivament en cèl·lules ventriculars orientades radialment i arranjades en unes poques rengleres formant un epiteli pseudostratificat: la capa ventricular.

Aquesta zona és comú a totes les parts del sistema nerviós central en formació i representa la zona de proliferació que donarà lloc a totes les cèl.lules, tant neurones com macroglia.

Les cèl.lules ventriculars es caracteritzen per:

- Un nucli de forma allargada a fusiforme amb grumolls de cromatina.
- Un citoplasma bipolar que dóna un procés basal unit a la superfície ventricular i un procés apical que arriba fins a la membrana basal pial on s'implanta mitjançant un peu gruixut de forma triangular; aquests peus només s'observen amb microscopi fins al ED 13.
- Ultraestructuralment (UE) el citoplasma té ribosomes abundants, molt poc reticle endoplàsmic arrugat, alguna mitocondria i un complex de Goldi.

En aquesta fase del desenvolupament l'anomenada zona marginal és un àrea sense cèl.lules situada sota la membrana basal pial, i per alguns autors (Jacobson, 1978; Smart, 1982; Raedler, 1978) està formada per els processos apicals de les cèl.lules ventriculars. Fins a ED 11-ED 13 la capa ventricular es caracteritza per estar en estadi proliferatiu (Estadi I de Raedler, 1978), és a dir, que cada divisió mitòtica dóna lloc a dues cèl.lules filles que continuaran dividint-se i incrementant la superfície de la paret neural. A partir d'ED 11-ED 13 la capa ventricular comença a presentar una proliferació i diferenciació sincròniques, és a dir, que alguna de les cèl.lules filles migra cap a la membrana pial i comença a diferenciar-se, mentre que l'altra torna cap a la superfície ventricular per a iniciar un nou cicle mitòtic (Estadi II de Raedler, 1978). En aquest moment en què es preparen per a migrar les neurones joves perden el seu procés basal i apical (Raedler et al 1978).

### C. 1. Capa plexiforme primordial

En ED 13 les primeres cèl.lules ventriculars filles comencen a migrar cap a dalt i a diferenciar-se per a formar una capa específica: la capa plexiforme primordial, que no és plenament superposable a la capa marginal del Boulder Committee (1970). Aquesta capa està constituïda a més per feixos de fibres aferents, d'origen en els centres subcorticals, probablement en tronc cerebral (locus coeruleus o substància reticular, com a suggerit recentment Marín-Padilla, 1982, ja que pel que fa a l'home, els nuclis basals són encara prou immadurs i el cos callós encara no està

format). Aquestes feixos de fibres horitzontals es troben en quasi tota la circumferència de la paret neural i estableixen contactes amb les escasses cèl.lules que apareixen en aquesta capa, induint, potser, la seva diferenciació (Marín-Padilla, 1982). Aquestes cèl.lules són clarament diferents de les cèl.lules ventriculars i són de varis tipus:

- Cèl.lules horitzontals de Cajal-Retzius, situades en el terç superior de la capa plexiforme primordial. Tenen un nucli horitzontal amb grumolls de cromatina i un pericàrion bipolar també horitzontal, amb nombroses mitocondries, complexos de Golgi, microtúbuls i reticle endoplasmàtic granular. Aquestes cèl.lules continuen diferenciant-se i mantenint el seu avançat grau de maduració comparat amb les altres neurones del neocòrtex. Amb timidina tritiada ( $^3\text{H-Tim}$ ) es demostra que s'originen probablement en ED 11 i que el seu pic de producció s'atança en ED 13 disminuint a partir de ED 15 i no podent detectar-se l'aparició de noves cèl.lules de Cajal-Retzius en ED 17. Són per tant les primeres preneurones del neocòrtex a aparèixer i diferenciar-se.
- Preneurones amb nucli clar, rodó i gran pericàrion. Poden observar-se en la meitat inferior de la capa plexiforme primordial en ED 15, amb signes ultraestructurals de maduració relativament avançats. Amb  $^3\text{H-Tim}$  es veu que es formen en ED 12 i que de ED 15 a ED 17 aniran a situar-se sota la placa cortical bipolar, formant la capa VII.
- Cèl.lules de nucli polimorf i fosc, amb grumolls cromatínics, nombrosos ribosomes i poc reticle endoplàsmic arrugat, amb aspecte indiferenciat. Es poden veure també en ED 13 i el seu destí és menys clar.

La capa plexiforme creix considerablement entre ED 13 i ED 15, quasi triplicant-se en amplada, amb un creixement lineal, aritmètic. En ED 15 la capa plexiforme primordial comprèn el 40 o/o aproximadament del gruix total de la paret cerebral. En aquest moment el seu aspecte és molt semblant a la capa plexiforme primordial de les espècies premamíferes. Pel que fa al procés de maduració s'observa un gradient de FORA a DINS, és a dir, les primeres a completar el procés són les més externes i seguidament les més internes.

## C.2. Placa cortical

Entre ED 15 i ED 17 apareix un nou compartiment cel·lular que és característic dels mamífers: la PLACA CORTICAL, que posteriorment donarà origen a la majoria de neurones de les capes VI a II. La placa cortical creix al mig de la capa plexiforme primordial, dividint-la en una part superior o capa I (o marginal) i una inferior, la futura capa VII i la capa intermèdia. El fet de que la placa cortical es desenvolupa dins de la placa primordial plexiforme queda provat segons Raedler i cols (1980) per:

- a) El gruix de la placa plexiforme primordial, que en ED 15 és molt més gran (99  $\mu\text{m}$ ) que el de la capa I en ED 16 (31  $\mu\text{m}$ ), del que sembla inferir-se que hi ha d'haver algun altre element a dins apart de la capa VII de mínim volum.
- b) La presència de cèl·lules marcades amb Tim-H<sup>3</sup> en ED 12 a ED 15 per damunt i sota però no a dins de la placa cortical (Ferrer 1981, Raedler et al 1978, 1980).
- c) L'observació de l'inici de la sinaptogènesi en aquestes dues regions abans que en la placa cortical (Molliver et al 1973).

Les cèl·lules de la placa cortical estan orientades perpendicularment a la superfície cortical i empaquetades densament, amb espais internuclears e intercel·lulars molt petits. Tenen nuclis ovals verticals, grans i clars. El seu aspecte bipolar, amb un procés basal i apical, les fa molt semblants a les cèl·lules ventriculars, tret del fet de tenir un nucli més oval i menys densitat electrònica en tenir la cromatina més dispersa (Raedler 1978). (Figura 1).

Amb Tim-H<sup>3</sup> es revela que la majoria de preneurones que formen la placa cortical no s'originen abans de ED 15, i que nombroses cèl·lules nascudes aquest dia en la capa ventricular arriben a la placa cortical en menys de 48 hores, al menys a l'inici (Hicks & D'Amato, 1968; Raedler 1978). Quan més tard ocorre això en la neurogènesi més triguen a recórrer aquesta distància, i això és encara més evident en els primats, incloent-hi l'home, on pel major gruix de la paret neural, la distància a travessar és més gran.

També amb Tim-H<sup>3</sup> s'observa que a les parts més profundes de la placa cortical hi van a parar les neurones originades abans, mentre que les més superficials

seran ocupades per les preneurones que més tard abandonen la capa ventricular.

La placa cortical incrementa el seu gruix ràpidament, amb una curva de creixement exponencial, que contrasta amb la curva de creixement més lineal de la capa plexiforme primordial (Raedler, 1980).

El procés de diferenciació no s'inicia immediatament després de deixar la capa ventricular tal com succeeix en les cèl·lules de la capa primordial plexiforme. Al contrari, les cèl·lules de la placa cortical són al principi, com s'ha dit, molt semblants a les de la capa ventricular, i amb estudis amb Tim-H<sup>3</sup> es veu que semblen romandre immodificades durant un considerable espai de temps després d'arribar a aquesta capa. Quan aquestes preneurones de la placa cortical comencen a madurar el seu aspecte canvia considerablement, adquirint uns nuclis rodons, més pàl·lids, un o més nucleols indiferenciats, abundant citoplasma pericarial, amb pèrdua de la forma bipolar típica i amb espais intercel·lulars més amples, sense arranjament radial definit. Al voltant del ED 18 - ED 20 es limita una part interna o multipolar anomenada *Subplaca cortical* (Krist i Molliver 1976), més diferenciada i amb cèl·lules d'origen més antic, com es suggereix amb el marcatge amb timidina tritiada. Tant pel que fa al dia d'origen com al de l'inici de la diferenciació, les cèl·lules de la placa cortical segueixen un gradient **DINS - FORA** (Inside-out). Aquest darrer fet és unànimement acceptat i comprovat en diverses espècies.

Marín- Padilla et al (1982) en demostrar que totes les neurones joves de la placa cortical del còrtex humà embrionari (motor), per immadures que siguin, connecten promptament a través de la dentrita apical amb la capa I, especula que aquesta connexió pot tenir una importància decisiva perquè les neurones immadures de la placa cortical comencin a diferenciar-se.

L'arribada de més preneurones indiferenciades originades en la capa ventricular fins al dia embrionari 21 (ED 21) causa un increment continuat en el gruix de la placa cortical bipolar fins a aquest dia. Des de llavors fins al tercer dia de vida postnatal el gruix d'aquesta capa roman constant degut a l'equilibri arribada-diferenciació, i a partir dels dies 10 a 14 de vida postnatal és difícilment recognoscible una placa cortical bipolar típica.

### C.3. Capes Subventricular i intermèdia

La capa intermèdia es desenvolupa al costat de la part inferior de la capa primordial plexiforme i inicialment conté feixos de fibres i les preneurones de la capa VII, al voltant de ED 16. Després de formar-se la placa cortical la capa intermèdia —que després del naixement es transformarà en substància blanca— és utilitzada predominantment per feixos de fibres corticopetals i corticofugals en nombres creixents i que es col·loquen en el seu límit inferior, el que és típic de les parts filogenèticament més joves del sistema nerviós central, al contrari de les més velles com la capa plexiforme primordial i la mèdulla espinal.

La capa intermèdia té uns espais intercel·lulars amplis, i junt amb les preneurones bipolars que migren cap a la placa cortical (nucli oval amb l'eix major orientat radialment, Berry i Rogers 1965), el tipus cel·lular predominant és una cèl·lula indiferenciada amb petit nucli polimorf fosc, semblant al que es pot veure en la capa I i en la capa subventricular i la placa cortical al final de la gestació. Ultraestructuralment s'assemblen a les cèl·lules ventriculars tretra l'orientació radial del pericàrion i l'aspecte fusiforme del nucli de les darreres.

La capa subventricular queda definida en ED 17 i es diferencia de la capa ventricular per la pèrdua de l'arranjament radial de les seves cèl·lules i per l'increment dels espais intercel·lulars degut a l'increment de l'espai intercel·lular i al creixement de feixos de fibres entre els pericàrions. Les cèl·lules d'aquesta capa tenen nuclis polimorfs foscos, amb citoplasma indiferenciat, semblants a les de la capa intermèdia. La separació entre les capes intermèdia i subventricular i entre la capa intermèdia i la placa cortical no està ben definida. (Fig. 1 ).

La capa subventricular passa d'un gruix inicial en ED 17 de 158  $\mu\text{m}$  a un de 125  $\mu\text{m}$  en el naixement. Algunes de les seves cèl·lules es demostra que tenen activitat mitòtica i constitueixen la segona capa germinal. Els seus nuclis no presenten migració intermitòtica nuclear com es típic de la capa ventricular.

La capa ventricular fins a ED 16 augmenta considerablement de gruix coincidint amb la formació de la capa primordial plexiforme. (Figura 1 ). A partir de llavors el gruix de la capa ventricular disminueix dramàticament minvant el nombre de mitosis, degut a:

- 1) la formació de la capa subventricular
- 2) la translocació de cèl·lules ventriculars postmitòtiques a la placa cortical. La capa ventricular es transformarà postnatalment en l'epèndim.

#### D. Formació del neocòrtex en l'home

L'ontogènesi prenatal del neocòrtex humà segueix el mateix programa que les regions homòlogues del còrtex cerebral en altres mamífers, però cal tenir en compte la duració més prolongada del període de gestació en l'home i el vast increment del nombre de neurones en el còrtex cerebral humà (Jacobson, 1978). Sidman & Rakic en 1973 publicaren una revisió de les fases del desenvolupament de l'escorça humana. Són cinc:

- Estadi I: Formació inicial de la placa cortical (Setmana 7 a 10). Les cèl·lules postmitòtiques migren cap a fora per a formar un nou acúmulo cel·lular en la unió de la zona intermèdia i marginal. S'inicia la placa neocortical que tindrà diverses cèl·lules de profunditat al final d'aquest estadi.
- Estadi II: Condensació primària de la placa cortical (Setmana 10 a 11). Es fa més compacta, augmenta en gruix i es delimita bé. Les neurones són encara immadures i poques semblen migrar en aquesta fase. La capa intermèdia va adquirint més fibres, algunes d'origen talàmic, moltes arriben fins a la placa cortical.
- Estadi III: Placa cortical bilaminada (Setmana 11 a 13). De ser uniforme i compacta es transforma en dues parts, una externa més immadura i una interna més diferenciada. Es produeix una segona ona migratòria que es més prolongada.
- Estadi IV: Condensació secundària (13 a 15 setmana). La capa ventricular disminueix de gruix perquè un gran percentatge de les seves cèl·lules migren i un nombre menor continua multiplicant-se. La capa subventricular continua present. La placa cortical es torna un altre cop homogènia i sembla una versió engruixida de l'estadi II. Relativament poques neurones entren en la placa cortical, pel que es diferencia clarament de la zona intermèdia. Moltes neurones que s'han de situar en les parts més altes de la placa cortical no han passat encara la capa intermèdia, que ja té més de 5 mm.
- Estadi V: Maduració cortical (Setmana 16 a període postnatal). Cap a la setmana 20 no es veu proliferació quasi en la capa ventricular. Moltes neurones generades abans de la 16 setmana encara no han arribat a la placa cortical. La capa subventricular persisteix produint cèl·lules que es transformaran en neurones petites i mitjanes i macròglia.



### E. Etapa Postnatal

En el nadó de la rata s'observen clarament tres capes en el còrtex: la marginal que continua estable des de la seva formació la placa cortical bipolar i la placa cortical multipolar o subplaca cortical de Kristt i Molliver (1976). Considerarem alguns aspectes del desenvolupament postnatal precoç normal basant-nos en els treballs de Eayrs i Goodhes (1959), Fox et al (1966), Lorente de Nó (1922) Novack et al (1961) i Ferrer (1978), amb el mètode de Golgi.

En el dia postnatal 4 (PD 4) s'observa un major desenvolupament de les neurones de la placa subplaca cortical:

– En la placa cortical encara que persisteixen els elements fusiformes, son més escassos i s'observen piràmides petites més superficials i piràmides mitjanes més profundes, amb ramificació de la dendrita apical. Els axons tenen colaterals escasses tan en la part més profunda de la placa cortical com en la subplaca cortical. Apareixen ja ara diverses neurones estelades en la placa cortical, les quals tenen un citoplasma aproximadament poligonal i dendrites escasses amb cantons arrosariats.

– En la subplaca cortical les piràmides son més grans, amb les dendrites apicals dirigides cap a la capa I, i dendrites basals amb ramificacions secundàries curtes que neixen normalment d'un engruiximent de la dendrita primària. Aquestes ramificacions secundàries també s'observen en les parts inicials de la dendrita apical. Els axons donen colaterals amb un llarg trajecte ascendent, descendent o oblicuat. Es poden veure també neurones amb axó ascendent, i el límit de la placa i la subplaca corticals neurones amb doble arborització dendrítica, poc evidents encara, amb axó ràpidament ramificat en una densa arborització vertical. En la part profunda de la subplaca cortical es veuen diversos tipus cel.lulars: piràmides poc i ben desenvolupades, piràmides amb dendrites horitzontals sense procés apical, elements de tipus fusiforme amb curtes branques basilaris o amb processos dendrítics oposats i verticals.

En el dia postnatal 7 es veu una placa cortical amb una zona més superficial amb cèl.lules empaquetades densament i una zona profunda que té separacions intercel.lulars més grans.

La subplaca cortical queda estructurada en una capa superficial de piràmides grans i una capa profunda polimorfa. En aquest estadi el còrtex és semblant al de l'adult si s'examina amb tinció de Nissl, veient-se:

- la capa marginal
- les capes II i III que no es poden diferenciar entre sí
- les capes IV, V i VI

La placa cortical dóna lloc a les capes II, III, IV i la subplaca cortical a la V i VI.

La capa II-III encara té algunes neurones bipolars, però la població majoritària està constituïda per petites piràmides en la capa superficial, i piràmides mitjanes en la profunda. Les petites tenen una dendrita apical ramificada normalment prop del seu naixement i que arriba a la capa marginal. Les dendrites basals són poc ramificades i els axons donen diverses col.laterals en angle recte ascendent o descendents, mentre baixen per les capes més profundes (especialment la capa V) per a entrar en la substància blanca. Les piràmides mitjanes, més profundes, tenen dendrites apicals de característiques semblants. En aquesta capa i en la següent (capa IV) s'observen neurones estelades de tipus diversos, unes més grans, amb ramificacions dendrítiques més llargues i axó horitzontal amb branques llargues, ascendents, descendents o curtes amb ramificacions en la mateixa capa, i altres més petites amb branques dendrítiques curtes i un axó ramificat precoçment dirigit a les zones veïnes.

En la capa IV, junt amb les neurones estelades s'observen neurones amb doble ramell dendrític en la part superior i inferior. L'axó és horitzontal, ràpidament dividit en branques de trajecte estrictament vertical. A més es veuen algunes piràmides i alguna neurona aïllada d'axó ascendent.

En la capa V el tipus predominant es la piràmide gran, ara ja ben desenvolupada. Les dendrites apicals, que arriben a la capa I, tenen branques secundàries i terciàries, igual com les dendrites basals. Es troba un nombre considerable de botons sinàptics. Els axons són descendents amb col.laterals en angle recte i branques ascendents, descendents o obliquades. La part distal de l'axó pot atravesar la substància blanca per engruixir-la o penetrar en els ganglis basals. S'observa un nombre consi-

derable de neurones amb axó ascendent.

En la capa VI es troben diversos tipus neuronals: piràmides menys desenvolupades amb dendrites apicals arrosariades i poques dendrites basals; piràmides més madures amb la dendrita apical amb dues ramificacions terminals; altres amb arbres dendrítics no polars, horitzontals o descendents i axó ascendent o descendent, curt o llarg; finalment neurones fusiformes amb una dendrita dirigida cap a baix sense branques.

A partir del dia 10 només cal assenyalar l'increment progressiu de botons sinàptics en totes les dendrites del còrtex, abans les profundes que les superficials, i l'increment progressiu del plexe superficial (capes II-III).

#### F. Origen postnatal de diverses neurones

Algunes neurones continuen originant-se després del naixement. En el ratolí (*Mus musculus*) s'observa neurogènesi postnatal en els llocs següents (Altman i Das 1965 a, b, 1966, 1969 a, b; Das i Altman 1970; Jacobson 1978):

- Fascia dentata de l'hipocamp: ED 10 a PD 20.
- Nuclis del tronc cerebral: ED 10 fins a PD 15
- Cèl.lules granuloses del còrtex cerebelós: ED 17 a PD 15.
- Nucli accumbens i caudat.
- Bulb olfatori.

Hinds (1968) va demostrar inicialment una durada de la neurogènesi des de ED 18 fins a PD 20 en el bulb olfatori. Més recentment s'ha vist que les neurones de la mucosa olfactiva —les cèl.lules receptores en el nas que senten les olors i transmetten potencials d'acció vers el bulb olfatori— s'originen cada 30 dies durant tota la vida, essent doncs l'únic lloc del sistema nerviós central mamífer on aquest fenomen succeeix (Easter 1984).

### III. MIGRACIÓ NEURONAL

Una propietat fonamental del sistema nerviós central en formació és que cap de l'enorme nombre de neurones que constitueixen el neocòrtex mamífer és originada dins de la mateixa placa cortical, sinó que són produïdes en llocs distants, les zones proliferatives o germinals a prop de la superfície ventricular (zona ventricular o matriu al principi exclusivament, capa ventricular i subventricular a la meitat del procés i zona subventricular al final del període proliferatiu, Rakic 1981). Per arribar als seus llocs de destí han de migrar, per tant, una distància considerable. Encara avui es desconeix el mecanisme íntim per el qual les preneurones poden desplaçar-se, com poden atravesar amb èxit l'eixam tan gran de feixos de fibres i cèl·lules fins arribar al seu lloc en la placa cortical, i finalment quina és l'utilitat d'aquest desplaçament.

El punt de vista clàssic respecte a l'origen i desenvolupament del neocòrtex mamífer es deriva dels treballs dels grans investigadors Ramón y Cajal (1911), His (1904), Koelliker (1896), Retzius (1891) i Vignal (1888). En resum, es considerava que totes les neurones s'originaven en la zona proliferativa (zona matriu) periventricular i que progressivament migraven cap a la placa cortical, la qual era el primordi de totes les neurones i laminacions futures del neocòrtex. Possiblement Vignal (1888) va ésser el primer a suggerir que la maduració de les neurones de la placa cortical començava en la seva part inferior i anava progressant de forma ascendent. Tilney (1933) proposà més tard que en l'ontogènesi cortical tenien lloc tres ones diferents de migració de neurones, i que cada una d'elles donaria origen a capes corticals específiques. Suggeria que les capes II, III es desenvolupaven de la primera ona, la capa IV de la segona i les capes V i VI de la tercera i darrera. Fins a 1961 aquesta va ésser la teoria dominant. Aquest any Angevine i Sidman, amb la publicació de les seves investigacions van canviar aquest concepte, demostrant que marcant amb timidina tritiada de forma correlativa diversos embrions de rata d'edats creixents, s'observava que les preneurones més joves anaven a situar-se per sobre de llurs precedessors, de manera que les més velles eren les més profundes i les més joves quedaven situades a les capes més externes. La placa cortical creixia doncs per l'addició progressiva de joves neurones a la seva part més externa.

