

Maduración histológica de las neuronas del tronco encefálico en víctimas del síndrome de muerte súbita infantil

María Elena Cordero C.¹; Juan Antonio Núñez Z.²; Samuel Benveniste D.³;
María Elena Trejo C.⁴; M. Verónica Vásquez A.⁵; René Prado Y.⁶

Histological maturation of the brainstem neurons in sudden infant death syndrome. A Golgi-Cox study

Brains from three patients that died of sudden infant death syndrome (SIDS) were examined to determine the pattern of histological maturation of brainstem ganglia not directly related to cardiorespiratory and sleep activity (the pontine, principal olive and hypoglossus nuclei) in comparison with that shown by the same structures from three non-SIDS patients, using the Golgi-Cox and morphometric methods. Brains from sudden infant death syndrome patients show significant reduction of dendritic arborization in the studied brainstem nuclei, as compared with the age matched controls. Our findings suggest that in infants who subsequently die of SIDS, there may be a delay in the neuronal maturation of the whole brainstem and not only at the cardiorespiratory centers, as previously suggested. This quantitative difference in dendritic arborization may represent an anatomical substrate of brainstem immaturity which could play some role in the multifactorial pathogenesis of SIDS.

(**Key words:** sudden infant death syndrome, dendrites, brainstem.)

El síndrome de muerte súbita infantil (SMSI) se ha definido como la muerte inesperada de un niño, durante el sueño, que resulta inexplicable después de la necropsia. Entre 1978 y 1985 el síndrome contribuyó, junto con otras dos causas, a un tercio de la mortalidad infantil en Chile (30 por 100 000 NV). En los países de mayor desarrollo relativo es la causa más común de muerte

en niños de un mes a un año de edad (1,43 por 1 000 NV), con un incremento entre los 2 y 4 meses de edad¹. Es más frecuente en prematuros de bajo peso de nacimiento y de sexo masculino. Aunque hay numerosas hipótesis para explicarlo, las que han recibido más atención han sido las relacionadas con anomalías del control respiratorio por la evidencia de hipoxia tisular²⁻⁵ y apnea prolongada del sueño⁶⁻⁸. Por otro lado ciertas alteraciones neurohistológicas descritas, sugieren retardo en la maduración neuronal de algunos centros del tronco encefálico^{9, 10} e hipomielinización del sistema nervioso central y periférico^{11, 12}. También se ha encontrado anomalía del cuerpo carotídeo, con aumento de la actividad de dopamina y noradrenalina¹³. Algunas neuronas de la formación reticular del bulbo y protuberancia presentan retardo de la maduración espino-dendrítica¹⁴, también las neuronas catecolaminérgicas reticulares de la zona ventrolateral del bulbo¹⁵. Otro aspecto observado por varios investigadores es marcada gliosis del tronco encefálico de estas víctimas^{3, 16-18}. En el

1. Cirujano Dentista. Departamento de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.
2. Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.
3. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Exequiel González Contés.
4. Alumno 7º año Carrera de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.
5. Tecnólogo Médico. Departamento de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, División Ciencias Médicas Norte, Universidad de Chile.
6. Magíster en Bioestadística. Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Financiado: Proyecto M-2900 Dirección Técnica de Investigación, Universidad de Chile.

presente trabajo se estudia la arborización dendrítica de tres núcleos del tronco encefálico: núcleos del puente, oliva bulbar e hipogloso mayor, en víctimas del SMSI y en lactantes fallecidos de bronconeumonía (control). La oliva bulbar y los núcleos del puente son derivados de la lámina alar, presentan un patrón dendrítico de tipo especializado (dendritas onduladas) y pertenecen a sistemas vinculados con el control de la actividad motora cerebelar. El núcleo de hipogloso mayor es un núcleo eferente somatomotor relacionado con la inervación del músculo geniogloso, éste puede participar en el control respiratorio durante un episodio obstructivo apnéico. Este núcleo deriva de la lámina basal, presenta un patrón dendrítico generalizado (dendritas radiadas) y se forma precozmente de la vesícula mielencefálica.