Aquest gradient de migració va denominar-se DINS-FORA (Inside-out) i va ésser corroborat per altres investigadors i en diferents animals (Berry i Rogers

1965; Angevine 1965; Sidman 1970; Sidman i Rakic 1973; Rakic 1974, 1975, 1981). Aviat van confirmar-se a més les observacions de Vignal (1888) veient-se que la seqüència bàsica de maduració era també Dins-Fora, essent la capa VI la primera a formar-se i madurar, i progressivament les capes V, VI, II, II. Aström (1967) és l'únic que creu que hi pot haver una excepció, com és la maduració més precoç de les cèl.lules piramidals de la capa IV que les de la capa V conclusió que es desprèn del seu treball en fetus d'ovella. Aquest punt no ha estat motiu d'atenció per altres autors. L'origen de la capa I i VII (VI b) no va ser considerat fins als treballs de Marín-Padilla als 1971, 1972 i especialment fins als del mateix Marín-Padilla als 1978 i 1982 i de Raedler 1978 i 1980, i ja han estat tractats anteriorment.

En el cas de la capa plexiforme primordial, tant per el moment d'aparició com per el grau de maduració se segueix un gradient Fora-Dins (outside-in), és a dir, que primer apareixen i maduren les cèl.lules horitzontals de Cajal-Retzius de la futura capa I, i després fan el mateix les cèl.lules estrellades de la incipient capa VII.

Un aspecte fonamental del fenomen de la migració és com poden les pre-neurons joves arribar al seu punt de destí sense extraviar-se en el maremàgnum del cervell en formació. Aquest punt ha estat treballat especialment per Rakic (1981) entre altres (Morest 1970). Alguns autors, Morest principalment, suggereixen que no hi ha de fet una veritable migració cel.lular sinó més bé una migració nuclear, és a dir, un moviment del nucli dins del seu cilindre citoplàsmic, el qual continua ancorat amb les seves prolongacions apical i basal a la superfície pial i ventricular respectivament al llarg de tot el desenvolupament del còrtex per atrofiar-se després. Aquesta hipòtesi, que ja va ésser refusada per Ramón y Cajal (citada per Siman & Rakic 1973), no acaba d'explicar com l'increment de la llargària de la via migratòria que té lloc en el cervell en expansió no s'acompanya d'un allargament de les cèl.lules migratòries, la llargària de les quals és sempre una fracció de la longitud total a recórrer.

Una explicació diferent va ésser suggerida per Rakic (1972, 78, 81), Sidman & Rakic 73, Schmechel i Rakic 1979 a, b. Aquests autors fan veure que en qualsevol estadi embrionari el creixement i desenvolupament neuronal es fa predominantment al llarg d'un eix radial que s'estén des de la cavitat ventricular fins a la perifèria. Al principi l'orientació i guia l'ofereix l'epiteli columnar pseudoestratificat de les cèl.lules ventriculars. Més tard aquest paper el poden fer les cèl.lules glials immadures i/o els processos de les neurones prèviament generades, però en les fases més tardanes ho

fan els processos extraordinàriament allargats de les cèl·lules glials radials, el pericàrion de les quals està a prop del ventricle, arribant el seu procés a implantar-se amb un peu ramificat en la zona subpial.

Tècniques sofisticades, fent servir anticossos contra la proteïna fibril·lar àcida glial han demostrat que es tracta de veritables fibres glials (Levitt i Rakic 1980).

Amb microscopi electrònic Rakic (1971, 1972) va descriure que les cèl·lules que migren estan en contínua relació amb les fibres glials radials, a través de les quals poden arribar al seu lloc de destí en el còrtex. Aquestes fibres glials estan organitzades habitualment en fascicles que consisteixen en un o dos processos glials, les prolongacions de les neurones bipolars migrant i possiblement axons aferents o eferents. Diverses neurones, en successió, es mouen al mateix temps al llarg d'una fibra glial. Es desconeix si la guia glial indica a la neurona el moment en què ha arribat al seu lloc en la placa cortical. Els agregats de cèl·lules alineades al llarg d'un fascicle radial en la placa cortical s'anomenen "mini-columnes" (Mountcastle 1979). En el telencèfal del mico el nombre d'unitats proliferatives en la zona ventricular és molt semblant al nombre de columnes en la placa cortical, i per tant a cada unitat proliferativa correspon una columna. Això es creu que és degut a la migració seqüencial de moltes generacions de neurones, totes les quals han arribat al voltant del mateix fascicle glial provinents d'una única unitat proliferativa. Per tant les guies glials minimitzen la quantitat d'informació genètica necessitada per les neurones per arribar al seu lloc correcte en el mapa de l'escorça cerebral (Rakic 1981).

En el telencèfal mamífer les fibres glials radials només existeixen durant el desenvolupament del neocòrtex. Una vegada acomplert aquest, inicien un nou cicle mitòtic (ja que la seva reproducció resta aturada durant la migració neuronal) i es transformen en astròcits fibril·lars o protoplàsmics (Ramón y Cajal 1911, Schmechel i Rakic 1979).

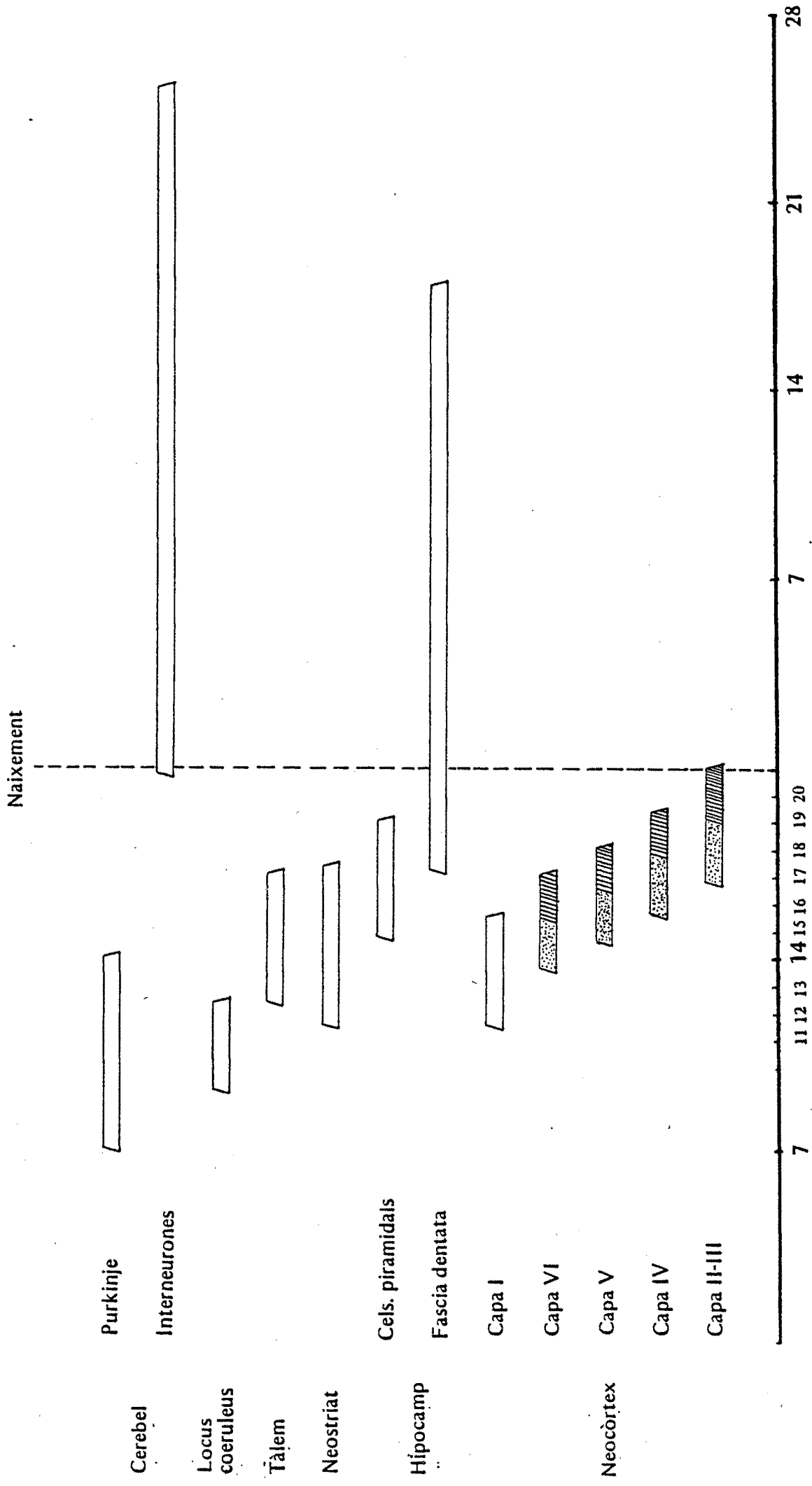
L'índex de migració cel·lular varia segons les espècies, zones i fase del desenvolupament. En la rata Hicks i D'Amato (1968) demostren que en ED 14 - ED 18 les neurones joves triguen unes 48 hores a arribar a la placa cortical i ho fan totes sincrònicament. En canvi entre ED 19 - ED 21 empren de 3 a 10 dies per arribar a la superfície. En el mico, Rakic (1975) demostrà que entre ED 40 - ED 50 les neurones joves arriben a la placa cortical quasi sincrònicament i de forma ràpida: menys de 3 dies des de l'última divisió cel·lular. En canvi la majoria de cèl·lules generades entre ED 80 i ED 85 requereixen d'una a més de dues setmanes per arribar al seu



destí, el qual és d'una durada molt més llarga del que podríem esperar per la llargària del camí a recórrer.

L'índex de migració neuronal pot variar des de 10 um/dia a 100 um/dia en dues regions telencefàliques veïnes (Nowakoski i Rakic 1980) pel que es creu que el mecanisme que determina l'índex de migració és genètic (Rakic 1977).

El fenomen de la migració ofereix algun avantatge al desenvolupament del sistema nerviós central, com és ara:

- La construcció del neocòrtex pot fer-se reduint considerablement la informació genètica necessària.
- La redistribució d'un nombre tan gran de neurones durant la seva formació dóna oportunitats per a establir relacions essencials i contactes clau que determinaran les coordenades radials i tangencials de cada neurona. Aquests contactes poden fer-se entre les neurones d'una mateixa columna o bé entre les aferències talàmiques que s'acumulen en un moment determinat sota la placa cortical i a través de les quals han de migrar les neurones joves.
- El gradient Dins-Fora afavoreix aquests contactes en tenir les neurones més tardanament generades que sobrepassar les més antigues. Per altra part, aquest fet afavoreix que les joves neurones, col·locades en la part més externa, disposin de prou espai per a diferenciar-se (Raedler et al, 1980).
- El descobriment per Mountcastle (1957) de l'estructura columnar del còrtex i de la seva importància funcional dóna peu a suggerir que la migració d'una unitat proliferativa ventricular mitjançant una única fibra glial radial, junt amb el fenomen del gradient Dins-Fora, permeten la construcció i l'establiment de contactes entre les cèl·lules de la columna (Rakic 81).
- Per a Marín-Padilla (1982) l'explicació més adient del gradient de migració Dins-Fora, basant-se en els seus treballs sobre la capa marginal, i la precocitat amb que les preneurones de la placa cortical estableixen contactes amb ella, seria l'afavorir la connexió de les neurones més joves amb la capa I mitjançant la dendrita apical. Aquest contacte seria clau per què la neurona comencés a diferenciar-se. Una vegada establert aquest contacte altres neurones més joves podrien passar sobre les seves predecessores i fer el mateix sense cap obstacle.



 Neocòrtex dorsal  
 Neocòrtex lateral

Taula I Dies d'origen dels diferents tipus neuronals en la rata.  
 Ref. (Raedler et al 1978, Altman i Bayer 1979 a, Bayer 1980 a, Berry i Rogers 1965, Johnston i Coyle 1982, Hicks i D'Amato 1968).



#### IV. DESENVOLUPAMENT I MIGRACIÓ EN L'HIPOCAMP I NUCLIS BASALS.

##### IV. a. HIPOCAMP

###### 1. Desenvolupament de l'hipocamp

L'hipocamp i la regió que l'envolta (part del subiculum, presubiculum, parasubiculum i còrtex entorrinal) constitueixen les regions filogenèticament més antigues del telencèfal. Per la seva facilitat d'identificació i senzillesa estructural ha estat ben estudiat, tan quant a les característiques histològiques (Ramón y Cajal 1911, Lorente de Nó 1933, 1934) com a la seva histogènesi i morfogènesi en diverses espècies (Hinds 1922, Filimonoff 1947, Macchi 1951, Bayer i Altman 1974, Schlessinger et al 1975, Stanfiel i Cowan 1979). L'aplicació de la radiografia amb timidina tritiada ha ampliat el coneixement dels processos de migració neuronal en aquesta part del cervell (Angevine 1965, Altman i Das 1965, 1966, Schlessinger et al 1978). Una modificació d'aquesta tècnica, el marcatge progressivament retardat (Bayer i Altman 1974) que permet el marcatge de quasi totes les neurones estudiades, ha estat emprada per Bayer (1980 a, b) obtenint els resultats més detallats fins a l'actualitat sobre la neurogènesi i morfogènesi de la regió hipocàmica de la rata.

La regió hipocàmica s'origina del neuroepiteli dels ventricles laterals en dos punts veïns i fàcilment recognoscibles en ED 16. L'un es troba a la paret dorso-medial i donarà lloc a una part del subiculum, banya d'Ammon y gyrus dentatus. L'altre es troba en la paret dorsoposterior i originarà el còrtex entorrinal i el para i presubiculum.

Les neurones de tota la regió s'originen sobreposadament en els dies ED 15 fins ED 19 principalment, tret de les de la capa granulosa de la fascia dentata, la majoria de les quals son d'origen postnatal. Així durant ED 15 a ED 17 es generen les neurones del còrtex entorrinal, en ED 16 a ED 17 les del rudiment hipocàmpic (indusem griseum i tenia tecta) en ED 15 a ED 17 les cèl.lules grosses del stratum oriens, radiatum i lacunosum-moleculare de la banya d'Ammon, ED 15 a ED 19 les cèl.lules de l'hili dentat i capa molecular del gyrus dentatus, en ED 16 a ED 19 el para i presubiculum, en ED 17 a ED 19 les cèl.lules piramidas de la banya d'Ammon i finalment les cèl.lules granuloses de la fascia dentata comencen a originar-se en ED 17, continuant fins a PD 18, generant-se encara un 10 o/o de les neurones més tard d'aquest dia, abans del naixement.

Còrtex entorrinal és un tipus de còrtex transitori, constituït per 6 capes de característiques diferents a les del neocòrtex. La capa I o plexiforme externa és semblant, la capa II conté els cossos cel·lulars de grans neurones estrellades agrupades en illes en la part més lateral i separades de la capa III per una zona pobra en cèl·lules que és menys evident en la part medial. La capa III conté piràmides de dimensió mitjana (capa de piràmides superficials de Lorente de Nó 1923). La capa IV es una zona cel·lular poc densa (làmina disecans) en la qual es troben algunes cèl·lules de tipus piramidal disperses (capa piramidal profunda de Lorente de Nó). La capa V (capa de piràmides petites amb axó recurrent, idem) i VI (capa de cèl·lules polimorfes, Lorente de Nó) contenen cèl·lules més grosses en la part lateral que en la medial. A prop de la substància blanca es troben cèl·lules horitzontals de dimensió mitjana (Bayer 1980 a, b).

Durant el desenvolupament del còrtex entorrinal les cèl·lules de la part més lateral maduren abans i gradualment ho fan les demés en direcció medial, de forma semblant al neocòrtex. S'observa l'aparició d'una placa cortical sota la capa plexiforme externa (capa I) en la part lateral de l'àrea entorrinal ED 17, i en ED 18 ja és present en la part medial. En ED 19 la placa cortical es bifurca en una part central pobra de cèl·lules (la futura capa IV) envoltada per una zona superior i una inferior riques en cèl·lules. En ED 20 la placa cortical s'ha incrementat de dimensions i en ED 21 no es distingeix transitòriament la capa IV, probablement degut a la quantitat de cèl·lules migrats que conté (Bayer 1980 b). Es comencen a veure illots de cèl·lules (capa II). En ED 22 s'afegeixen cèl·lules a la capa V, la capa III és grossa i densament empaquetada i les capes IV i V-VI son ja diferenciables. Encara s'observen cèl·lules fusiformes orientades radialment en les capes V-VI i IV fins a ED 22 indicant que encara hi han neurones migrant cap el còrtex. La maduració del còrtex entorrinal segueix també un gradient Fora-Dins com el neocòrtex tret de la capa III que s'expansiona clarament després que la II. Les neurones de la placa cortical que es generen més tard ho fan en ED 18 però la maduració de la placa és lenta.

**Para i presubiculum:** en ED 18 i ED 19 la placa cortical es corba bruscament en direcció anterior. En ED 20 la bifurcació de la placa cortical deixa de progressar en direcció medial, assenyalant els límits del còrtex entorrinal, podent-se identificar en aques dies el còrtex adjacent com pre i parasubiculum. Fins ED 22 no es distingeixen les cèl·lules superficials en aquesta zona.

**Subiculum i Banya d'Ammon:** el subiculum és una capa de cèl.lules piramidals difusa sota una ampla molecular. La capa de cèl.lules més profundes en el complex subicular es generen entre ED 15 i ED 17 i ja es veuen en ED 18 en el seu lloc, mentre que la capa piramidal continua engruixint-se en ED 19-20, el que es relaciona amb l'origen més tardà d'aquestes cèl.lules superficials.

En la banya d'Ammon el stratum pyramidale no es fa palès fins a ED 21 i continua engruixint-se fins a PD 1. El creixement més important es produeix entre ED 18-19. Els estrates oriens, radiatum i lacunosum-moleculare contenen una població de cèl.lules grans i mitjanes disperses. Totes les cèl.lules són generades simultàniament al llarg de tota la banya d'Ammon i de les tres capes (ED 15-17), prou abans que les cèl.lules del stratum pyramidale.

**Gyrus dentatus:** es compon d'un hili format per cèl.lules piramidals i polimorfes petites en la base de la capa granular i la capa molecular on es troben cèl.lules granuloses mitjanes superficials a la capa granular que se situa entre les altres dues. Les cèl.lules de l'hili i de la capa molecular s'originen abans (ED 15-19) que les cèl.lules granuloses de la cascia dentata. La porció més externa de la capa granular apareix en els dos extrems dels gyrus dentat en ED 20, mentre que la part més interna es veu en PD 1 i es desenvolupa fins als nivells adults ràpidament.

## 2. Gradients de migració en la regió hipocàmica

Les neurones joves migren des del neuroepiteli fins als llocs definitius seguint, també en aquesta regió, les guies de les cèl.lules glials radials (Nowakoski i Rakic 1979). Bayer (1980 a) ha estat capaç de descriure tres gradients neurogenètics:

a) Dins-Fora, b) Rínic a dentat, c) "Sandwich"

- Gradient Dins-Fora: en totes les estructures hipocàmiques es veu una tendència a que les cèl.lules més profundes (és a dir, les situades més prop de la substància blanca) s'originen abans que les més superficials. Per exemple, les cèl.lules de les capes V-VI del còrtex entorrinal es generen abans que les de les capes II-III-IV, com ho fan les cèl.lules profundes del para i presubiculum abans que les de les capes superfi-

cial. Les neurones del stratum oriens són generades abans que les dels stratum pyramidale en la banya d'Ammon i les mateixes cèl.lules piramidals tenen un gradient Dins-Fora entre sí. Les cèl.lules de l'hili del gyrus dentatus es generen abans que les de la capa granular.

- Gradients de les cèl.lules granulars de la fascia dentata: les cèl.lules granulars tenen un llarg temps de generació, com és típic de poblacions formades per matrius germinals secundàries, com ja s'ha descrit en la neurogènesi postnatal. Les cèl.lules que donaran lloc a la capa granular migren des del neuroepiteli prop de la zona de la fímbria fins al primordi dels gyrus dentatus, establint una nova zona germinal (Bayer i Altman 1974; Schlessinger et al 1975; Bayer 1980 b) que roman activa fins al PD 18 o més tard (Altman i Das 1965; Bayer i Altman 1974; Kaplan i Hinds 1977). Les cèl.lules granulars immadures migren radialment des de l'hili i s'acumulen en la capa granular, apilades en ordre de la més vella fora, la més jove dins, configurant un gradient Fora-Dins al llarg de tota la capa granular durant tot el seu desenvolupament.
- Gradient Rínic-Dentat: en cada estructura de la regió les cèl.lules més properes a la fisura rínica comencen a generar-se abans que les que són més a la vora del gyrus dentatus. Per exemple, en cada capa del còrtex entorrinal les cèl.lules més laterals (més "ríniques") s'originen abans que les més medials (més "dentades"), la làmina superficial del parasubiculum abans que la del presubiculum, les cèl.lules de la banya d'Ammon en la seva part CA 1 abans que les de la regió CA 3, etc. Entre les diverses estructures també s'observa aquest gradient: el còrtex entorrinal s'origina abans que el subiculum, aquest abans que la banya d'Ammon, etc.
- Gradients en "Sandwich": en algunes estructures les cèl.lules originades més tardanament semblen envoltar-se superficial i profundament per les originades abans. Per exemple en el còrtex entorrinal les capes II i IV precedeixen l'origen de la capa III; les cèl.lules piramidals de la banya d'Ammon són formades després que les dels stratum oriens i radiatum. El mateix passa amb les cèl.lules granulars del gyrus dentatus, les quals es formen molt més tard que les de l'hili i la capa molecular. Si hom accepta que les capes I i VII tenen un origen més precoç que la placa cortical, en el neocòrtex també s'observa inicialment aquest gradient (Marín-Padilla 1972).