Material y Método

Se estudiaron segmentos transversales de bulbo raquídeo (a nivel medio de la oliva bulbar) y de la parte caudal de la protuberancia (a nivel de la eminencia redonda). Los cerebros se obtuvieron de lactantes fallecidos cuyas autopsias se realizaron en el Hospital Exequiel González Cortés, de Santiago. De los seis casos estudiados, en dos niñas y un niño se hizo el diagnóstico de SMSI. Como controles se eligieron tres niñas cuya causa de muerte fue bronconeumonía. La edad de todos ellos fluctuaba, al morir, entre uno y dos meses. El peso corporal de los lactantes al deceso era adecuado para la edad y talla (tabla 1). En los casos de

SMSI el resultado del examen anatómo-patológico fue normal, excepto por edema cerebral leve. Todos los cerebros se obtuvieron de autopsias realizadas menos de doce horas después de la muerte, siendo el intervalo promedio entre ésta y la fijación en formalina $3,6 \pm 2,08$ h para el grupo SMSI y de $7,33 \pm 4,16$ h para el grupo control (BN). Los encéfalos se colocaron en un recipiente con formalina al 10% durante 72 h. Cada caso fue procesado con un código, del tal manera que no se conocía la causa de muerte hasta que los estudios estuvieron completos.

Método de tinción. Los segmentos de bulbo y protuberancia se seccionaron en tajadas transversales de 3 mm de espesor. Los segmentos se lavaron y se procesaron de acuerdo al método de Golgi-Cox¹⁹. Previa fijación en solución fresca por espacio de 3 meses, los bloques se incluyeron en celodina y se seccionaron en cortes de 120 μ . Luego se redujeron en hiposulfito de sodio y se montaron con resinas sintéticas.

Estimación de la arborización dendrítica. De cada caso se dibujaron 20 células por núcleo estudiado. Los dibujos se realizaron con la ayuda de una cámara lúcida incorporada a un microscopio Nikon y 400 X. Las neuronas se eligieron de entre aquellas que se encontraban aisladas. Para el recuento de la trama dendrítica de las neuronas de la oliva bulbar (OB) y núcleos del puente (NP) se preparó un retículo con 560 cuadrados de 0,5 cm por lado dibujado en una lámina transparente de 14 por 10 cm. Cada dibujo original se amplió y sobre esta figura se aplicó el retículo, contándose el número de segmentos dendríticos que interceptan las líneas de los cuadrados. Para el recuento de las dendritas de neuronas del núcleo hipogloso mayor (HM) se usó un curvímeter.

Análisis estadístico. Los valores promedio \pm DE del parámetro investigado fue calculado para cada uno de los tres núcleos en cada caso (control y SMSI). El promedio de estos valores fue agrupado aplicándose un análisis de varianza para un modelo anidado.

Tabla 1

Antecedentes de los lactantes

Caso	Grupo A (BN) Bronconeumonía			Grupo B (SMSI) Síndrome muerte súbita		
	A - 1	A - 2	A - 3	B - 1	B - 2	B - 3
Sexo	F	F	F	F	F	M
Edad (días)	76	62	23	56	76	33
Gestación	T	PT	T	T	T	T
Edad gestacional (sem)	40	32	38	41	38	39
Parto	V	C	V	V	V	V
Peso de nacimiento (g)	3160	1860	2900	3200	2800	3180
Causa de muerte	BN	BN	BN	SMSI	SMSI	SMSI
Estado nutricional al deceso	N	N	N	N	N	N
Tiempo postmortem Autopsia (horas)	6	4	12	3	2	6

T: término, PT: pretérmino, N: normal, V: vaginal, C: cesárea, BN: bronconeumonía, SMSI: síndrome muerte súbita infantil.