#### IV. b. ESTRIAT

##### 1. Desenvolupament de l'Estriat

El neoestriat o complexe caudat-putamen és un derivat telencefàlic que s'origina també de la zona germinal ventricular i subventricular. En els carnívors i primats el caudat i el putamen estan clarament diferenciats l'un de l'altre macroscòpicament, passant entre tots dos la càpsula interna ben estructurada. En els altres mamífers aquesta separació no és clara i es parla més acuradament de caudat-putamen o neoestriat senzillament.

El desenvolupament del neoestriat ha estat estudiat en ratolins (*Mus musculus*, "mause"), rates, conills i micos per diversos autors (Smart i Sturrock 1979, Sturrock 1980, Fentress et al 1981, Tennyson et al 1972, Brand i Rakic 1979, Difiglia et al 1980). En el ratolí i la rata el procés és equiparable (Fentress et al 1981) i es poden distingir els passos següents:

En ED 12 es comença a veure el seu primordi, però en ED 14 poden observar-se tres zones clarament diferenciades:

- La zona ventricular, amb el seu característic neuroepiteli pseudoestratificat amb gran nombre de mitosis les quals tenen l'eix del seu fus mitòtic perpendicular a la superfície lliure ventricular.
- La zona subventricular, sota de l'anterior, conté cèl.lules relativament petites, densament empaquetades i que en molts llocs estan separades entre sí per zones acèl.lulars que es creu que poden correspondre a capilars o a processos gials radials semblants als descrits en altres parts del sistema nerviós central però que en el neoestriat no arriben a la superfície pial (Smart i Sturrock 1979). Els fusos mitòtics en la zona subventricular no estan orientats en cap direcció i la part més externa de la capa té menor densitat mitòtica.
- El primordi neoestriat, la part més lateral. El límit que els separa de la capa subventricular està poc diferenciat, existint una zona de transició constituïda per cèl.lules postmitòtiques menys empaquetades, més grans i rodones que les cèl.lules de la part interna de la capa subventricular i sense cap figura mitòtica. Les cèl.lules del neoestriat incipient són també ovals o rodones, amb un gran nucli clar, més d'un nucleol i amb separacions intercel.lulars més grans encara.

Un aspecte molt notori es la presència de dos elevacions prominents que es projecten cap el ventricle lateral i que s'han anomenat eminències gangliòniques ventriculars o més comunament crestes ventriculars, ja que no tan sols donen lloc als ganglis basals sinó que també tenen cèl.lules destinades a l'amigdala, el nucli accumbens septi, el tubèrcul olfatori i possiblement el claustre (Brand i Rakic 1979). Aquesta estructura és transitòria i consisteix en un agregat de cèl.lules matrius proliferatives que pot ésser dividit inicialment en els mamífers en una cresta lateral i una medial que comencen a fondre's caudalment i perden la seva separació en ED 16.

En ED 17 l'estriat apareix com una gran tumefacció que ocupa la majoria de la paret externa del ventricle lateral. L'àrea que conté les neurones estriades postmitòtiques s'ha expansionat considerablement, però encara es poden reconèixer les tres capes, essent encara la zona subventricular un lloc actiu de proliferació cel.lular.

Entre ED 17 i el dia de gestació s'observen dos canvis obvis:

- a) Un marcat increment del volum del estriat (degut tant al increment del nombre de cèl.lules com a l'invasió per fibres cortico-subcorticals i tàlem-corticals que el travessen, sense delimitar clarament una càpsula interna).
- b) La desaparició de la major part de la zona subventricular. Mentre en ED 17 ocupa quasi la meitat de l'estriat en el dia del naixement queda reduïda a una estreta banda lateral al revestiment endimari, la antiga zona ventricular. Pot observar-se ocasionalment alguna cèl.lula amb activitat mitòtica encara.

Amb timidina tritiada es veu que les primeres cèl.lules de l'estriat es marquen entre els dies embrionaris 10 (ED 10) i 11 (ED 11) (Sidman i Angevine 1962; Angevine i Mc Conell 1974; Smart i Sturrock 1979), però el pic de la seva producció té lloc en ED 14 (Fentress et al 1981) encara que fins a PD 1 (dia postnatal) continua la generació de neurones (Sturrock 1980).

Entre ED 14 i ED 17 la gran majoria de cèl.lules marcades, si s'examinen els fetus entre dues i 48 hores després, es troben en la capa ventricular i subventricular. En PD1, en canvi, només es pot detectar ocasionalment alguna cèl.lula marcada i tan sols en la molt reduïda zona subventricular. Fentress i cols (1981) creuen que

una proporció considerable de l'activitat mitòtica que té lloc en les zones ventricular i subventricular entre els dies ED 12 i ED 15 és destinada a engruixir la població de cèl.lules germinals en aquestes dues regions, i que no és fins a ED 16 que la majoria de cèl.lules en divisió donen lloc a neurones postmitòtiques o cèl.lules glials.

Segons Sturrock (1980) en ED 13 es comencen a identificar ja neurones joves, cèl.lules macroglials joves i micròglia, però no és fins a ED 16 quan hi ha un nombre suficientment gran de cèl.lules diferenciades per a poder fer contactes diferencials. Així, segons aquest autor, l'índex glia/neurona es aproximadament de 6 a 1 en ED 16 i ED 17, i disminueix dramàticament fins al naixement, moment en que s'atansa la relació adulta de de 0.5 a 1, degut probablement a la migració glial a altres punts de la zona, com la substància blanca.

Els processos astrocitaris s'identifiquen amb microscopi electrònic ja en ED 15, però no es poden identificar clarament astòcits fins al naixement. Els oligodendròcits es veuen per primer cop en PD 5 i el seu nombre s'incrementa fins a PD 90.

En PD 5 totes les neurones apareixen ja clarament diferenciades distingint-se grosso modo un tipus de dimensió més gran i un de dimensió mitjana (més abaix és considerat aquest punt). Amb Tim-H<sup>3</sup> es comprova que la generació de les neurones mitjanes comença en ED 14 i dura fins al final de la neurogènesis, mentre que les de dimensió gran s'originen exclusivament durant els 3 a 4 primers dies i la majoria no es marquen més tard de ED 14.

En el mico rhesus Brand i Rakic (1979) també confirmaren que les neurones grans s'originen abans que les petites (ED 36 a ED 45 i ED 36 a ED 80 respectivament).

Finalment Fentress et al (1981) varen observar que la població neuronal en l'estriat de la rata experimenta entre el quart i vuitè dia de vida postnatal una pèrdua cel.lular de l'ordre del 25 o/o, apreciand-se un nombre important de neurones degenerades amb nucli dens i picnòtic i amb poc o sense ditoplasma.

## 2. Estructura del neostriat

En les rates i ratolins, i de forma comparable els altres mamífers (Chronister et al 1976, Fentress et al 1981; Sturrock 1980; Brand i Rakic 1979), l'estriat adult està format per un agregat de neurones de dimensió mitja que constitueixen més del 95 o/o del total, i que es troben sovint agrupades en acúmuls de 10 a 30 cèl·lules. En els rosegadors, feixos de fibres tàlem-corticals i cortico-subcorticals separen aquests agragats en alguns llocs (sense formar una clara càpsula interna com els carnívors). Disperses per tot el neostriat es troben a més neurones de dimensió gran i que constitueixen el 3 o/o aproximadament del total. Tenen un citoplasma més gran i major densitat de material de Nissl. Ja que sovint en el sistema nerviós les neurones grans són les primeres a formar-se (per exemple en diencèfal - Angevine 1970; àrea septal Creps 1974; bulb olfactori - Hinds 1968) i que en aquestes estructures són cèl·lules eferents, mentre que les petites són generalment neurones locals, es va especular que les neurones grans, incloent-hi les de l'estriat, eren invariablement neurones de projecció. Bunney i Aghajanian (1976) entre altres han demostrat que això no és cert, i que en l'estriat concretament la majoria de neurones petites es projecten a altres zones, mentre que les grans constitueixen sovint circuits locals col·lèrgics (Fentress et al 1981).

## 3. Tipus cel·lulars

Estudis en el mico adult (Difiglia et al 1976, 1982), rata (Dimova 1980), gat (Kemp 1968) entre altres animals i l'home (Braak et al 1982) amb mètode de Golgi i microscopi electrònic, han permès descriure cinc tipus neuronals en l'estriat, que, encara que no coincideixen segons els autors, es poden resumir en els següents:

- Tipus I ("Spiny I"): cèl·lula mitjana, plena d'espines dendrítiques, axó amb moltes col·laterals, absència d'espines en el soma neuronal i en les parts proximals de les dendrites. És el tipus neuronal més freqüent (aproximadament un 95 o/o en el gat; Kemp 1968). Són probablement inhibidores (Difiglia 1980) i reben aferències massives de la substància negra, nuclis del rafe, locus coeruleus, nuclis intralaminars



del tàlem i còrtex telencefàlic (vs. Braak et al 1982). Els seus axons arriben fins al pàlid i la substància negra.

- Tipus II (Spiny II''): cèl.lula mitjana a gran, dendrites embolicades, espines menys abundants, presents en soma i parts dendrítiques proximals, el que els dóna la seva característica diferencial. La presència d'espines en el soma és compartit per les neurones d'estructures filogenèticament velles (cfs. Braak et al 1982).
- Tipus III: cèl.lula gran, multipolar, amb escassíssimes espines i poques dendrites, d'aspecte molt semblant a les grans neurones del pàlid. No tenen una correspondència clara amb la classificació de Difiglia (1976) en el mico. Els axons d'aquestes cèl.lules deixen l'estriat.
- Tipus IV: cèl.lules grans, les més freqüents de la seva dimensió, sense espines, pericàrio i axó, dendrites abundants i tortuoses. Axó ramificat a la vora del soma. Probablement equivalent al "Aspiny-II" de Difiglia (1976).
- Tipus V ("Aspiny-III"): cèl.lules petites a mitjanes, sense espines, amb més d'un axó que es ramifica ràpidament i poques dendrites. Probablement les neurones tipus IV i V son interneurons i participen en circuits locals. Dades recents (Aronin et al 1983) suggereixen que aquests tipus neuronals poden ésser alterats selectivament per malalties com la corea de Huntington, on aquests autors han demostrat una afectació preponderant de les neurones amb espines, romanent inalterades les aspines, especialment les de dimensió mitja (tipus V ?) que es marquen amb detectors immunològics de somatostina.

Durant el desenvolupament de les neurones sense espines poden transitoriament tenir espines que van perdent progressivament durant el seu creixement postnatal (Difiglia et al 1980).

#### 4. Migració en l'estriat

Des dels seus llocs d'origen les futures neurones de l'estriat migren més o menys radialment cap a fora (Fentress et al 1981). Així com en moltes altres zones del sistema nerviós central s'observaven gradients neurogenètics temporospacials clars (és a dir, que la posició de les neurones en una estructura concreta està relacionada

sistemàticament amb la seva data d'origen) això és més discutit en el neostriat. Brand i Rakic (1979) en el mico Rhesus no van poder demostrar cap tipus de gradient, adduint com a possible explicació el gran tamany de la zona proliferativa i la relativa proximitat del punt de destí. Smart i Sturrock (1979) o Sturrock (1980) van trobar, en canvi, en el ratolí un gradient tant lateromedial com caudo-rostral, és a dir que encara que podien observar-se neurones de qualsevol edat disperses per tot l'estriat, i que no existia un patró de producció neuronal en capes definides, la majoria de les neurones generades abans es col·locaven caudal i lateralment, mentre que les originades més tard es trobaven rostromedials.

Fentress et al (1981) en un estudi detallat, demostren tant en la rata com en el ratolí, tres gradients de generació: de caudal a rostral, de ventral a dorsal i de lateral a medial. Això no vol dir que existeixin ones de migració definides des de la regió caudo-ventro-lateral fins a la rostro-dorso-medial sinó que a mesura que es va formant l'estriat la majoria de les cèl·lules marcades es troben al llarg de les direccions citades.

La dispersió de neurones de diferents edats en l'estriat, a diferència del còrtex cerebral i cerebelós, podria ésser deguda en part a la pèrdua precoç de les fibres glials radials (Sturrock 1980) presents en el còrtex cerebelós i cerebral fins més tard (Rakic 1971, 1972, 1977).

Un fet remarcable és la presència d'acúmul de cèl·lules marcades amb timidina tritiada en l'estriat del mico rhesus (Brand i Rakic 1979) i que es creu comparable a la troballa de illes de fluorescència dopaminèrgica en el conill (Tennyson et al, 1973) i compatible amb dades electrofisiològiques experimentals en el gat (Marco et al 1973; Tennyson et al 1973) que suggereixen que aquests acúmul de l'estriat poden ser unitats estructurals i funcionals, semblants a les columnes i capes del neocòrtex (Brand i Rakic 1979).

#### IV. c. GLOBUS PÀLID

##### 1. Origen i desenvolupament del globus pàlid

El globus pàlid s'origina d'una protuberància orientada longitudinalment situada en la superfície ventricular del diencèfal, la qual donarà lloc a la part lateral

i medial del pàlid i al nucli subtalàmic, amb una seqüència rostro-caudal. El telen-cèfal que està en expansió continuada embolica i capta algunes parts del diencèfal, de forma que queda situat en una posició molt propera al putamen, en primer lloc la part lateral i després la part medial. Aquest fenomen no es considera migració veritable sinó més bé deformacions tisulars grosses per moviments de cèl·lules en massa i no una respecte a l'altra (Sidman i Rakic 1973).

#### IV d. TÀLEM

##### 1. Desenvolupament del tàlem.

El tàlem, com la resta del diencèfal, s'origina de la zona germinativa o matriu que envolta el tercer ventricle. La complexitat estructural del tàlem fa difícil l'estudi de la seva histogènesi i prova d'això és l'existència en la literatura de diverses subdivisions nuclears, la discussió sobre la presència o no de determinants gradients de formació en els seus elements, o la consideració d'alguns nuclis com pertanyents al tàlem o a l'estriat (nucli entopeduncular) segons és tractat per uns o altres autors. (Angevine 1970, Lund i Mastari 1977, Mc Allister i Das 1977, Altman i Bayer 1979, a, b, c).

L'estudi més acurat, fent servir estudis radiogràfics amb timidina tritiada injectada durant dos dies seguits en períodes escollits, amb el que s'aconsegueix marcar quasi totes les neurones estudiades, és el d'Altman i Bayer 1979, a, b, i c. Aquests autors descriuen en l'ED 14 la presència de cinc lòbuls en el neuroepiteli del tercer ventricle. Aquests lòbuls donaran lloc a determinats grups nuclears talàmics i hipotalàmics.

- El lòbul superior té dues parts:
  - a) De la primera s'origina l'epitàlem o gangli de l'habènula, amb la seva part medial i lateral. La seva histogènesi és la de durada més llarga del tàlem.
  - b) De la segona sorgeixen els nuclis del tàlem medial (antigament inclosos en el concepte de tàlem dorsal).

La majoria d'elements del tàlem i l'epitàlem tenen íntimes connexions

amb el sistema límbic i es suggereix el nom de tàlem límbic per aquestes dues estructures. En el tàlem medial es troben els nuclis anteroventral, anteromedial i anterodorsal, mediodorsal i nuclis de línia mitja.

- El lòbul dorsal dona lloc al tàlem dorsal, en el que es troben els nuclis de relleu, més laterals i els nuclis intralaminars, medials. Es reconeixen dues ones migratòries: quan la primera ja ha acabat i els nuclis de relleu hi son formats mínimament (ED 17), encara s'en veu una altra que es creu que donarà origen als nuclis intralaminars.
- El lòbul mig, per sota, dóna lloc al tàlem ventral amb una part inferior (nucli reticular) i posterior (nuclis subtalàmic, geniculat lateral part ventral, zona incerta). També es reconeixen dues ones migratòries. La primera en ED 15, dóna lloc al nucli reticular. L'altra es veu clarament un o dos dies més tard i dona lloc al cos geniculat lateral, part ventral. La resta de components és d'origen més dubtós.
- Els lòbuls ventral i inferior donen lloc a estructures hipotalàmiques.

En els primats és notable l'aparició d'un nou grup nuclear, el pulvinar, que correspon probablement al nucli lateral posterior desenvolupat, i al que alguns autors (Diamond i Hall 1969) descarreguen de les funcions de nucli de relleu clàssic per a donar-li un paper en algunes funcions associatives. Sidman i Rakic (1973) demostren que aquest nucli s'origina de l'eminència gangliònica telencefàlica.

## 2. Gradients de formació en el tàlem

Angevine (1970) va suggerir per primera vegada l'existència d'un gradient de migració Fora-Dins propi per a totes les estructures nuclears. Aquest gradient neurogenètic, al contrari del descrit en el còrtex cerebral, dóna lloc primer a les estructures més perifèriques, situades lluny del ventricle, i després a les més properes. En el tàlem, però, i degut a la seva complexitat s'ha de precisar més i parlar d'un gradient internuclear i d'un gradient intranuclear, tots dos presents (Altman i Bayer 1979).

#### Gradients internuclears:

Angevine (1970) va reconèixer 3 gradients de formació internuclears en el tàlem: ventrodorsal, claudorostral i lateromedial. Altman i Bayer (1979, a) demostren que no es pot generalitzar aquesta regla a tot el tàlem i que, encara que existixin estructures laterals d'origen precoç (nucli reticular), ventrals (zona incerta) i caudals (nucli posterior) s'observen contradiccions entre l'origen precoç del gangli habenular lateral, per exemple, i l'origen tardà de la part lateral del nucli dorsomedial, o bé entre els nuclis reuniens i romboidal (on es veu una inversió del gradient ventrodorsal) o finalment entra l'àrea pretectal i el nucli lateral, part posterior (inversió del gradient caudo rostral).

#### Gradients intranuclears:

En el tàlem dorsal (nuclis de relleu sensitiu) només s'observa un gradient caudo-rostral entre el geniculat medial i el lateral dorsal, així com en la part posterior i anterior del nucli lateral.

En el tàlem ventral es troba:

- Un gradient laterodorsal-medioventral en el nucli subtalàmic.
- Un gradient lateromedial en el nucli reticular
- Un gradient lateromedial en el cos geniculat lateral part ventral. No és definible cap gradient en la zona incerta.

En l'epitàlem es veu un clar gradient lateromedial, tant en el nucli habenular com en el medial. Altres autors com Mc. Allister i Das (1977) no troben en canvi cap gradient intranuclear epitalàmic, i la resta de dades difícilment concorden amb les exposades per Altman i Bayer (1979 a, b, c).

### 3. Divisió citogenètica del tàlem

Altman i Bayer (1979 b) basant-se en els seus estudis suggereixen que es poden distingir cinc zones en el tàlem, d'acord amb la durada del període de formació i la presència de gradients internuclears i intranuclears. Per a ells, estructures amb

temps de generació semblants provenen de matrius germinals comuns o relacionades. Tenint en compte també la data (prompte o tard) de generació i les característiques estructurals i funcionals proposen els grups següents:

- EPITÀLEM. Temps de generació prolongada (de ED 13 a ED 16 el nucli lateral i de ED 15 a ED 20 el medial). Gradient definit lateromedial intra e internuclear. Contactes amb sistema límbic i paral·lelisme pel que fa al seu prolongat període de degeneració amb l'hipotàlem.
- TÀLEM VENTRAL. Temps de generació lent (tres dies, des de ED 13 a ED 15). S'inclou al nucli reticular, el geniculat lateral part ventral, la zona incerta i el subtàlem. Gradient laterodorsal-medioventral internuclear. Funcions dubtoses, probablement motores.
- TÀLEM DORSAL. El subdivideixen en
  - Nuclis de relleu: generats després del tàlem ventral i durant només dos dies (ED 14 - ED 15), però la majoria s'origina en un sol dia (60-80o/o) No tenen gradients recognoscibles fàcilment. Son nuclis de projecció cortical. S'inclou el geniculat medial, geniculat lateral part dorsal i els complexos ventrobasal, ventrolateral i el nucli lateral part superior i posterior.
  - Nuclis intralaminals: s'originen després, en ED 15 a 16 també en 1 a 2 dies. Funcions d'activació "inespecífica" cortical. El formen els nuclis centromedià,parafascicular i central lateral.
- TÀLEM MEDIAL
  - Nuclis rostromedials: es generen després dels sistema intralaminar en ED 15-16. Inclouen als nuclis anteroventral, anteromitjal, anterodorsal, mediodorsal i paraventricular part posterior. Tret del darrer, poden ésser considerats com un sistema de relleu del sistema límbic.
  - Nuclis de línia mitja: es el grup que es forma més tard (si s'exclou el nucli habenular medial) (ED 16-17). Conté els nuclis romboid, reuniens, partenal i paraventricular part anterior. Es desconeixen les seves funcions. S'observa un gradient internuclear lateromedial.

## V. MODELS D'ALTERACIÓ DE LA MIGRACIÓ CEL·LULAR

El procés de migració gràcies al qual les neurones joves es desplacen des de les zones germinals prop dels ventricles als llocs de destí és complex i no ben comprès, com ha quedat manifest més amunt. L'estudi de les alteracions del patró normal de migració pot aportar més informació sobre el seu mecanisme íntim. És interessant de comentar les següents:

V. a. — Alteracions no induïdes: Mutació "REELER"

V. b. — Alteracions provocades experimentalment:

1. Metilazoximetanol (MAM).
2. Grabinosid de citosina.
3. 6-Hidroxidopamina.
4. Metil-mercuri.
5. Congelació per contacte.
6. Radiacions ionitzants (Rx).

### V. a. MUTACIÓ "REELER"

Aquesta és una soca de ratolins descrita inicialment per Falconer en l'any 1951, que presenta una alteració de la marxa, amb atàxia, postures distòniques i tremolor que es transmet hereditàriament de forma autosòmica recessiva. L'anomalia responsable dels símptomes és una malposició de les neurones en el cerebel, que a més està disminuït en volum global.