Resultados

Se observaron diferencias en la densidad de arborización dendrítica de las neuronas de los tres núcleos estudiados al comparar ésta entre víctimas del SMSI y lactantes fallecidos de bronconeumonía, de edad similar. En la figura 1 se muestran, a la izquierda, microfotografías de neuronas de los NP, OB e HM de lactantes falle-

cidos de bronconeumonía, teñidas con el método de Golgi-Cox. Las células presentan un árbol dendrítico bien ramificado. A la derecha de la misma figura se exponen las mismas células de los casos de SMSI. El árbol dendrítico es muy poco ramificado y ocupa un reducido campo dendrítico. La figura 2 muestra a la izquierda dibujos de las neuronas de los NP (arriba), de la OB (al medio) y del HM (abajo) que se observan

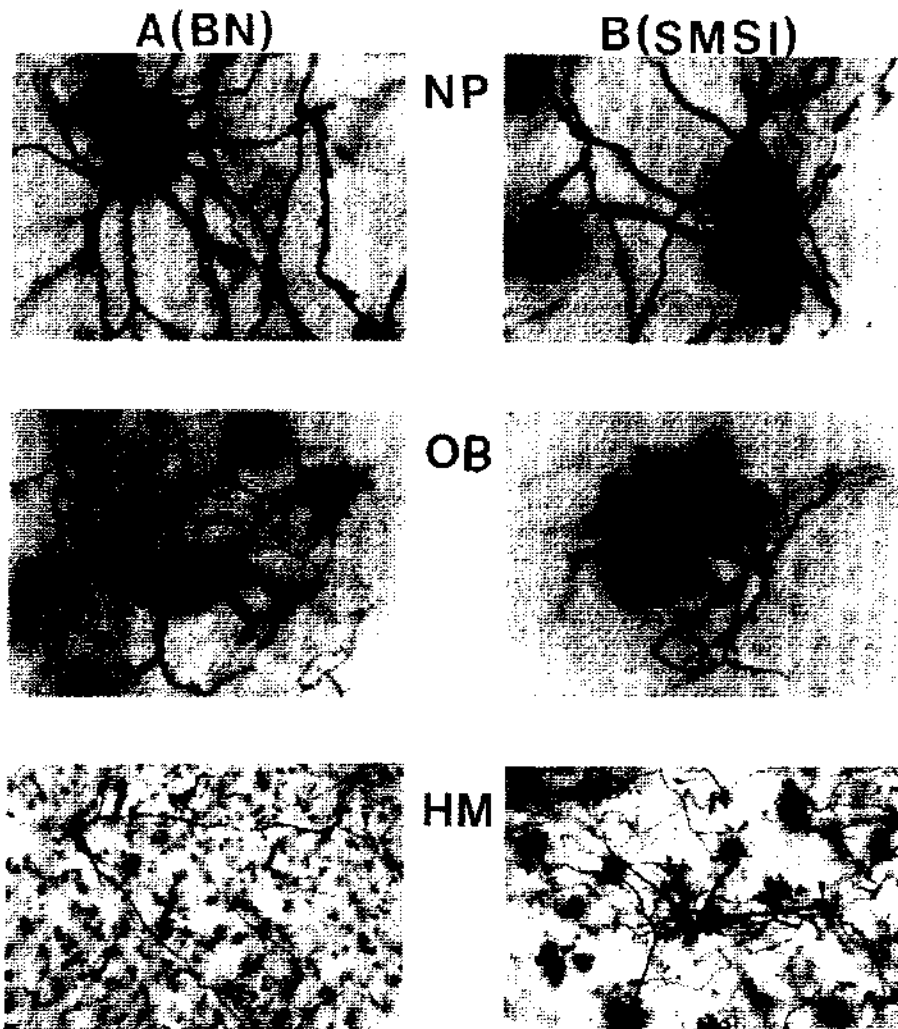


Fig. 1: Microfotografía de neuronas de los núcleos del puente (NP), oliva bulbar (OB) e hipogloso mayor (HM) de lactantes fallecidos de bronconeumonía, A (BN) a la izquierda de la figura y del síndrome de muerte súbita, a la derecha B (SMSI). Mientras la arborización de neuronas de los NP y OB es muy ramificada en A, son notoriamente muy poco ramificadas en neuronas del grupo B (método de Golgi-Cox y 400x). En el HM se observa una flecha que indica el término de una rama dendrítica larga en A. Con el mismo aumento se observa una flecha que indica el término de una rama dendrítica corta en B (Golgi-Cox y 100x).