El fet més interessant és, però, que la diferència de les altres sis mutacions corticals conegudes en rates les quals solament afecten al cerebel, el "reeler" presenta també una mal posició sistemàtica de les neurones de tot el còrtex cerebral, (Caviness i Rakic 1978) i junt amb això la majoria de les neurones corticals semblen estar preservades, no produint-se la degeneració i pèrdua cel·lular pròpia dels altres tipus. Aquest fet dóna peu a un estudi dels mecanismes de la migració i de l'importància de la posició neuronal relativa en el còrtex com a determinant de la seva forma histològica i de les seves connexions.

El "reeler" adult té un neocòrtex amb un gruix semblant al normal però en el qual només es poden reconèixer 4 capes que de fora a dins són les següents: una externa formada per cèl.lules polimorfes, una capa de grans cèl.lules piramidals per sota, un altra de cèl.lules estelades i una darrera capa de petites i mitjanes cèl.lules piramidals barrejades entre sí i no separables (Caviness et al 1973, Caviness i Rakic 1978). La capa marginal o capa I del còrtex normal sembla no estar present en el "reeler". La simple observació de l'estructura mutant suggereix que d'alguna manera, les capes del còrtex normal semblen haver estat posades al revés, és a dir, les capes que en el "reeler" són més superficials corresponen a les més profundes del normal i viceversa. El marcatge amb timidina tritiada dels embrions de "reeler" en dates apropiades confirma encara més aquesta impressió (Caviness et al 1973). Les neurones de la capa polimorfa o externa del "reeler" s'originen al mateix temps i en llocs semblants que les de la futura capa VI del ratolí normal. El mateix succeeix amb les altres capes. A més les neurones es desplacen des de la zona ventricular fins a la placa cortical adherint-se a les guies radials gials amb una migració indistingible del normal. En el "reeler" però, les neurones que han arribat a la part més externa de la placa cortical no són desplaçades cap a baix per ones posteriors de cèl.lules més joves, sinó que per algun motiu aquestes darreres queden situades per sota de les anteriors, de forma que una determinada capa queda cada cop més allunyada de la superfície ventricular, al contrari del que passa en el còrtex normal, on les successives generacions neuronals desplacen a les profunditats les neurones formades més precoçment (Caviness i cols, 1973, 1978, 1982; Pinto-Lord i cols 1982).

L'estudi detallat de l'histogènesi del còrtex del "reeler" aporta dades interessants. Així com en el còrtex normal en formació les diferents onades de neurones marcades amb Tim-H<sup>3</sup> semblen no barrejar-se gaire entre si, en el "reeler" aquesta diferenciació segons la data d'origen no es respecta tant.

- Les zones embrionàries bàsiques en el "reeler" fins al ED 11 són iguals que en el normal però es modifiquen a partir de ED 13, presentant una superplaca cortical que es la capa més externa, amb neurones postmigratòries que donaran lloc a la capa polimorfa i que seria equivalent a la subplaca cortical del normal; una placa cortical superior e inferior dividida per una zona plexiforme intermèdia.
- La forma cel.lular: els principals tipus neuronals normals estan representats en el neocòrtex del "reeler" (Caviness 1982) i cada tipus cel.lular



és generat sincrònicament amb les corresponents dels animals normals. Es freqüent, però, l'observació de algunes aberracions en l'arborització dendrítica o en l'alienació de algunes cèl·lules piramidals que poden estar invertides completament.

Es notable que malgrat les anomalies en la seva situació en el còrtex les neurones tinguin una forma normal, el que fa pensar que l'aparició dels principals atributs de cada tipus cel·lular (piramidal, estelat, etc.) no depèn del medi que envolta la cèl·lula postmigratòria, sinó que probablement son condicionats ja abans de que les neurones joves inicien la migració (Caviness 1982).

- Tampoc el patró de connexions sembla alterar-se extremadament. Les neurones reben i emeten contactes trans-callosos i tàlem-corticals, encara que seguint trajectes diferents degut a la malposició cel·lular. Això suggereix que no és únicament la posició que una neurona ocupa en el còrtex el que determina les aferències que rebrà. Estudis electrofisiològics del còrtex visual del "reeler" demostren que les respostes corticals són essencialment normals (cfs Caviness 1982).

La causa d'aquesta malposició resta inaclorida, encara que algunes hipòtesis suggereixen alteracions en l'adhesivitat cel·lular.

Recentment Pinto-Lord et al (1982) han demostrat mitjançant estudis amb microscopi electrònic que en el "reeler" les cèl·lules postmigratòries tenen una superfície de contacte anormalment extensa amb les fibres glials radials, malgrat haver arribat ja a la placa cortical. Aquesta manca de separació de les neurones postmigratòries respecte de les guies radials obstrueix el pas de les onades cel·lulars següents, les quals per força han de situar-se en nivells més profunds. Aquest fenomen podia explicar, doncs, la malposició neuronal.

## V. b. ALTERACIONS PROVOCADAS EXPERIMENTALMENT

### 1. Alteracions induïdes pel metilazoximetanol (MAM)

L'acetat de metilazoximetanol (MAM) és l'ester sintètic d'un compost

natural que es troba en les fulles i fruits de les plantes de la família Cycadaceae. Mentre estudiaven la seva carcinogenecitat, Spatz i Laquer (1968) observaren que l'injecció intraperitoneal en rates prenyades en el dia 15 de la gestació produïa una marcada reducció en la dimensió del telencèfal de la descendència. Aquest aprimament cortical és degut a una disminució del nombre de cèl.lules que el MAM provoca matant selectivament les cèl.lules en mitosis, alquilant els àcids nucleics i molt especialment el DNA despolimeritzat (Matsumoto et al 1972). Aquest efecte tòxic és màxim al voltant de les dotze hores d'administració i és de curta duració (Johnston i Coyle 1982). Amb això s'aconsegueix una eliminació selectiva de determinats grups cel.lulars segons el moment en què s'injecta en el curs de la neurogènesi, mentre que la població mitòtica no s'altera.

Des del seu descobriment el MAM s'ha fet servir per a l'estudi de la neurogènesi del còrtex cerebral (Spatz i Laquer, 1968) (Haddad et al 1969) (Haddad et al 1976) (Johnston i Coyle 1979) (Ferrer et al 1982) (Fabregues 1983), cerebelós (Jones et al 1973, Lowell i Jones 1980) i hipocàmpic (Shing 1980). Els canvis que s'observen en el còrtex cerebral quan s'injecta MAM el dia 15 de gestació en la rata són els següents:

- Reducció de la dimensió cortical.
- Modificacions citoarquitectòniques del còrtex, com ara:
  - Pèrdua de les capes II, III i IV de forma que immediatament sota la capa I s'observen neurones piramidals grosses amb orientacions a vegades anòmales. Sota d'aquesta es troba una capa de neurones més petites, semblants a les de la capa VI del còrtex normal.
  - Engruiximent de la capa I, amb cèl.lules ectòpiques.

Segons Johnston i Coyle (1979, 1982) les alteracions observades poden ser explicades per la necrosi de les cèl.lules germinals destinades a formar les capes II a IV que té lloc al donar el MAM el dia 15. Un aspecte important que amb el MAM s'ha pogut esbrinar és el de les alteracions neuroquímiques produïdes en el còrtex. Els axons noradrenèrgics, provinents del locus coeruleus, i els colinèrgics, provinents del nucli basal de Meynert, resten iguals en nombre absolut, encara que en disminuir el volum del còrtex la seva densitat augmenta. Aquest fet, junt amb els treballs de Jones et al sobre les projeccions tàlem-corticals, sembla compatible amb una relativa independència en el creixement dels axons aferents al còrtex, els quals arriben al seu lloc de destí malgrat les cèl.lules diana siguin destruïdes abans d'iniciar la migració.

L'estudi detallat dels canvis citoarquitectònics del còrtex cerebral produïts amb el MAM, fora del dia 15 de gestació, ha estat fet per Ferrer et al (1982) i per Fàbregues (1983). Les dades més significatives després d'injectar MAM en els ED 14, ED 15 i ED 16 i examinar el cervell des de PD 1 a PD 30, són les següents:

- Hi ha una variabilitat en els efectes produïts segons les regions examinades, el que és compatible amb les diferències regionals en la data d'origen de la placa cortical.
- S'observa un retard en la diferenciació placa cortical-subplaca cortical en els animals tractats amb MAM el dia 14 i 15 de gestació (ED 14 - ED 15/MAM) i una laminació poc definida en ED 14/MAM i ED 15/MAM, mentre que es reconeixen de tres a quatre capes en ED 16/MAM.
- La capa I té un augment de la densitat cel.lular, que fa que en alguns llocs no sigui diferenciable de les altres capes. Els tipus cel.lulars són neurones piramidals petites mal orientades. Aquest augment de densitat cel.lular va disminuint progressivament de ED 14/MAM a ED 16/MAM.
- En la part mitja en els animals tractats en ED 14 i ED 15, les zones que correspondrien a les capes II, III i IV en el còrtex normal estan substituïdes per nòduls neuronals constituïts per neurones piramidals de dimensió petita i mal orientades. Aquests nòduls protueixen en la capa I en ED 15 i ED/16, donant-li un aspecte ondulant. Els nòduls predominen en ED 14 i ED 15/MAM i en ED 16/MAM s'observa un aspecte nodular menys marcat.
- En la part inferior, corresponent a la subplaca cortical i a la part inferior de la placa cortical, s'observa la presència de malposició neuronal freqüent, especialment en ED 14/MAM junt amb una certa disminució de la densitat cel.lular. Les neurones piramidals més grans del neocòrtex s'observen sota dels nòduls, en la part interna de la placa cortical. Les capes V-VI del còrtex dels animals tractats s'assemblen a la capa VI dels normals.
- Es veuen espais hipocel.lulars en la subplaca cortical que prenen una forma nodular, sense una organització definida.
- En el grup tractat en ED 16 és patent una persistència de l'organització columnar del còrtex en forma d'estries radials (en PD 4), les quals en

la part externa de la placa cortical queden culminades amb agregats cel·lulars que després (PD 8) protuiran sobre la capa I donat-li l'aspecte ondulant.

- En els tres grups d'animals s'observen ectòpies neuronals, bé aïllades, bé en acúmuls en la substància blanca i hipocamp. La incidència d'aquestes ectòpies disminueix de ED 14 a ED 16/MAM.
- El gradient de maduració piramidal i el patró de migració sengons el marcatge amb Tim-H<sup>3</sup> és ascendent com en el còrtex normal, excepte en els nòduls on és anàrquic.
- La naturalesa d'aquests nòduls és misteriosa. L'efecte del MAM encara que curt i teòricament limitat a les cèl·lules germinals destinades a les capes II a IV, també és evident sobre les capes més profundes (V i VI) i ja formades (malposició neuronal).

## 2. Malformacions corticals induïdes per L'Arabinòsid de Citosina

L'arabinòsid de citosina és un antimetabolit emprat habitualment en el tractament d'algunes leucèmies. Aquest agent es creu que actua a dos nivells metabòlics: inhibint la DNA polimerasa i interferint la funció del RNA, però probablement la majoria de les seves accions es relacionen amb la biosíntesi i funció del DNA, pel que és considerat com un agent citotòxic específic per a la fase S del cicle cel·lular (Calabresi i Parks 1980). L'arabinòsid de citosina (citarabina) s'ha emprat també com agent experimental inductor de malformacions cerebrals principalment per Shimada i cols (Shimada et al 1975, Kasusbuchi 1976, Shimada et al 1982). Analitzant les alteracions del còrtex cerebral del ratolí induïdes amb 30 mg/kg de citarabina injectats en ED 13.5 i ED 14.5 i examinant els animals des de les 12 hores fins al dia 120 troben:

- Destrucció extensa de la capa germinal a les 12 hores. En alguns llocs les cèl·lules necròtiques cauen a la cavitat ventricular.
- A les 72 hores els detritus cel·lulars ja no hi són i escomença la regeneració produint-se noves neurones. Observen estructures semblants a rosetes tant en la superfície ventricular com en el còrtex cerebral.

- En PD 1 s'observen acúmuls de neurones immadures en la part externa del parietotemporal. En diferents punts s'observen com "corrents" de neurones migratòries des de la zona matriu regenerada fins a les capes més externes del còrtex. L'hipocamp està deformat i les neurones es col·loquen irregularment, no definint una capa clara.
- En PD 5 mentre que en el còrtex normal ja no es veuen neurones migrant en aquest cas s'en veuen encara algunes, la majoria però ja ha arribat a la part més externa. Els límits entre la capa I i la II són molt irregulars veient-se protusions neuronals que envaeixen la capa I fins a la piamàter.
- En PD 10 es veu microcefàlia, aprimament cortical i anomalies arquitecturals. En el còrtex parietal les neurones no constitueixen capes definides. L'hipocamp està reduït de gruix i es veu desorganització de les cèl·lules piramidals de CA 1, CA 2 amb heterotòpies en CA 1, CA 4, stratum radiatum i capa molecular del gyrus dentatus.
- A partir d'aquest dia es veu clarament microcefàlia, agrupament neuronal anormal i persistència de columnes.

Amb Timidina-H<sup>3</sup> administrada 48 hores després de la citarabina es demostra que les cèl·lules que capten més fortament se situen en la part més externa del còrtex i també en les "columnes" de neurones migratòries.

L'estudi amb mètode de Golgi mostra arboritzacions anormals de les dendrites apicals de les cèl·lules piramidals en les capes més externes del còrtex, en els llocs on es localitzen els agrupaments i arranjaments en forma de columna. Les dendrites presenten inversió del seu curs i engruiximent de branques anormalment curtes. En l'hipocamp s'observa que les cèl·lules piramidals de CA 2 i CA 3 estenen unes dendrites apicals poc desenvolupades cap al stratum lacunosum-moleculare, mentre que les de la capa molecular s'orienta a l'atzar i tenen una arborització irregular. En conclusió es demostra:

- Una migració anormalment llarga (fins a PD 7) de les neurones destinades a l'escorça cerebral.
- Les neurones regenerades bé en la matriu ventricular bé en les estructures semblant a rosetes són les que migren a la part més externa del còr-

tex i formen agrupaments anòmals o grans columnes. La causa de l'arborització dendrítica irregular es creu que pot ser secundària a un trastorn en la sinaptogènesi, la qual junt amb el retard en la migració donaria lloc a heterotòpies permanents (Shimada et al 1982).

### 3. Malformacions induïdes per la 6-Hidroxi-Dopamina

La 6-hidroxidopamina (6-OHDA) és una neurotoxina específica de les neurones catecolaminèrgiques (noradrenèrgiques) i els efectes bioquímics que té sobre el cervell en formació (ED 17 en rates) consisteixen a depleccionar de noradrenalina (NA) de forma permanent el còrtex, així com alterar la seva síntesi i captació (Tassin et al 1975), mentre que té poc efecte sobre la inervació dopaminèrgica i serotoninèrgica del còrtex. Lidov i Molliver (1982) han emprat per primera vegada la 6-OHDA intentant verificar l'hipòtesi del paper de les aferències noradrenèrgiques, provinents sobre tot del locus coeruleus, en la maduració i histogènesi del còrtex cerebral. Injectant 136 mg/kg de 6-OHDA en rates prenyades, en el dia 17 de gestació demostren:

- Destrucció de l'inervació NA del còrtex, absència en general de canvis en la citoarquitectura, morfologia dendrítica, contactes d'espines o en les aferències tàlem-corticals.
- En un 33 o/o dels animals apareixen focus de neurones ectòpiques en la superfície cortical, per sobre de la capa II i fins i tot de la I, en la superfície pial. Les dimensions d'aquestes ectòpies varien des d'unes quantes cèl.lules fins a una extensa capa que cobreix la majoria del còrtex lateral. En alguns llocs es poden veure com "ponts" radials de neurones que connecten els agregats ectòpics amb la capa II a la qual s'assemblen les seves cèl.lules. Sembla a més que les neurones ectòpiques es situessin en l'espai subaracnoidal i es connectessin amb les capes més externes de l'escorça passant per discontinuïtats de la piamater. Aquests acúmul són funcionalment actius si es té en compte el gran nombre de contactes sinàptics que tenen. En alguns llocs les capes I i II ofereixen un aspecte ondulant. Els mecanismes per els que la 6-OHDA en ED 17 provoca ectòpies són foscos però probablement no es deuen només a la

depleció dopaminèrgica del còrtex i sí potser a algun efecte citotòxic inespecífic o a la lesió de altres vies catecolaminèrgiques (Lidov i Molli-ver 1982), donat que només es provoca en el 33 o/o dels animals i també es veuen en els animals protegits de la depleció dopaminèrgica amb desmetilimipramina.

#### 4. Malformacions corticals induïdes pel Metil-Mercuri

Com a resultat de l'intoxicació massiva per metil-mercuri produïda a l'Irak en 1971-1972 es comprovà malauradament que aquesta substància podia ésser inductora de malformacions en el SNC si els fetus en edats apropiades eren contaminats per l'ingesta materna del tòxic. Choi et al 1978 varen observar dos casos d'intoxicació durant la 8a. a 10a. setmana d'embaràs. En l'exàmen dels cervells dels nens, fets a les 7 hores i al mes de vida respectivament destacaven:

- Focus abigarrats de substància gris a dins de les leptomeninges, en les parts més profundes dels sulcus, formats per barreges de neurones i cèl.lules glials.
- CAPA I: la capa mol.lecular del cervell contenia moltes neurones piramidals i algunes semblants a les cèl.lules de Cajal-Retzius
- En moltes àrees diverses capes del còrtex cerebral tenien un aspecte ondulat, irregular. En aquests llocs la superfície cortical no tenia circumvolucions.
- En altres àrees el patró laminar normal del còrtex cerebral era substituït per una agrupació irregular vertical de neurones al llarg de totes les capes.
- CAPA II: aquesta capa contenia moltes neurones de dimensions excepcionalment grans. En totes les capes s'observava alineació irregular de bastantes neurones, és a dir, amb la dendrita apical no perpendicular i dirigida cap a la superfície pial.
- Les capes més profundes no eren fàcilment definibles i anaven barrejant-se gradualment amb la substància blanca on es troben disperses un gran nombre de neurones heterotòpiques de tipus piramidal gran, les quals eren més freqüents a mesura que s'endisaven en la substància

blanca. Altres cèl.lules més petites, immatures i fosques i de nucli rodó podien ésser vistes també en les heterotòpies.

- El tàlem, ganglis basals i el còrtex hipocàmpic eren d'aspecte normal.
- El cerebel presentava únicament un gran nombre d'heterotòpies en la substància blanca medul.lar i de les fòlies, en forma de grups o bé de cèl.lules aïllades, de tipus piramidal gran o granuloses.

Tot aquest seguit d'alteracions feien sostenir a Choi et al (1978) que la causa era una anomalia en el desenvolupament induïda pel metil-mercuri i que el mecanisme íntim responsable era un trastorn de la migració cerebral-cerebelosa i de l'organització cortical del cervell.

#### 5. Malformacions corticals induïdes per congelació per contacte

Dvorak i Feit en 1977 varen introduir un nou model experimental mitjançant el qual poden induir-se malformacions corticals. Aquest model consistia en la congelació per contacte puntual (una punta de coure de 2 mm d'amplada en el lloc del contacte) durant un o dos segons i en un o més llocs de la calota cranial del nadó de la rata.

Això provoca una necrosi total de la piamater, trombosi dels vasos sanguinis, necrosi de la capa molecular i de la capa IV (encara no estan formades les II i III) i necrosi parcial de les capes V i VI preservant-se la capa VI b (o VII) en ésser irrigada per branques profundes. Les neurones destinades a les capes II i III, les darreres en arribar a la placa cortical, es troben completant la seva migració i no es veuen afectades, formant les capes II i I del nou còrtex, el qual es caracteritza per tenir només 4 capes i s'anomena còrtex microgíric atípic (Dvorak i Feit 1977). La capa IV del còrtex microgíric atípic (CMA) la formen les neurones de la capa VI b, mentre que la capa III del CMA es forma amb les restes de la capa V-VI normals. Estudis amb Tim-H<sup>3</sup> (Dvorak et al 1978) mostren que malgrat la necrosi, les neurones joves migren seguint el patró habitual Dins-Fora, per a formar el CMA, el que fa pensar a aquests autors que els mecanismes reguladors que determinen la posició dels neuroblastes estan situats en els mateixos neuroblastes i que aquesta informació es heretada, com ho es la forma de la neurona.



La semblança entre la microgíria atípica humana (Williams et al 1976) i l'experimental és notable, així com la que s'observa entre el status verrucosus deformatis (SVD) i el SVD experimental induït pel mateix mètode descrit més amunt però aplicant a diversos punts en comptes d'un de sol. Les característiques del SVD són d'interés per al treball present. Es tracta d'una anomalia en l'estructura morfològica de l'escorça cerebral en la qual s'observen (Grcevic et al 1961) nòduls distribuïts irregularment i microsols petits. Els nòduls poden diferenciar-se en superficials, intracorticals i polimicrogírics. Els nòduls superficials produïts experimentalment per Dvorak et al (1978) no tenen quasi capa molecular i semblen estar formats per una protusió de cèl·lules de les capes II i III arranjades irregularment en la capa I. Al voltant del nòdul es veuen àrees hipocel·lulars. Les capes V i VI són normals. Els nòduls intracorticals s'observen en llocs de menys dany cortical (quan el temps de congelació va ésser de menys de 1 segon) i són protusions de la capa II sobre la capa I. Els nòduls micropoligírics es veuen quan s'agrupen les necrosis focals. Tenen l'aspecte d'estar plegats com una corona.

Dvorak et al (1978) suggereix que les protusions neuronals podrien ésser degudes a una lesió de les guies gials radials i, en els punts on aquestes fibres foren destruïdes, les neurones joves no tindrien limitació en el seu moviment i acabarien en la capa I.

La presència freqüent d'un vas sanguini en la part profunda del nòdul va fer pensar a autors com Ranke en 1905 (citats per Grevic) en la importància de les anomalies vasculares en l'origen dels nòduls. Grevic et al (1961) fan veure que l'increment en la vascularització és una troballa comú en tots els tipus de malformacions cerebrals, fet que sembla ésser recolzat per Dvorak et al (1978).

Aquests autors demostren que malgrat la necrosi i pèrdua cel·lular que es produeix no s'observa un increment en la síntesi de neuroblastes per la zona germinal i que aquest no és, per tant, el mecanisme de producció dels nòduls. Al contrari, l'increment relatiu en la densitat neuronal és degut en realitat a una disminució del gruix del còrtex microgíric o SVD per la necrosi produïda.

## 6. Malformacions induïdes per radiacions ionitzants

### 6.1. Introducció

Les radiacions ionitzants varen ésser descobertes per Roentgen en 1895 en la forma dels raigs X, els més populars avui per les seves aplicacions a l'exploració del cos humà i en el tractament d'algunes malalties. Existeixen moltes altre formes de radiacions ionitzants, des d'els raigs gamma, les partícules radioactives beta, electrons als protons i les radiacions còsmiques (Hicks i d'Amato 1966). Totes tenen en comú el fet d'ésser radiacions electromagnètiques de gran energia i velocitat, pel que poden penetrar profundament dins la matèria i interaccionar amb els seus àtoms, col·lionant o passant entre ells, i fent que l'àtom perdi un dels seus electrons orbitals, quedant amb una càrrega inestable (ionitzat). Aquesta "inestabilitat" s'exten d'un àtom a l'altre donant lloc a dissociacions en les mol·lècules i a la producció de radicals lliures, els quals tenen una gran activitat biològica encara que només estiguin presents en la cèl·lula durant una fracció infinitesimal de segon. Cada forma de radiació té la seva forma de penetrar i interaccionar amb la matèria que travessa.

Poc després de la seva descoberta els raigs X van ésser associats a la degeneració de les neurones del sistema nerviós (Rudis-Jicinski, 1902), però la seva importància en la producció d'anomalies en el desenvolupament del fetus humà no va ser ben establerta fins al treball de Goldstein i Murphy (1929), els quals van tenir l'oportunitat d'observar un gran nombre d'embarassos de dones irradiades, comprovant que era molt més freqüent la microencefàlia i el retard mental. Encara que aquesta relació va ser posada en dubte inicialment, una sèrie de treballs posteriors, tan experimentals com observacions aïllades en la clínica així com les secundàries a les catàstrofes d'Hiroshima i Nagasaki han demostrat que l'irradiació en el temps de formació del fetus és causa de malformacions i alteracions de funció que varien segons l'època de l'irradiació (Job et al 1935, L.B. Russell et al 1950, Hicks et al 1966).

### 6.2. Radiosensibilitat de les cèl·lules en formació

Malgrat que el mecanisme d'acció de les radiacions sobre els sistemes vivents és complex, en un context biològic estable els diferents tipus de radiacions a dosis

equivalents tenen uns efectes remarcablement similars entre sí. La diversitat dels efectes biològics produïts és deguda a les diferències en la resistència a la radiació o radiosensibilitat, que tenen els diversos organismes, teixits, cèl.lules i constituents cel.lulars. Ja que el concepte de radiosensibilitat pot ésser emprat de formes diverses, segons els resultats que s'espera que produeixi la radiació (per exemple mutacions, destrucció de tumors, canvis de conducta, etc) en aquest treball el fem servir per a significar la mort cel.lular induïda per la radiació.

En el context d'un mateix animal i un sistema cel.lular indèntic la vulnerabilitat als efectes letals de les radiacions ionitzants depen de dos factors: la dosi de radiació emprada i les característiques de la cèl.lula (és a dir, si està proliferant, migrant o diferenciant-se).

#### DOSIS ADMINISTRADA

La mesura de les dosis de radiació es fa bàsicament amb roentgens i rads. El roentgen, r, es l'unitat que mesura l'exposició o radiació generada, que produiria 1 unitat electrostàtica de càrrega, ionitzant 1 cm<sup>3</sup> d'aire en condicions standart. El rad en canvi és l'unitat de la dosi absorbida, i és equivalent a 100 ergs/g de material. En un animal d'experimentació com la rata, pràcticament la dosi d'exposició és equivalent a la d'absorció i per tant és indiferent parlar de roentgen o rad, sempre que es treballi en el marge d'energia de 100 a 250 kiloelectronvolts, com és habitual.

A la dosi de 10 a 40 r administrats al nadó, s'aconsegueix dies després de l'exposició un retard en el creixement de les neurones més joves, les que ocupen les capes més externes del isocòrtex (o neocòrtex) i les dendrites apicals d'aquestes neurones tenen un creixement raquític. Canvis semblants s'observen en les cèl.lules de Purkinje. Si es donen 30 R en la darrera setmana fetal es provoca una alteració permanent en la disposició i diferenciació individual de les neurones corticals (D'Amato o Hicks 1965).

Les dosis més freqüentment emprades en els treballs experimentals van de 100 a 200 r, especialment de 150 a 200 r, degut al fet que dona un espectre de malformacions fàcilment reproduïbles. Breument, amb aquesta dosi es provoca la mort de les cèl.lules en profase, prop de la superfície ventricular (G 2) i de les cèl.lules post-mitòtiques (G 1) en preparació per a la migració o ja migrant. La resta de les cèl.lules és respectat i el patró malformatiu és variable segons el dia de l'irradiació, però oscil.la entre un còrtex més prim a masses de neurones ectòpiques subcorticals, anecefàlia, anoftàlmia o hidrocefàlia (Hicks i D'Amato 1980).

Quan la dosi es de 300 a 500 R i s'administra també durant la segona part de la gestació o primers dies de vida, s'observa que un nombre cada cop més gran de cèl.lules que eren respectades amb dosis menors són afectades, i que les malformacions induïdes son severes o letals.

### CARACTERISTIQUES DE LA CÈL.LULA

Tal com s'ha considerat a l'inici d'aquesta introducció, les cèl.lules de la capa ventricular o germinal del tub neural es mouen de dins a fora i viceversa a mesura que realitzen el seu cicle cel.lular. Les cèl.lules en mitosi se situen prop de la llum, mentre que les cèl.lules en fase de síntesi de DNA (fase S) són les més externes. Les cèl.lules en espera de passar a una o l'altra fase queden entremig (G 2 i G 1 respectivament). Amb dosis de 150 a 200 r i marcant prèviament les cèl.lules en fase S amb Tim-H<sup>3</sup>, es comprova, com s'ha dit més amunt, que les cèl.lules radiosensibles son les que es troben en fase G 2 (profase) i les que estan en fase G 1, o postmitòtiques, preparades per a migrar o en fase de migració (Hicks et al 1961). En canvi les neurones joves de la placa cortical, just arribades de la zona germinal ja no són radiosensibles. Per altra part cap de les neurones del neocòrtex és ràdiosensible després del naixement.

Les neurones del cerebel tenen una conducta diferent. Donant 1000 r durant els dies 0 a 20 després del naixement es veu que no s'afecten les cèl.lules de Purkinje, de Golgi ni les cèl.lules glials de Bergmann. Les cèl.lules en cistell perden la radisensibilitat al cap de la primera setmana, mentre que les cèl.lules granuloses continuen sensibles fins a la tercera setmana postnatal. En el cerebel adult en canvi fan falta dosis de 1000 a 4000 r per provocar necrosis en la capa dels grànuls (Vogel et al 1959, 1961).

S'observa doncs una dimensió en la radiosensibilitat coincidint amb la maduració cel.lular. Altres factors són importants en el grau de malformació observat, com per exemple la capacitat de restitució i regulació de les cèl.lules primitives després de la radiació. Així l'administració de 150 r els dies 11 o 13 de gestació provoquen malformacions importants, mentre que en el dia ED 12 tot el teixit necrosat és substituït sense alteracions evidents (Hicks i D'Amato 1980, D'Amato 1982).

### 6.3. Canvis precoços en el pali després de l'irradiació

Per esbrinar millor els efectes de la radiació, alguns autors han estudiat seriadament les alteracions que es produeixen durant les primeres hores. Així Hicks i d'Amato (1966), D'Agostino i Brizzee (1966) i Takeuchi et al (1976, 1977) han treballat sobre el còrtex cerebral en formació, mentre que Jensen i Altman (1982) ho han fet sobre el cerebel.

No hi ha unanimitat entre els diversos autors respecte a les alteracions produïdes en el còrtex en formació, en part probablement degut a diferències tècniques, com per exemple la determinació de l'edat de l'embrió. Per a Takeuchi et al el dia en que es troba esperma en la vagina de la femella és el dia 0, igual que per a Schmal et al (1979). D'Agostino i Brizzee (1966) no expliquen com fan els càlculs i per a Hicks et al (1959) el primer dia esperma-positiu és el dia 1. Per altra part Takeuchi estudia rates de 14 dies d'edat fetal (ED 15 per a Hicks et al). D'Agostino et al rates de 13 dies i Hicks i D'Amato animals de 13 dies (ED 12 segons Takeuchi) fins a ED 18; aquestes diferències poden influir en els resultats.

Hicks i D'Amato (1966) estudien a intervals de 30 a 60 minuts les primeres 9 hores després de la irradiació amb 200 r en ED 13. Troben els següents canvis.

- Desaparició de totes les mitosis durant la primera mitja-hora, produint-se una uniformitat en la capa de cèl.lules més properes al ventricle. No es poden reconèixer cèl.lules en profase tardana.
- A l'hora i mitja s'observa l'exudació del material semblant al citoplasma de les cèl.lules periventriculars a dins de la llum ventricular.
- Dos a tres hores després de la irradiació es veu a tots els nivells de la zona proliferativa desestructuració de les cèl.lules que després es necrosaran, en forma de grumolls de material basòfil semblant al nucli.
- A les 4 hores la necrosi està ben establerta. Moltes cèl.lules necròtiques cauen a la llum ventricular, essent aquest fet més evident a les 6 hores. A partir de les 4 hores tornen a aparèixer mitosis. No es pot observar en cap moment necrosi de cèl.lules en mitosi.

Conclouen aquests autors que en aquests embrions joves (ED 13) i amb aquestes dosis les cèl.lules en fase G 2 tardana són les més sensibles i que aquestes cèl.lules no necessiten passar pel cicle mitòtic per expressar els efectes letals de la ra-

diació. Durant els dies ED 16 i ED 17, en canvi, un nombre cada cop més gran de cèl.lules postmitòtiques, situades en el terç extern de la zona germinal o en fase de migració esdevenen necròtiques, malgrat que aquestes cèl.lules tenen un índex mitòtic molt baix (només algunes cèl.lules migratòries es divideixen "en route") (Hicks et al 1961). Determinar exactament quina és la població neuronal que es necrosa es complica molt més que no ho sembla si com diuen Hicks et al (1966) són tres i no un els tipus de cèl.lules en fase G 2 (profase): un es el clàssic esperant la mitosi a la vora del ventricle. Un altre es el que, un cop feta la síntesi de DNA no torna a dividir-se a la vora ventricular sino que migra cap el còrtex i es diferencia, algunes dividint-se en trànsit, la majoria no. Un tercer tipus de cèl.lula G 2 és aquell que després de captar Timidina tritiada no esdevé radiosensitiva unes hores després entre G 1 i G 2 migrant.

D'Agostino i Brizzee (1966) estudiaren en rates l'efecte de 130 r en el dia 13 de gestació. Examinant amb microscopi electrònic la paret de la vessícula cerebral als 10, 40, 50, 80, 100, 120, 140, 150, 180 i 240 minuts i 1, 2, 4 i 6 dies després de la irradiació, varen trobar el següent:

- 50 minuts: disminució marcada en el nombre de mitosis al llarg de la vora ventricular.
- 100 minuts: reinici de l'activitat mitòtica, amb nivells semblants als controls. Picnosi cel.lular a tots els nivells de la paret.
- 2 - 3 hores: increment en el nombre de cèl.lules degenerades i pas al ventricle de moltes d'elles.
- 4 hores: les cèl.lules i processos picnòtics s'observen principalment en la meitat externa de la vessícula cerebral, mentre que en l' interna ja no es veuen cèl.lules degenerades i les cèl.lules matrius tornen a situar-se vora de la membrana limitant interna restaurada.

Takeuchi et al (1976) troben algunes dades discordiants, examinant rates de 14 dies (15 dies de Hicks et al 1959), irradiades amb 200 r, 1, 2, 3 i 6 hores després. Troben el següent:

- 1 hora: desaparició de figures mitòtiques en la part periventricular, pero no en les zones més externes.
- 2 hores: nombroses cèl.lules mostren signes de degeneració citoplàsmica, com grumolls de partícules ribosòmiques i nuclear, com ara acúmuls

de cromatina. Els processos cel·lulars de moltes cèl·lules també tenen signes de degeneració. Segons aquests autors la majoria de cèl·lules supervivents estan en la meitat externa.

- 3 hores: increment significatiu dels signes de degeneració descrits, amb trencament de la membrana nuclear plasmàtica. No hi ha cap cèl·lula o procés cel·lular intacte en la vora ventricular.
- 6 hores: destrucció completa de les cèl·lules lesionades, entrada a dins del líquid ventricular. Les cèl·lules supervivents estan soltes o en grups, sense cap unió entre elles. Aquests autors, recolzant-se en dades semblants obtingudes per Fujita et al (1964) en l'embrió de ratolí de 10 dies (equivalent a un de rata de 11-12 dies), creuen que solament són radio sensibles les cèl·lules en profase tardana (G 2) i que no ho són les cèl·lules postmitòtiques, diferenciant-se o migrant.

D'Amato (1982) suggereix que hi ha etapes en què un tipus cel·lular seria lesionat preferentment. Així en els fetus de ED 13-14, degut al fet que les cèl·lules primitives estan proliferant principalment, no es trobarien cèl·lules postmitòtiques lesionades, el que concorda amb les troballes de tots els autors citats. En canvi en fases més tardanes (ED 17-19) la majoria de cèl·lules vulnerables estan en fase G 1 i migrant cap el seu destí, pel que no és estrany la seva absència en els treballs de Takeuchi.

Posteriorment Jense i Altman (1982), estudiant el cerebel del nadó de la rata, on les cèl·lules proliferant, migrant i madurant ocupen capes anatòmiques definides i es pot observar en detall tot el procés, confirmen que:

- L'activitat mitòtica desapareix en donar més de 250 r.
- Les cèl·lules germinals de la part superior de la capa granular externa (la zona germinal del cerebel) i les cèl·lules premigratòries de la part inferior de la capa granular externa queden reduïdes en un 80 o/o amb 300 r, quan s'examinen 6 hores després de l'irradiació.
- Les cèl·lules granulars descendint per la capa molecular i la capa de cèl·lules de Purkinje queden reduïdes significativament a partir de 1000 r, mentre que els grànuls situats ja en la seva capa no es lesionen fins a 3000 r.

Aquestes dades fan pensar als autors que les cèl·lules mitòtiques son radio-resistents, ja que a més, les cèl·lules glials de Bergmann, que es troben dividint-se en el moment de l'irradiació, no es veuen reduïdes en nombre. Segons ells l'atur de l'activitat mitòtica és transitori (de 3 a 6 hores) i no és degut a la mort d'aquestes cèl·lules. Creuen, finalment, com Hicks et al (1961) que les cèl·lules en fase G 2 i G 1 son radiosensibles.

#### 6.4. Mecanismes d'acció de les radiacions ionitzants

L'observació de que totes les classes de teixits proliferatius són radiosensibles — és a dir, fàcil i promptament lesionables per radiacions— ha fet que es pensés que com que aquests teixits es dividien repetidament el mecanisme més probable per el que les radiacions actuarien seria lesionant el DNA (Carlson, 1954) (Takeuchi 1976). Aquesta creença ha estat posada en dubte per alguns autors com Hicks i cols (1966) al observar que les cèl·lules en mitosi no són radiosensibles a les dosis que ho son les cèl·lules en fase G 1 i G 2. Tant Hicks i cols (1966) com Jensen i Altman (1982) creuen que les radiacions poden interferir un gran nombre de processos metabòlics propis de les cèl·lules proliferant, diferenciant-se i migrant; Jensen i Altman a més suggereixen que encara que s'observa alteració del DNA després de la irradiació, aquesta és ràpidament reparada per la cèl·lula.

#### 6.5. Malformacions produïdes per la irradiació

Si la dosi aplicada es manté al voltant de 150-200 r, les alteracions produïdes varien només en funció del dia de l'aplicació. La seqüència de malformacions produïdes des del dia de gestació 7 al ED 12 es menys interessant que a partir d'aquest dia, però la resumirem breument, basant-nos en els treballs de Dekaban (1969) i Hicks et al (1957, 1966, 1980).

En ED 7 200 r provoquen graus variables d'anomalies que afecten a menys del 20 o/o dels nascuts (hi ha una reducció important del nombre de nadons perventrada) i que consisteix en anencefàlia, hidrocefàlia, ventricle únic, encefalocèle, etc. El dia 9 les anomalies afecten al 50 o/o pero fins el dia 10, segons Dekaban, no es veuen al-



teracions histològiques significatives (semblants a les que Hicks et al descriuen en els animals irradiats en ED 13).

L'exposició en ED 10 té molt menys efecte (Hicks 1954 a, b). Malgrat el gran nombre de cèl.lules destruïdes l'aspecte dels animals és quasi normal excepte per anoftàlmia i anomalies mínimes en la pituïtària. En ED 11 amb 200 r es dona lloc a una varietat d'anomalies visceral, esquelètiques i dels sistema nerviós que inclouen hidrocefàlia, encefalocèle dorsal del 3er. ventricle, defectes del crani, canal espinal i medul.lar. microftàlmia, etc. (Hicks et al 1957). Generalment aquests animals no sobreviuen. El dia 12 és remarcable per la manca d'alteracions produïdes excepte per una mida dels animals més petita. D'Amato (1982) ha examinat de nou el problema confirmant el fet però no podent explicar per què els dies 11 i 13 es provoquen alteracions i en canvi el 12 no.

Les malformacions més interessants i estudiades han estat, però les produïdes els dies 13-14, 16-17 i 20-22. Els treballs de Hicks et al (1956, 1961, 1966, 1978) van establir aquestes alteracions, que són les següents:

En ED 13-14 150 r provoquen un neocòrtex prim, masses de neurones ectòpiques subcorticals, un cos callós no creuat o deficitari i fibres aberrants des del fòrnix a l'hipotàlem. Els aspectes més curiosos són els dos primers. Les neurones ectòpiques adopten transitòriament un aspecte com de rosetes, les quals estan formades per acúmuls de cèl.lules amb característiques primitives, semblants a les de la zona germinal en ED 13 (Hicks 1961), i que es disposen al voltant d'un centre acel.lular. Aquesta forma que adopten s'assembla al tub neural primitiu. Cada roseta està formada per un nombre variable de rengleres de cèl.lules, amb les figures mitòtiques concentrades en la part més a prop de la llum, per sobre de les quals se situen cèl.lules intermitòtiques o postmitòtiques. El gruix de la roseta varia de 4 a 8 cèl.lules (Hicks et al 1959). L'origen detallat de la roseta ha esta estudiat per Hicks et al (1959), Waterson (1965), D'Agostino i Brizzee (1966) i Takeuchi et al (1977). Les rosetes s'observen clarament a partir de les 48 hores de l'irradació i es creu que l'epiteli germinal radioresistent, en perdre el suport de les cèl.lules necrosades, s'efonsa en la paret de la vesícula cerebral, formant com uns diverticles que arriben a tancar-se com un anell i que es desplacen a la perifèria (D'Agostino i Brizzee 1966, Waterson 1965, Hicks et al 1966). Les rosetes continuen produint cèl.lules que per una part migren per a engruixir el còrtex en formació, però per altra es dispersen en

totes direccions per formar masses neuronals ectòpiques de còrtex desorganitzat i desplaçat (Hicks et al 1959).

Les rosetes constitueixen la resposta malformativa inicial en molts llocs del sistema nerviós central i persisteixen al llarg de la vida fetal per acabar formant un grumoll de cèl.lules ectòpiques subcorticals.

Schmahl et al (1979) van descriure en el ratolí irradiat a més de les rosetes, àrees de necrosi a prop de la superfície ventricular on creuen que té lloc el procés de reparació. Aquestes àrees, per la disposició radial de les seves cèl.lules glials són anomenades druses. Tant les rosetes com les druses es col.lapsen a partir del naixement, però les masses subcorticals persisteixen.

En ED 16-17 quan el còrtex ja s'ha començat a formar, l'aplicació de 200 r no dóna origen a rosetes, sinó que la destrucció de moltes cèl.lules proliferatives i migratòries provoca la malformació més severa del neocòrtex dintre de l'espectre produït entre ED 11 i el naixement. El còrtex és prim, amb poca semblança amb el còrtex de 6 capes. Les fibres tàlemcorticals semblen haver-se incrementat, i fan trajectes desordenats que de vegades les fan anar a les meninges al no poder fer sinapsis amb neurones en estar dràsticament reduïdes per la radiació. Es troben neurones mal orientades i poc diferenciades o situades en acúmuls en el lloc corresponent a la capa I (Hicks 1959). Es troben també deficiències en el cervell basal i el diencèfal.

En ED 20-22 l'irradiació necrosa les cèl.lules destinades a les capes externes del còrtex, i es provoca una escorça amb deficiències en la capa II (acúmuls neuronals) i III, amb pobresa neuronal, retard en el creixement de la dendrita apical i aspecte raquític permanent, fins i tot les neurones més profundes.

**OBJECTIUS**

## OBJECTIUS

Les radiacions ionitzants administrades en dies determinats de la formació del sistema nerviós i en dosis adients provoquen un seguit de canvis remarcables en el neocòrtex i hipocamp de la rata. Aquests canvis, a més son reproduïbles si hom fa servir les mateixes condicions experimentals.

Des de 1959 en que Hicks publicà el seu treball bàsic fins avui diversos investigadors han confirmat aquests fets i aixamplat la nostra visió del fenomen (D'Agostino et al 1966, Schmahl et al 1979, Donoso et al 1982, el mateix Hicks, etc.) però alguns aspectes de les alteracions induïdes per aquest singular model experimental han rebut molt poca atenció. Per exemple s'han estudiat molt bé les seqüències de formació de les rosetes de hora en hora i de dia en dia per Hicks (1959), Waterson (1965), s'han definit els patrons d'alteració corresponents a cada dia de irradiació i s'ha arribat a conèixer quin tipus de cèl.lula es més radiosensible en cada moment. En canvi aspectes molt interessants com per exemple l'estructura dins de les masses subcorticals, les seves relacions amb l'escorça i la SB, o la definició del procés de migració neuronal en els animals irradiats no s'han estudiat fins ara. Alguns autors, com Donoso i Norton (1982) han aportat dades més recents (1982) d'aquestes masses ectòpiques emprant el ME i el Mètode de Golgi, però els seus resultats no son tan detallats com caldria esperar de la importància del fenomen.

Per a l'estudi dels mecanismes responsables d'aquestes malformacions induïdes per les radiacions ens va semblar que l'exàmen detallat d'aquestes mateixes amb el Mètode de Golgi i l'utilització de la autoradiografia amb timidina tritiada per a poder seguir la seqüència lesional acuradament serien eines molt útils, donat que aquest fenomen no s'havia practicamente examinat fins ara amb aquesta metodologia. El resultat d'aquesta feia és el que s'exposa a continuació.

## **MATERIAL I MÈTODES**

## MATERIAL I MÈTODES

Es van fer servir rates Sprague—Dawley. Per a determinar el dia de la gestació es feren frotis vaginals diaris i en cas de trobar espermatozoids se separà el mascle de la femella. Es considerà dia 1 el dia de la troballa de l'esperma en el frotis.

### Irradiació

Rates prenyades, en el matí dels dies de gestació 14, 16 i 18 varen ésser irradiades separatament, en capsos individuals apropiades a fi de limitar al mínim els moviments durant l'exposició.

L'irradiació es va fer amb un aparell STABILIPAN (SIEMENS) de radioteràpia convencional. Les característiques tècniques de l'aparell són: 250 kilovolts, amb filtre de 1 mm de coure que correspon a una capa hemireductora de 2,1 mm de coure.

Es varen administrar 200 rads a cada animal. La distància del focus a la superfície irradiada era de 50 cm. Els 200 rads es donaren a la meitat del gruix de l'animal (calculant una profunditat de 5 cm.). Per aconseguir més homogeneïtat es varen administrar des de dues portes d'entrada diferents oposades. La tasa de dosi va ésser de 60 rads per minut.

La col.laboració dels físics del Servei de Radioteràpia del Hospital de Bellvitge, Mari Cruz Lizuaín i Concepción Cinos va ésser fonamental en la correcta realització de la irradiació.

### Marcatge amb Timidina H<sup>3</sup>

Es va injectar metil-timidina tritiada (Tim-H<sup>3</sup>) a una dosi de 6 microcúries per gram de pes corporal en els diferents dies des del 16 fins al 20 de gestació, per via intraperitoneal. Els grups formats varen ésser els següents:

- Rates irradiades en el dia embrionari 14. Injecció de Tim-H<sup>3</sup> en els dies ED 16, ED 17 i ED 19.

- Rates irradiades en el dia embrionari 16. Injecció de Tim-H<sup>3</sup> en els dies ED 16, ED 17-ED 18, ED 20.
- Rates irradiades en el dia embrionari 18. Injecció de Tim-H<sup>3</sup> en ED 16, ED 17, ED 19.

Els nadons són sacrificats amb anestèsia en diferents dies de la vida postnatal, de PD 1 fins a PD 30. Per al revelat autoradiogràfic les seccions de parafina de cervells fixats amb glutaraldehyd són desparafinades i assecades, submergint-los després sense llum en gelatina fotogràfica marca Ilford K-5 disolta en aigua destil·lada en una proporció de 1 a 6. Després d'un període de secat de 4 hores es guarden en caixes negres precintades, a 40°C durant 30 a 40 dies. A continuació són revelades amb Microdol X durant 10 minuts, rentades i fixades amb tiosulfat sòdic al 40 o/o. Les seccions es tenyeixen després amb cresil violeta. Es considerà una cèl·lula com marcada quan contenia més de 15 grans de sals de plata.

#### Mètode de Golgi - ràpid

Les mostres recollides foren immerses durant 3 a 5 dies, segons l'edat de l'animal, en una barreja de tetraòxid d'osmi al 1 o/o i dicromat potàsic al 3 o/o, preparada en una proporció de 3 a 10. Seguidament es passaren a una solució de nitrat de plata al 0,75 o/o romanent en aquesta durant 2 dies.

Les peces varen incrustar-se en parafina i varen ésser seccionades en un pla coronal amb un gruix variable entre 50 i 80 micres.

#### Controls

Animals normals, no irradiats varen ésser injectats amb Timidina tritiada i processats de forma semblant per a estudis comparatius.

**RESULTATS**



## RESULTATS

### I. ESTUDI AMB HEMATOXILINA & EOSINA

#### A. Canvis morfològics en el neocòrtex i l'hipocamp

##### 1. Animals irradiats en el dia embrionari 14 (RX ED 14)

###### Examen amb H&E els dies ED 16 i ED 18

El ED 16 es veuen canvis importants respecte a l'animal control (fig. 5 i 6). El gruix de la paret de la vesícula telencefàlica està reduït, en haver-se produït necrosis severa en la capagerminal (zona ventricular i subventricular que ocupen normalment mes de les 2/3 de la paret. Les cèl.lules necròtiques són fagocitades per macròfags els quals es troben tant en el parènquima com en la llum ventricular. Les cèl.lules de la placa cortical incipient continuen en el seu lloc però degut a la distorsió soferta no mantenen la posició radial habitual.

En ED 18 el canvi més remarcable (fig. 22 i 23) es l'aparició de acumulacions de neurones immatures de forma circular i amb centre acel.lular o no que es troben fora de la capa germinal i per sota de la placa cortical. Aquestes acumulacions s'anomenen rosetes i son centres germinals ectòpics amb una capacitat generadora potencial molt gran. Des d'elles i en totes direccions es poden veure fileres de neurones immadures que s'orienten especialment cap a la substància blanca. Aquestes alteracions es descriuen acuradament en ED 22.

###### Examen amb H&E el dia ED 22

La grandària del còrtex està disminuïda moderadament respecte a la dels animals control. S'observa un seguit remarcable d'alteracions sobretot evidents en les regions subcorticals més que en el còrtex mateix.

A part de les masses ectòpiques subcorticals que en aquest grup atansen el seu màxim volum i que seran considerades més endavant és de destacar la presència encara d'un gran nombre de cèl.lules en fase de migració cap el còrtex i que en-

vaeixen pràcticament tota la capa intermèdia o futura substància blanca subcortical. La capa ventricular és mínima i ja no s'observa més que una resta incipient en la part més profunda del còrtex parietal. La capa subventricular en canvi, es pot reconèixer per les cèl.lules amb les característiques adients (nucli petit, polimorf i fosc) i que es disposen de manera com si fessin un "corrent" migratori des del ventricle, part més lateral i basal fins a la regió cortical més dorsolateral, barrejat-se amb les fibres de la substància blanca (fig. 7 a 9). En alguns talls s'observa com aquesta "corrent" es divideix i unes cèl.lules es dirigeixen cap a les masses ectòpiques subcorticals, mentre que altres van cap el còrtex (fig. 19).

La substància blanca és plena de cèl.lules amb nucli oval a fusiforme, més clar que les subventriculars generalment i que corresponen a neurones joves en migració, clarament retardada respecte als controls. Aquestes cèl.lules es disposen en petits grups de aproximadament fins a 10 i es distribueixen erràticament però en ocasions adoptant formes prou curioses. Per exemple en la fig. 20 s'observa un focus germinal ectòpic o roseta en la part dreta inferior des de la que es veu un vas que es dirigeix diagonalment fins al còrtex. El vas a part de les cèl.lules endotelials, de nucli fosc, prim i allargat té al seu voltant, com agafades, cèl.lules de característiques semblants a les migratòries i que donen l'impressió de recolzar-se en el mateix mentre van al còrtex. Aquest punt no pot ésser confirmat sense estudis amb microscopi electrònic ja que pot tractar-se de pericits. En la fig. 28 es pot observar també la disposició de les acumulacions ectòpiques als dos cantos d'un feix de substància blanca que passa sense ésser interromput pel bell mig de la mateixa. Ja que com hem dit abans, les ectòpies es formen després de la destrucció de la capa germinal per la irradiació, quan els feixos tàlemcorticals arriben a la zona intermèdia, no es estrany que aquests grups ectòpics es disposin en la situació que trobin més factible, com és ara envoltant un feix de substància blanca o un vas, completament a l'atzar. Aquesta impressió mateixa es treu d'analitzar les figs. 27, 29 i 30.

En el còrtex mateix poden distingir-se la subplaca, la placa cortical i la capa I.

La placa cortical, amb els seus elements cel.lulars bipolars forma una capa d'un gruix aproximat de 6 a 8 cèl.lules, ben apretades i ordenades en disposició vertical. Sota de la mateixa es veu la SUBPLACA CORTICAL, més irregular i constituïda per 6 a 7 capes de cèl.lules amb un nucli arrodonit i més petit. La separació entre les dues capes és més evident en el còrtex més lateral, on es veu una franja

hipocel.lular situada clarament entre la placa i subplaca corticals (fig. 8, 10).

La substància blanca i la part inferior del còrtex estan separades deficientment en diversos punts degut a la gran densitat cel.lular que té la primera. S'observen rengleres de cèl.lules de característiques diverses que s'estenen des de la substància blanca fins al còrtex, de forma puntual i perpendicular al mateix. Les cèl.lules tenen nucli polimorf fosc i petit, i altres son de nucli fusiforme clar semblant a les de la placa cortical. En aquests punts les cèl.lules generades tardanament en els focus ectòpics semblen completar correctament la seva migració per separat, però, de les de la resta del còrtex (fig. 25). En algun tall es pot veure alguna figura mitòtica situada en la subplaca cortical, a la part més profunda fet que no s'observa en el controls (fig. 10 i 11). Aquestes mitosis es troben molt a prop d'un dels centres germinals ectòpics o rosetes, pel que es probable que s'hagin produït en la roseta i després dispersat en moltes direccions des d'ella.

La PLACA CORTICAL té característiques ben definides en el còrtex més laterolateral. Cèl.lules amb nucli oval i clar, molt ben alineades en sentit vertical, paral.lelament i més grans que les de la subplaca cortical. A mesura que ens desplaçem cap a la regió interhemisfèrica es perd aquesta separació entre les dues, encara que no la diferenciació. La continuïtat del còrtex està interrompuda puntualment per feixos de substància blanca erràtics que es dirigeixen fins a la capa I. Aquestes irregularitats es poden veure més clarament en la regió interhemisfèrica, on podrien ser l'exageració del normal, és a dir, del pas del cos callós d'un hemisferi a l'altre, però sense arribar a creuar-se com en els controls (fig 13 i 14).

La delimitació entre la part més externa de la placa cortical i la CAPA MARGINAL o capa I és també difícil de fer en alguns punts del còrtex lateral degut a l'increment en la densitat cel.lular que es veu en la capa marginal en aquests animals (fig. 24 i 26). Els tipus cel.lulars son diversos:

- Cèl.lules de nucli oval clar a fusiforme de dimensió mitja orientat radialment amb diversos nucleols i que semblen correspondre a les parts més externes de la placa cortical més que no pas a la capa I i que s'observen ocasionalment en acumulacions.
- Cèl.lules horitzontals amb nucli irregular o bé oval/fusiforme més clar situades preferentment en la meitat inferior de la capa I i que són potser el tipus predominant (Cajal-Retzius?).

- Cèl.lules de nucli més petit, poligonal/rodó, més fosc, abundants en la meitat superior de la capa I, amb diversos nucleols i que poden correspondre a cèl.lules glials algunes o a neurones d'axó curt les altres. La densitat cel.lular és molt irregular al llarg de tota la capa I però són més densos en els dos terços laterals que en el medial interhemisfèric

HIPOCAMP. El neocòrtex en els talls coronals es continua en sentit medial amb l'hipocamp, després d'una breu transició pel còrtex prehipocàmpic, pràcticament inexistent en aquestes preparacions coronals i molt més manifest en els talls horitzontals.

El còrtex subicular es veu constituït per 6-7 rengleres de cèl.lules amb nucli oval a fusiforme clar. Les més externes (en aquest cas les veïnes a l'estratum oriens) son més allargades en sentit radial i les situades més a la vora de l'estratum radiatum son més rodones. Tan el subiculum com el còrtex de la banya d'Ammon estan interromputs puntualment per feixos de substància blanca. En aquests mateixos llocs, en la part de l'estratum oriens es troben rosetes que semblen empènyer cap a l'estratum radiatum travessant el pyramidale i dirigint com ones radials de cèl.lules amb nucli petit i fosc, immadures, en totes les direccions (fig. 13, 14, 17 i 18). El stratum radiatum i moleculare-lacunosum estan molt poblats per cèl.lules de dimensió més petita que les del stratum pyramidale, amb nucli polimorf i dimensió variable. El gyrus dentatus no sembla presentar alteracions.

#### Examen amb H&E el dia PD 5

Respecte al dia ED 22 (aproximadament el dia del naixement) en PD 5 s'observen canvis importants. Han desaparegut gran part de les cèl.lules que ocupaven la substància blanca incipient. En el còrtex es delimita clarament la part inferior, més madura, amb les capes V, VI, VII ben formades i s'observa una part superior corresponent a la placa cortical a punt de desaparèixer per a donar les capes superiors del còrtex. La diferència tan ben definida entre placa cortical i subplaca cortical tal com es veia en ED 22 en la regió més lateral no és ara gens evident. La capa I és d'aspecte normal i ja no té la gran densitat cel.lular que s'observava en el dia citat anteriorment. Ara la capa només té un discret increment en la seva cel.lularitat res-

pecte a etapes posteriors fet a expenses de cèl.lules de nucli petit i rodó barrejades amb altres amb nuclis horitzontals allargats o bé polimorfs petits (Cajal-Retzius?). Alguna cèl.lula està adherida a la capa pial, adoptant una forma triangle invertit semblant al de les neurones horitzontals piriformes de Cajal

Les capes més superiors, és a dir, les II, III i IV són en aquest moment poc diferenciables entre sí. Amb hematoxilina-eosina es veuen cèl.lules amb nucli rodó que formen un gruix variable de 4 a 6 sota de les quals es veu una part formada per cèl.lules d'una mica més grandària, però fins a tal punt barrejades que no és possible diferenciar-les. La part més externa de la placa cortical sembla fer ondulacions sobre la capa I, a la que semblen entrar puntualment. En aquesta mateixa part més externa de la placa cortical s'aprecien interrupcions en la continuïtat cel.lular amb zones de hipo o acel.lularitat.

En conjunt dona la impressió d'una irregular estructura columnar, perpendicular o obliquada respecte a la superfície pial, aspecte que continuarà mantenint els dies següents. La part més medial del còrtex té un aspecte més homogeni sembla dibuixar-se més clarament la placa cortical.

La capa V està formada per un gruix de cèl.lules variable de 1 a 3, amb el nucli més gran i clarament distingible de les restants capes. La seva distribució és, però, menys regular del que seria habitual ja en aquest dia en l'animal normal (fig. 31 a 34).

La capa VI està constituïda per 10 a més fileres de cèl.lules petites amb disposició vertical irregular amb alguns buits i acumulacions en el seu interior però molt més normal d'aspecte que les capes superiors.

La capa VII és distingible per les seves neurones amb nucli horitzontal polimorf mig a gran i que a diferència de l'animal normal es disposen en acumulacions de 5 a 10 cèl.lules, alternant amb espais hipocel.lulars.

**HIPOCAMP:** la banya d'Ammon està desestructurada només puntualment sobre tot en CA 1, degut a la dispersió de les cèl.lules del stratum pyramidale. Les neurones en situació ectòpica en CA 1 semblen incorporar-se a les masses ectòpiques subcorticals. Els gyrus desntat està ben constituït i l'hilus es dens en cèl.lules d'aspecte normal.

### Examen H&E en el dia postnatal 12

No hi han canvis remarcables aquest dia en el còrtex. La capa I és d'aspecte normal. Les capes II-III són encara poc diferenciades entre sí però es veu amb certa claretat la separació entre les capes II-III i la IV, la qual està constituïda per neurones de nucli més petit que les de les capes superiors i ordenades irregularment. En les regions intermèdies del còrtex s'observen agrupaments de cèl·lules i espais hipocel·lulars.

Les capes V, VI i VII són prou semblants a la descripció feta en el dia PD 5. En general aquest dia crida l'atenció l'aspecte d'estructura columnar que té el còrtex i que ja no s'observa en l'animal normal (fig. 40, 41).

HIPOCAMP: està molt ben format tret de la part CA 1 on es veu una interrupció clara de la continuïtat del stratum pyramidale degut al fet que les seves cèl·lules estan disgregades en les capes superiors i inferiors, tan cap al stratum oriens com cap al stratum radiatum i moleculare-lacunosum. Curiosament les cèl·lules més a la vora de l'inici de CA 1 són de nucli més petit, rodó i fosc que les cèl·lules ectòpiques de la part més voranera de CA 2, on són més grans i clares, semblants-se més a les que segueixen en lloc normal de CA 2 (fig. 42).

### Examen amb H&E el dia PD 20

No s'observen canvis notoris. La capa I és normal i les capes II-III són semblants al descrit per a PD 12. Les capes restants, tret de la VII on per primer cop ja no es veuen clarament les acumulacions de neurones vistes en els dies anteriors. La dimensió del cervell va creixent amb el pas dels dies (fig. 43).

### Examen H&E el dia PD 45

El còrtex té el seu aspecte definitiu, molt semblant a PD 20; es troba:

Un gruix menor del normal.

La capa I es d'aspecte normal excepte per alguna protusió puntual de la capa II sobre ella.

Les capes II-III romanen en aquesta tinció poc diferenciables entre si. Tenen un aspecte com en ondulacions, amb espais situats a la cresta de l'ona on es troba una acumulació de cèl.lules amb nucli petit, moltes orientades erràticament i que semblen entrar en la capa I, alternant amb espais (la part més baixa de l'ona) on es troben poques o cap cèl.lula i que arriben fins a la capa IV. Encara que la grandària de les cèl.lules d'aquesta capa II-III es irregular, en llocs sembla que les cèl.lules més grans tinguin tendència a situar-se en les part més inferiors, com simulant una capa III. L'incipent capa IV és en alguns punts poc diferenciable, però es veu clarament en altres formada per cèl.lules de nucli petit. La seva disposició és prou irregular i sembla la de les capes superiors.

La capa V encara que no té una densitat homogènia es, però, fàcilment reconoscible per la grandària de les seves neurones, les més grans del còrtex en aquest tall coronal i que amb la hematoxilina-eosina tenyeixen ocasionalment el seu pericàrion que té forma piramidal, amb la dendrita apical quasi sempre ben orientada perpendicularment cap a la capa marginal.

La capa VI és d'aspecte normal i en la capa VII és ara difícil reconèixer les acumulacions neuronals i fins i tot les mateixes cèl.lules que semblen haver-se dispersat dins de la capa VI.

En el dia PD 45 la dimensió global del còrtex cerebral es uns dos cops més petit que el gruix de les masses ectòpiques subcorticals.

**L'HIPOCAMP:** té en aquest tall un aspecte més normal essent només remarcable la presència d'algunes cèl.lules ectòpiques a la banya d'Ammon les quals no s'han incorporat a CA 1. El perfil de CA 2 i CA 3 sembla més irregular que normalment. Aquest tall i el de PD 20 son correlatius i no poden ésser comparats excessivament si no que son més bé complementaris. La fascia dentata és de característiques normals.

## 2. Animals irradiats en el dia embrionari 16 (RX ED 16)

### Examen amb H&E el dia postnatal 7

El còrtex s'atansa aquest dia al seu màxim grau de desorganització. La dimensió del cervell és clarament més petita del normal.

Les capes superiors formen acumulacions irregulars, nodulars, de neurones de dimensió petita a mitja i que emergeixen puntualment sobre la capa marginal, l'aspecte de la qual, excepte en aquests punts, és normal, ocupada irregularment per cèl.lules de nucli petit, polimorf de coloració variable, probablement d'estirp glial i per algunes cèl.lules horitzontals. Els nòduls arriben a interrompre la capa I formant com ponts entre la pia i les capes II-IV.

Les capes II a IV no es poden distingir entre sí, com en les fases precoces dels animals irradiats en ED 14 però l'aspecte és encara més irregular. Poden veure's acumulacions de cèl.lules petites separades per un espai acel.lular d'un altre grup de cèl.lules de dimensió més grossa, amb una desorganització màxima.

Es remarcable el fet de que en alguns llocs on manquen les cèl.lules de la part superior de les capes II-IV a la capa I i quasi en contacte amb la piamater es troba un grup ectòpic cel.lular justament per sobre del buit, com si en aquest punt la migració d'aquell grup de cèl.lules no s'hagués aturat en la capa II com és habitual i per la causa que fos hagués anat fins al límit més proper com és ara la piamater (fig. 45 i 46). En altres punts feixos de substància blanca arriben fins a la pia separant la continuïtat de les cèl.lules de còrtex (fig. 47).

La capa V es reconeix per les seves cèl.lules amb nucli gran moltes de les quals tenyeixen el citoplasma també en forma piramidal encara que no tan fàcilment com en els altres dies. En alguns punts semblen situar-se en grups.

La capa VI és d'aspecte poc cel.lular i es troben en el seu interior acumulacions cel.lulars nodulars, formades per cèl.lules amb característiques semblants a la resta.

La capa VII és poc recognoscible, la substància blanca subcortical és prima i en aquest dia la dimensió de les masses ectòpiques és menor que en ED 13. No s'observen ja cèl.lules migrant (fig. 48).



**HIPOCAMP:** la banya d'Ammon està interrompuda en diversos llocs per zones en les que les cèl·lules estan disperses en les capes superiors i inferiors. En aquest cas les interrupcions encara més freqüents són menys extenses i afecten sobre tot a CA 1 i el límit CA 2 - CA 3. El gyrus dentat està ben format.

#### Examen H&E el dia postnatal 13 i 20

Aquests dies s'observa un augment discret del tamany del cervell respecte a PD 7. L'organització cortical és, però, tan defectuosa com llavors.

La capa I no té cèl·lules anòmales excepte en els punts on els nòduls de cèl·lules de nucli ja més madur, petit i clar sobresurten des de la capa II-III a dins de la capa marginal, fins arribar quasi a la piamater (fig. 49 i 53).

Les capes II-III-IV no són diferenciables entre si i tot el gruix de la capa superior, per sobre de la V, forma agrupaments o nòduls que empenyen o no sobre altres capes, envoltats per àrees clarament hipocel·lulars.

La capa V no seria clarament reconegible a no ser per la presència d'ocasionals cèl·lules de nucli gran característiques, ja que la capa VI i la V estan barrejades (fig. 51 i 53). La desorganització respecte al patró habitual és notòria.

Les capes inferiors i la mateixa substància blanca estan, doncs, ocupades per acumulacions ectòpiques de cèl·lules amb aspecte nodular irregularment distribuïdes, o sense cap forma clara. No es veuen, en canvi, masses ectòpiques tan grans com les observades en dies previs (fig. 50).

L'hipocamp és d'aspecte semblant al dit en PD 7.

#### Examen H&E en el dia postnatal 45

La capa I és normal tret d'algunes interrupcions puntuals per cèl·lules de les capes II-III.

Les capes II-III, mal definides, estan formades per neurones que en aquesta tinció dibuixen el seu cos, de tipus piramidal petit a mig, amb una orientació irregular de la dendrita apical però majoritàriament dirigida cap a la capa I. No hi ha aline-

ció, s'observa probresa cel.lular i persistència de l'aspecte columnar. En alguns punts semblen disposar-se en cercle amb centre hipocel.lular i en altres prenen una forma ondulada (fig. 55, 58).

La capa IV es pot delimitar entre les veïnes per les característiques cèl.lules petites d'aspecte no piramidal. Sota s'observen les cèl.lules grans piramidals de la capa V, potser més irregular i menys densa dl normal.

La capa VI té un gruix i densitat un xic menors del normal. No es pot definir la capa VII. Es veu una petita massa ectòpica subcortical (fig. 56).

El còrtex hipocàmpic es mostra més desestructurat en CA 3, CA 2 amb la característica dispersió per les capes inferiors i superiors al stratum pyramidale. El gyrus dentat és d'aspecte normal

### 3. Animals irradiats en el dia embrionari 18 (RX ED 18)

#### Examen amb H&E el dia postnatal 5

L'aspecte del còrtex és encara força immatur. En la part lateral es veu bé la capa VII, formada per cèl.lules de nucli oval gran amb tendència a estar col·locades horitzontalment i no en acumulacions com les observades en els dies anteriors. La capa VI és ampla, constituint uns 2/5 del gruix total, amb densitat variable en el seu interior, però globalment amb un aspecte prou normal. La capa V amb les seves cèl.lules característiques, formant un gruix de 1 a 3 neurones. Per sobre d'aquesta es veu en la part lateral més que en la medial, un espai hipocel.lular puntualment interromput per petites acumulacions cel.lulars, i que separa la capa V de les capes superiors. Aquesta separació hipocel.lular disminueix fins arribar a desaparèixer a mesura que ens desplacem cap el còrtex interhemisfèric (fig. 59). Les capes superiors, que constitueixen la placa cortical no diferenciada estan formant una capa de cèl.lules densament empacades, de 4-6 cèl.lules de gruix, petites amb nucli fosc i de forma variable: les més superiors rodones a ovals, les més inferiors ja amb forma triangular recognoscible i més grans que les anteriors, altres semblants a les més superiors, però totes orientades verticalment, perpendiculars a la piamater.

La placa cortical en la part superior es continua amb la capa marginal. El límit entre les dues està ben definit en la regió lateral excepte per molt discre-

tes ondulacions puntuals, i la cel.lularitat de la capa I és normal però en determinades zones un nombre anòmal de cèl.lules que sembla haver-se després de la placa cortical ocupa la zona marginal.

La irregularitat de la placa cortical creix progressivament cap a la regió interhemisfèrica, veient-se acumulacions puntuals intercalades amb zones hipocel.lulars, primer i amb pèrdua de la separació placa cortical - capa V, amb presència de grumolls (nòduls) irregulars per sota i per sobre de la placa cortical, la qual cada cop és menys definible. Més a la vora de la regió interhemisfèrica fibres de substància blanca subcortical tallen en dos la placa cortical, atravesant-la fins arribar a la capa marginal. Sembla doncs, que en la part interhemisfèrica hagi sofert més que la lateral el dany produït per la radiació (fig. 61).

Un efecte diferent en les dues parts del còrtex és previsible per la diferent edat de maduració de l'una i l'altra com s'ha descrit en l'introducció.

HIPOCAMP: es d'aspecte quasi normal excepte per una lleugera dispersió en CA 1 i per una petita ectopia puntual (fig. 59 i 60).

#### Examen H&E el dia postnatal 12

Ja no es veu la placa cortical, la qual ha estat substituïda per les capes II-IV que són poc diferenciables entre sí, irregulars i amb un aspecte de columnes verticals, de vegades constituïdes per 2 a 3 fileres verticals irregulars de cèl.lules. A mesura que hom es desplaça cap a la regió interhemisfèrica sembla que les columnes són més irregulars i s'observen zones hipocel.lulars alternants amb "nòduls" en les capes superiors (fig. 62). Dins d'aquests nòduls no s'observa cap ordre, ni d'acord amb la dimensió cel.lular ni amb cap altra mesura. Les capes V i VI són recognoscibles; la VII es veu encara amb una densitat normal però més irregularment distribuïda que en els controls, si tenim en compte la situació cel.lular.

El còrtex té un gruix semblant al normal. Les capes profundes estan ben organitzades. La capa VI té una distribució irregular amb agrupacions i zones hipocel.lulars ocasionals. La capa V és reconeix bé però està adaptada a l'irregularitat de les capes superiors. Per sobre de la capa V es pot veure encara aquest dia una franja hipocel.lular que les separa clarament. L'aspecte de les capes superiors és en ondu-

lació sobre la capa I. En general recorda una mica el "status verrucosus deformis" amb un aspecte columnar persistent.

#### Examen amb H&E el dia postnatal 20

No s'observa diferències importants. L'aspecte columnar és ben aparent. La capa VII és menys cel.lular i s'observen nòduls en la meitat superior del còrtex (fig. 63 i 64).

#### Examen amb H&E el dia postnatal 45

Persisteix l'aspecte descrit en PD 12. Nòduls intracorticals i aspecte ondulat de les capes superiors. Les neurones tenen una orientació irregular de la dendrita apical com es fa aparent amb l'H&E en els animals més grans en tenyir-se el cos neuronal junt amb el nucli (fig. 65 i 67). L'hipocel.lularitat és un fet que cal no oblidar en descriure l'aspecte global del còrtex. Com ocorria en les preparacions dels animals de la mateixa edat però irradiats en altres dies, les cèl.lules de la capa VII semblen haver-se dispersat en el mig de la substància blanca i en la capa VI. La capa I està puntualment aprimada per acumulacions de neurones de les capes II a IV.

L'hipocamp té l'aspecte desestructurat puntual en CA 1 de la banya d'Ammon degut a la dispersió de les cèl.lules del stratum pyramidale en les capes superiors i inferiors. La resta és normal (fig. 66).

## B. Canvis morfològics induït per radiació: masses ectòpiques subcorticals.

### 1. Animals irradiats en el dia embrionari 14 (RX ED 14)

#### Examen amb H&E el dia ED 22

Una de les característiques principals de les malformacions induïdes per radiació en la vida embrionària en la rata és l'aparició d'importantes masses cel·lulars en la regió voranera al ventricle lateral en situació ectòpica. Aquestes masses poden arribar a tenir en ED 22 el mateix gruix que té el còrtex. Aquest dia i en els animals irradiats en ED 14 s'observa la presència d'un seguit important d'alteracions en les regions subcorticals. Per una part es veu un gran nombre de cèl·lules en posició anòmala en la substància blanca, probablement completant la seva migració. Es veuen també acumulacions cel·lulars característiques, amb centre clar o hipocel·lular, anomenades rosetes i que són en realitat centres germinatius ectòpics produïts per la necrosi per radiació de la capa germinal en aquets dies. Es poden distingir en aquest animal dos tipus de rosetes o grumolls cel·lulars germinatius:

- La roseta típica constituïda per tres o més fileres concèntriques de cèl·lules amb nucli fosc, poliform i petit, i situades en la substància blanca subcortical envoltant un centre acel·lular.
- Acumulacions cel·lulars atípiques, d'aspecte semblant a la roseta però més irregulars i sense centre acel·lular (fig. 14 a 21).

Aquests focus germinals ectòpics se situen sobre tot en la substància blanca i semblen generar com rengleres helicoidals de cèl·lules que es dispersen en totes les direccions. Algunes rosetes queden incloses en l'interior de les masses subcorticals.

Una observació interessant és que les cèl·lules que rodegen la roseta estan en alguns punts orientades una davant de l'altra seguint una mateixa direcció. Es veu com aquestes cèl·lules que parteixen de la roseta arriben fins a les capes inferiors del còrtex des de la immediata substància blanca subcortical. Les cèl·lules no segueixen però, una direcció vertical ascendent, més senzilla i directa, sinó que més bé semblen penetrar en ell en un punt més distant (fig. 25 i 27 a 30).

Les masses ectòpiques subcorticals se situen en els talls coronals entre el neocòrtex lateral i els ventricles i aquest dia tenen el mateix gruix que tota la substància blanca i la placa i subplaca cortical juntes. Estàn formades per una gran acumulació cel.lular irregular i sense organització distingible a primera vista. Poden definir-se algunes diferències entre les seves parts. Es troben en primer lloc en la part més externa d'aquestes masses uns nòduls grans en nombre variable i que s'estenen des de quasi la vora ventricular fins a la substància subcortical en la que semblen endinsar-se (fig. 13). Estàn constituïts per cèl.lules d'aspecte madur amb nucli clar, rodó a polimorf i gran. Els nòduls estan separats uns dels altres per cèl.lules d'aspecte més immadur i que formen una filera definida que sembla originar-se en rosetes típiques o atípiques situades en la substància blanca subcortical, o en el mateix gruix de les masses ectòpiques, en la seva part més externa (fig. 14 a 16)

Mentre que en el còrtex lateral es distingeix bé la placa cortical amb les seves cèl.lules bipolars allargades amb forma de fus i densament empacades, en les masses ectòpiques del mateix tall aquestes no poden distingir-se clarament, però predominen en les parts més perifèriques dels nòduls. Els tipus cel.lulars que es poden reconèixer són semblants als de la placa i subplaca cortical, no essent possible identificar les cèl.lules horitzontals de la capa I.

En els llocs on predomina l'aspecte de nòdul gran i circular es poden arribar a veure de 3 a 5 d'aquests cercles els quals se situen preferentment en la part més externa del conjunt de la massa ectòpica. El límit entre un nòdul i l'altre es quasi sempre prou definit, especialment perquè els espais entremig estan ocupats per cèl.lules de característiques diferents, més fosques, allargades i petites i situades una davant de l'altra com en renglera que rodeja el nòdul (fig. 16). La part central d'aquests nòduls està formada per una barreja desordenada de neurones de nucli clar, gran i rodó a polimorf, semblants a les de la subplaca cortical. No es pot definir a dins seu una distribució per dimensió o forma. En alguns centres és més hipocel.lular que la perifèria. Les cèl.lules de característiques més immadures que com hem dit envolten els nòduls, semblen originar-se en els centres germinals ectòpics o rosetes les quals es troben situades variablement, però sempre al voltant dels nòduls, en la substància blanca subcortical o en l'interior de la mateixa massa ectòpica subcortical (fig. 14 a 16).

El terç ventricular de la massa ectòpica no té l'aspecte nodular dels dos terços superiors, ni cap forma definida. En aquesta part però, hi ha una tendència que

s'hi trobin cèl.lules amb nucli més petit que en el centre dels nòduls. El gruix d'aquesta part varia molt, entre 5 a 15 capes irregulars de cèl.lules. Puntualment apareixen restes probables de la capa germinal ventricular (fig. 14) (cèl.lules orientades verticalment ben juntes i amb nucli fosc i fusiforme), però en la majoria de llocs hi ha una separació acel.lular entre el ventricle i la primera capa de cèl.lules.

La densitat de la massa no es homogenia oscilant entre zones de gran cel.lularitat amb altres en les que no es troben quasi cèl.lules (fig. 15).

#### Examen H&E dia postnatal 5

S'han definit més els nòduls i diferenciat de la resta de la massa ectòpica. La proporció s'ha invertit i està ocupada per la porció no nodular en uns dos terços del gruix total. Respecte a ED 22 es veu que han madurat i es distingeixen ja algunes cèl.lules que per dimensió i forma correspondrien a la capa V del còrtex normal i que se situen en la part més llunyana del ventricle lateral, de forma irregular. En l'interior dels nòduls es veuen més difícilment aquestes cèl.lules piramidals grans i la majoria de cèl.lules tenen nucli mig polimorf i clar i estan situades irregularment. Feixos de substància blanca que parteixen de la regió subcortical entren a dins de les masses i rodegen alguns dels nòduls separant-los de la resta de teixit ectòpic.

D'aquest dia cap endavant els canvis que s'observen són mínims, veient-se una pèrdua de l'aspecte de grans nòduls i de la diferenciació entre aquests i la resta de massa ectòpica, no essent possible diferenciar tipus cel.lulars.

La irradiació en els dies ED 16 i ED 18 no produeix masses subcorticals ectòpiques, excepte en ED 16 en què es veu una mínima acumulació d'aspecte oval a la vora mateix del ventricle i amb un gruix màxim de 8-10 cèl.lules (fig. 48).

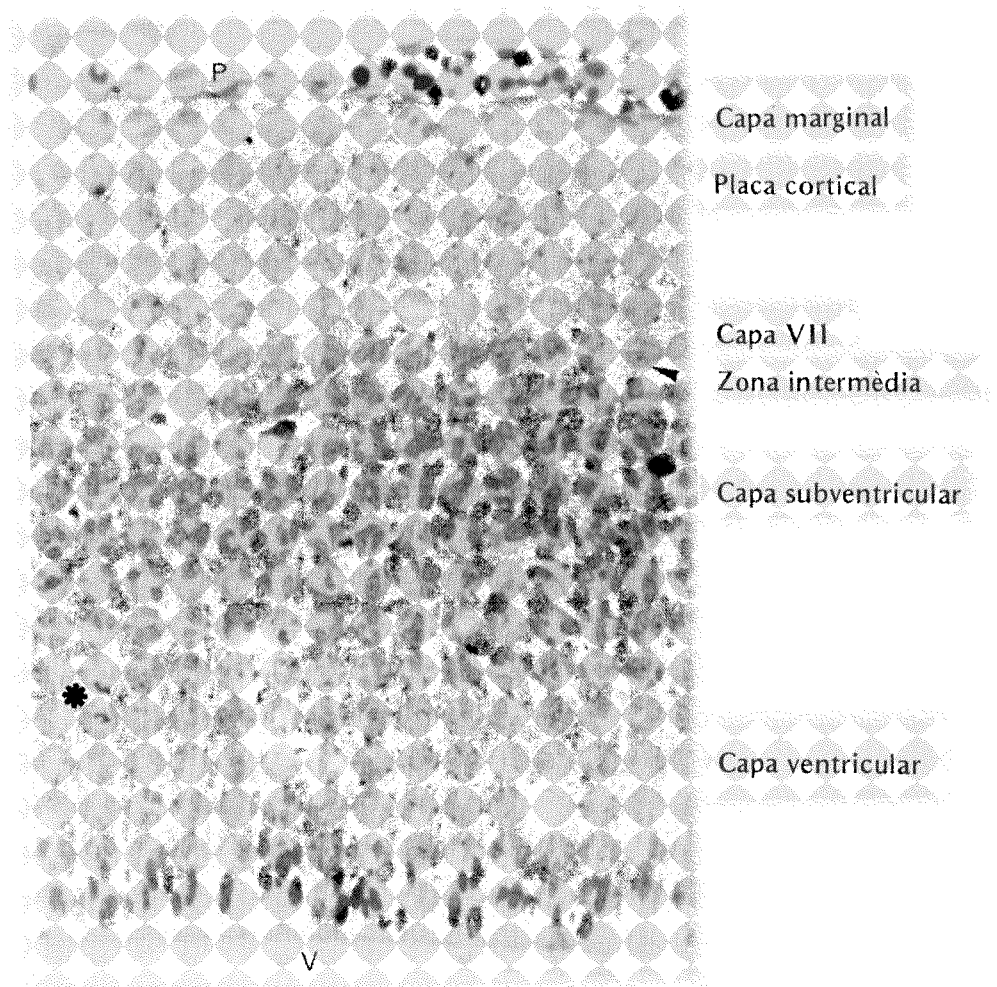


Fig. 1 — Animal control ED 16. Aspecte de la paret de la vesícula telencefàlica. La capa marginal conté cèl·lules amb nucli horitzontal de gruix variable. Els elements de la placa cortical (PC) es distingeixen per l'orientació radial, el nucli oval allargat, sovint amb diversos nucleols. El gruix de la PC varia entre 5 a 8 cèl·lules. Sota la PC es veuen algunes neurones amb nucli horitzontal (cap de fletxa), més madures que les de les capes inferiors i que corresponen a la capa VII. La zona intermèdia, de menys cel·lularitat i la capa subventricular, de gruix considerable i amb neurones sense arranjament radial i nuclis polimorfs i foscos ocupen les parts immediatament inferiors a la PC. Les separacions entre la PC i la zona intermèdia i entre aquesta i la capa subventricular no estan ben definides. La capa ventricular es reconeix pel seu arranjament radial i per l'aspecte fusiforme i prim del seus nuclis. Una figura mitòtica es pot veure clarament (asterisc). V: ventricle; P: piamàter. (Tinció de Richardson x 400).



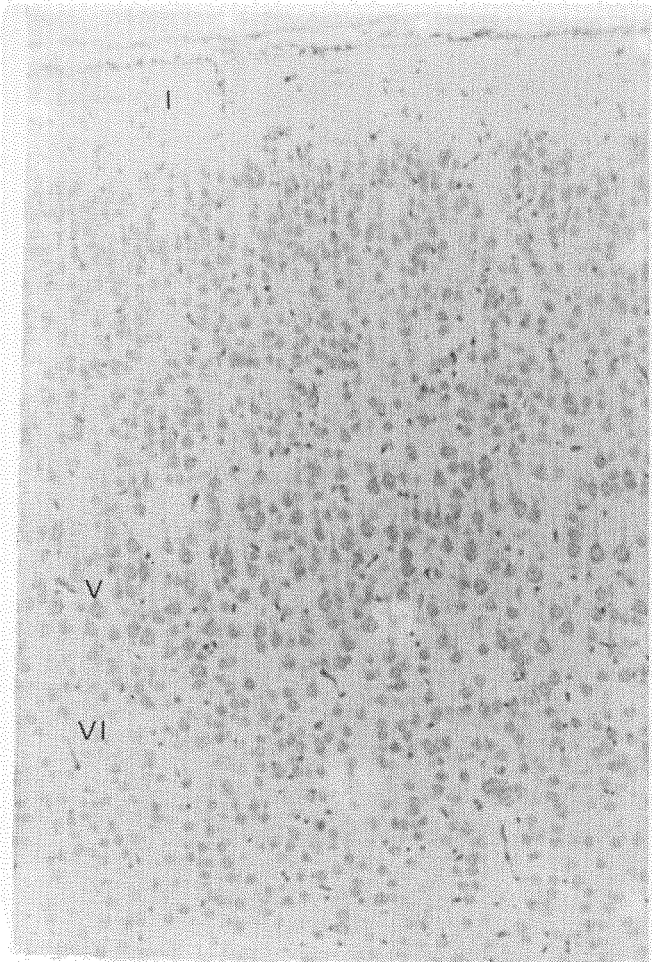


Fig. 2 — Animal control PD 7. Neocortex.

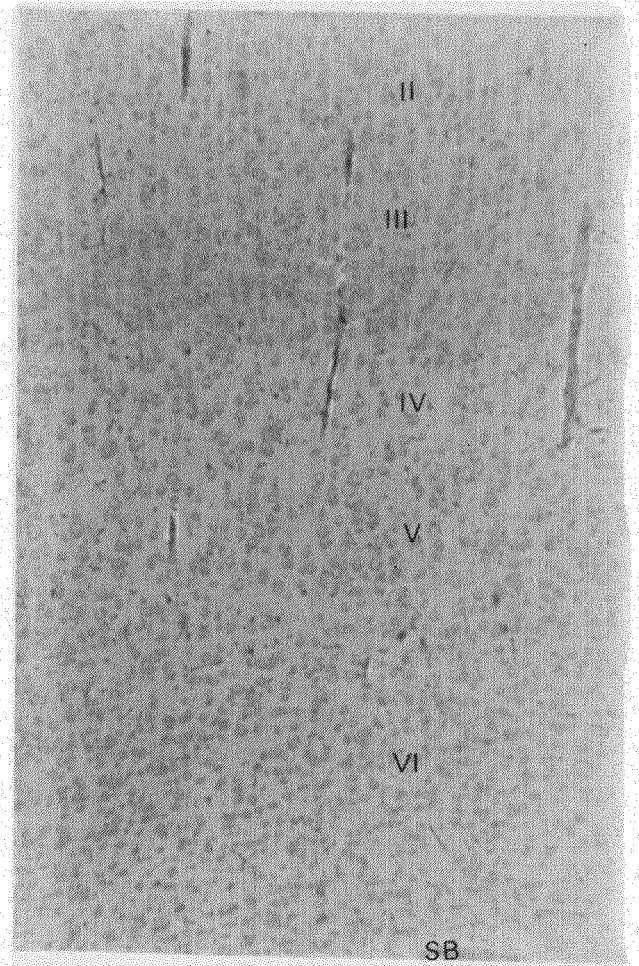


Fig. 3 — Animal control PD 15. Neocortex.

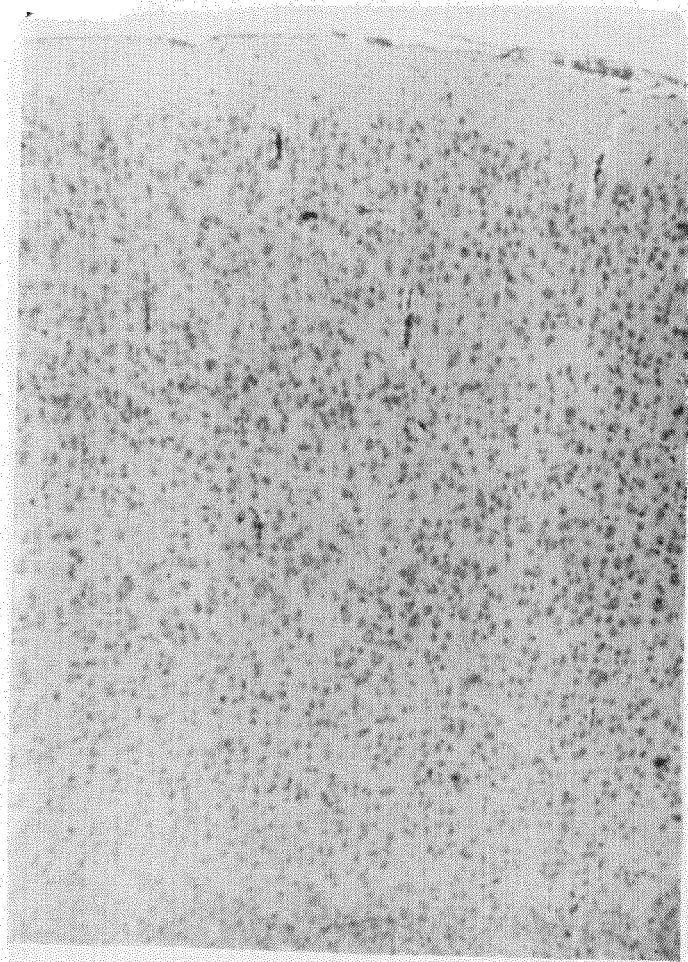


Fig. 4 — Animal control PD 30. Neocortex.

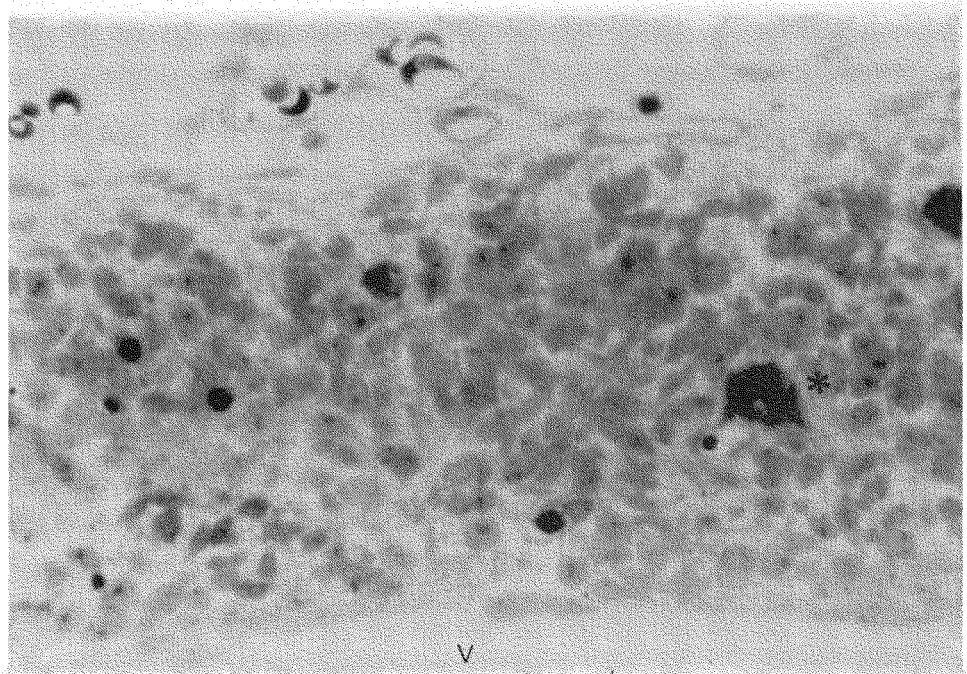


Fig. 5 – RX 14 ED 16. El gruix de la paret de la vesícula cerebral està disminuït (comparar amb l'animal control) degut a la necrosi cel.lular induïda per la radiació. Es veuen macròfags (asterisc) dins el parènquima, fagocitant el material necròtic. (Tinció de Richardson x 400).

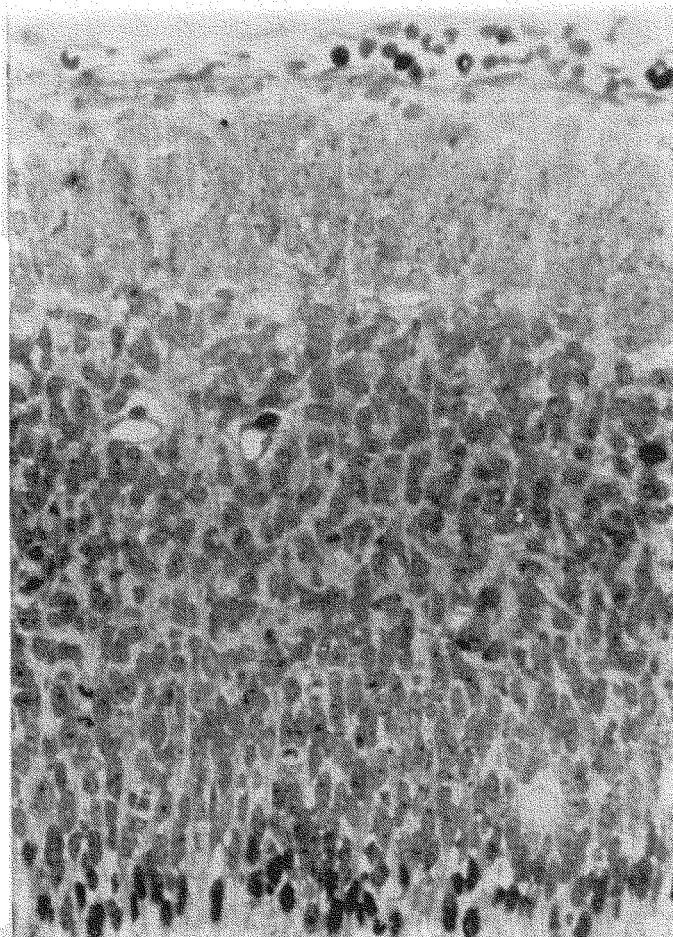


Fig. 6 - Animal control ED 16. (Veure descripció en figura 1).





Fig. 7 – RX 14 ED 22. Zona germinal ventricular (1) i subventricular (2) des de les que s'origina un nombrós grup de petites cèl.lules (cap de fletxa) que arriba fins a la substància blanca (SB) sota del neocòrtex (N). Ventricle (V), plexe coroidal (P) còrtex olfatori (O), nuclis amigdalí (A), hipocamp (H) massa ectòpica subcortical (asterisc). H&E x 40.

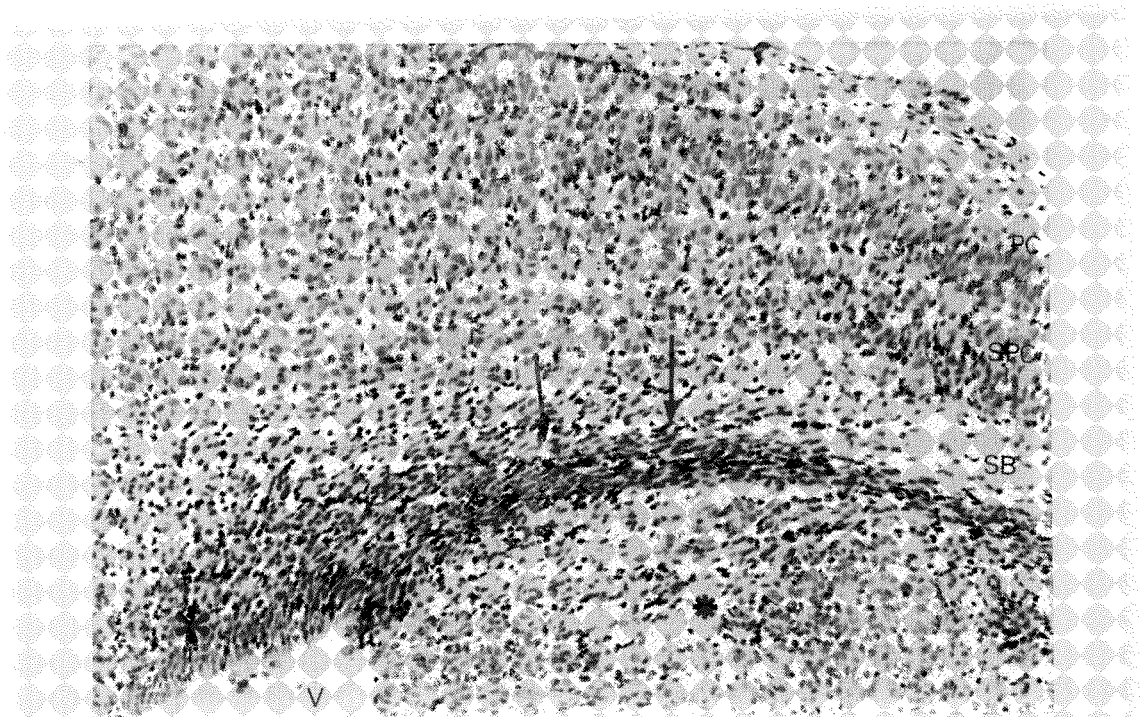


Fig. 8 – RX 14 ED 22. Detall de la zona germinal (asterisc gran). Les cèl.lules originades son homogènies, amb nuclis petit i fosc, densament agrupades i compatibles amb cèl.lules migratòries (fletxa). Placa cortical (PC), subplaca cortical (SPC), substància blanca (SB) i massa actòpica subcortical (asterisc petit). H&E x 100.

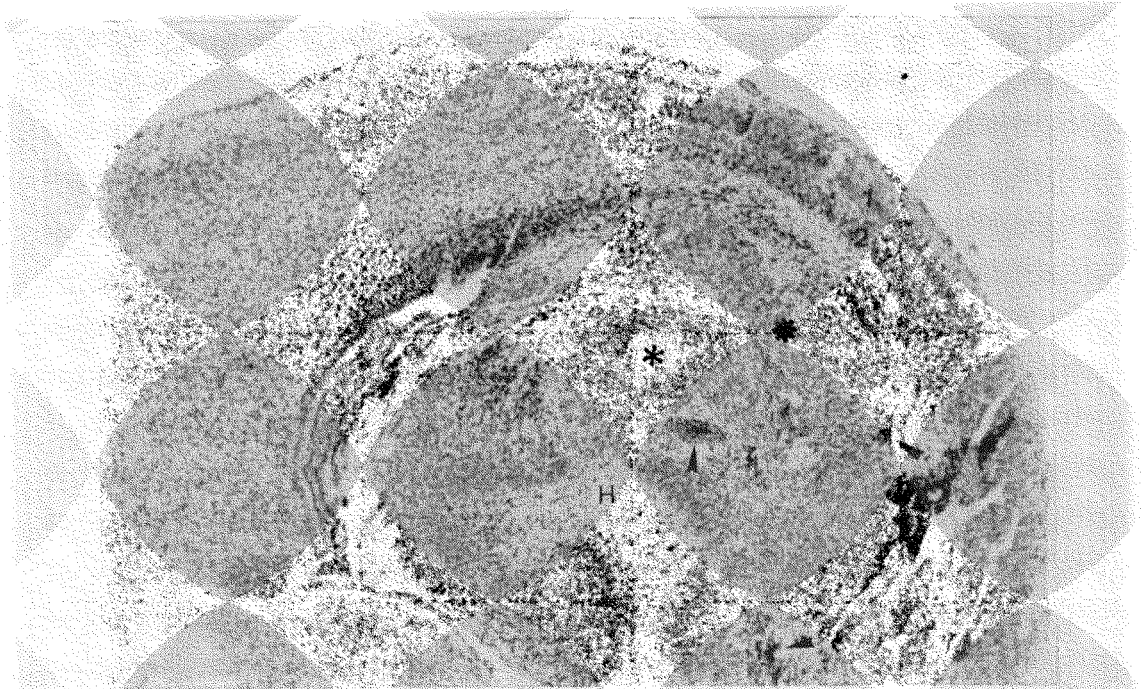


Fig. 9 – RX 14 ED 22 – Una altra preparació mostrant la zona germinal, les cèl·lules migratòries i la regió hipocàmica, entre la qual i el neocòrtex es troba acumulació anormal de cèl·lules (asterisc fosc) i una zona circular amb centre acèl·lular (asterisc clar). Dins de l'ectopia es poden veure grumolls de cèl·lules amb nucli més fosc que corresponen a zones germinals ectòpiques (caps de fletxa). Placa cortical (1), subplaca cortical (2), hipocamp (H). H&E x 40.

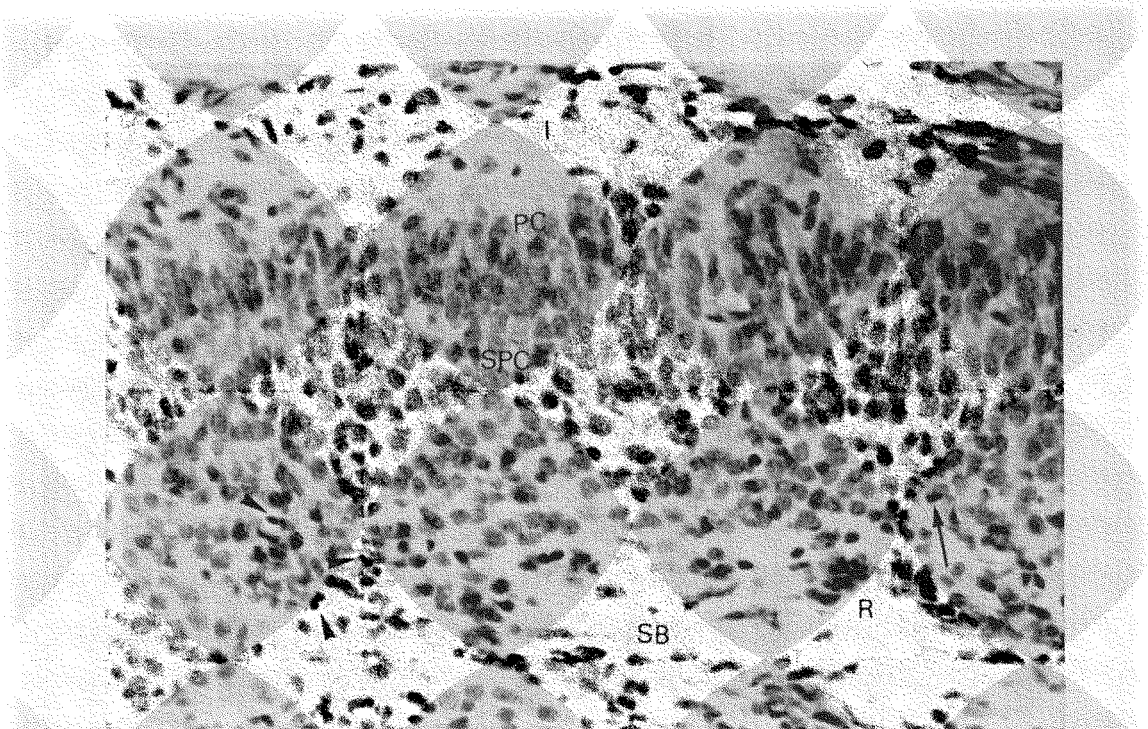


Fig. 10 – RX 14 ED 22. Detall del neocòrtex per a veure la capa I (I), la placa (PC) i la subplaca cortical (SPC) i la substància blanca (SB) que és ocupada per gran nombre de cèl·lules. A la part inferior dreta es veu una roseta (R) i sobre d'ella en la part profunda de la subplaca cortical una figura mitòtica (Fletxa). Altres elements que han completat recentment la seva divisió es poden reconèixer (caps de fletxa) H&E x 100.



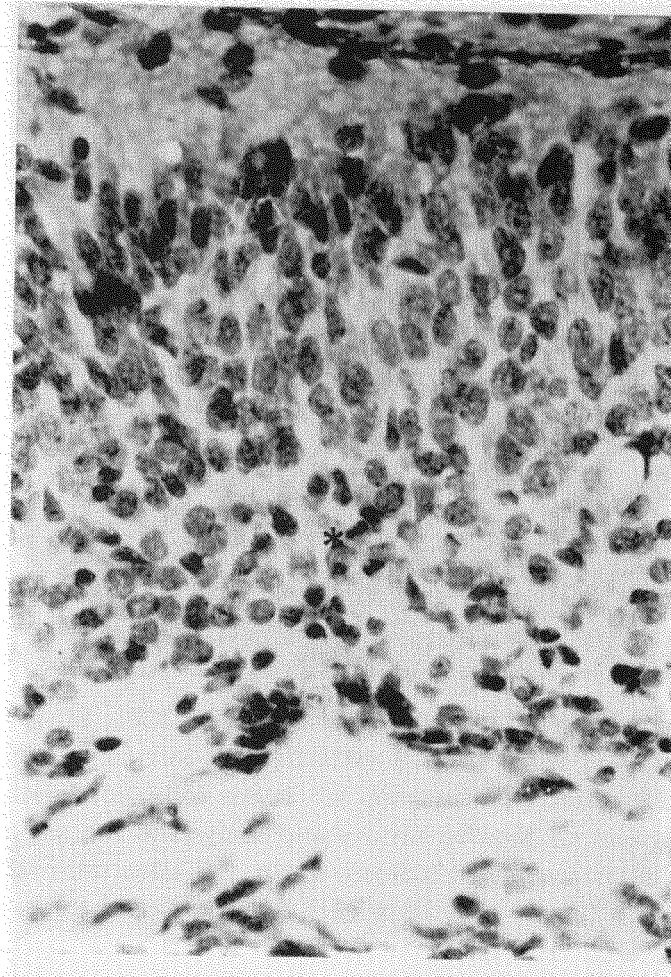


Fig. 11 i 12 – RX 14 ED 22  
Detalls a més augment de la  
figura mitòtica (asterisc).  
H&E x 250 i x 1000 res-  
pectivament.

Fig. 11

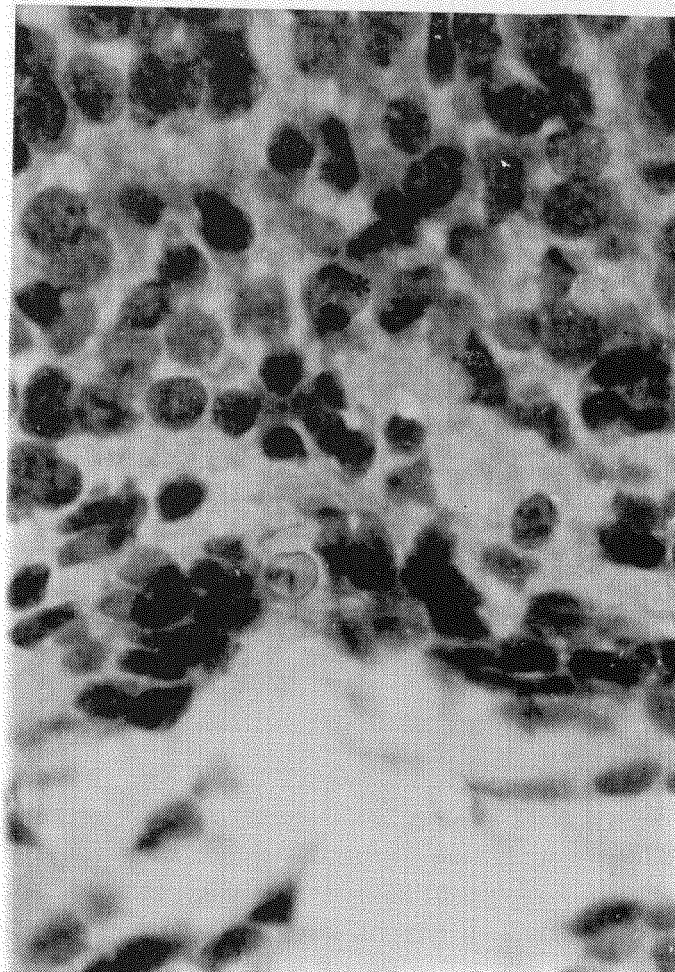


Fig. 12