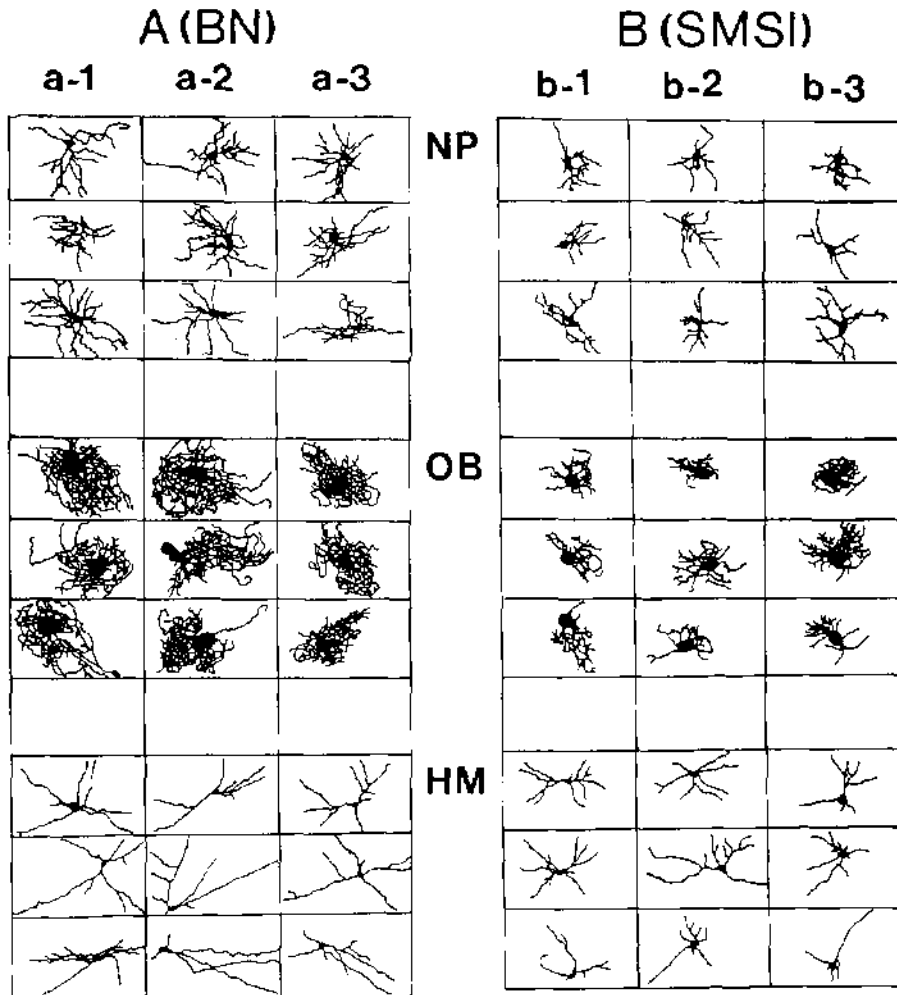


Fig. 2: Dibujos realizados con cámara lúcida y 400x de neuronas teñidas con el método de Golgi-Cox, de los núcleos del puente (NP), oliva bulbar (OB) e hipoglosa mayor (HM) de cada uno de los casos del grupo A (BN) fallecidos de bronconeumonía, a la izquierda de la figura y del grupo B (SMSI) fallecidos del síndrome de muerte súbita, a la derecha. En la parte alta de la figura están representadas las neuronas de los NP de ambos grupos. Las neuronas del grupo B son notoriamente menos ramificadas. En la parte media aparecen dibujos de neuronas de la OB. Se puede observar que las neuronas del grupo B presentan un árbol dendrítico menos ramificado que en A. Abajo se muestra la serie de neuronas del HM. En A, las neuronas presentan dendritas radiadas que se extienden a gran longitud del soma neuronal. En B, las neuronas presentan dendritas mucho más cortas.

con mayor frecuencia en cada uno de los tres casos del grupo A (BN). En su mayoría presentan un árbol dendrítico bien desarrollado, con numerosas dendritas onduladas y muy largas en el núcleo del hipoglosa mayor, las que circunscriben un campo dendrítico amplio. En esta misma figura se muestran a la derecha, los tipos celulares más frecuentes registrados en estos

mismos núcleos, en cada uno de los tres casos de víctimas del SMSI, grupo B. El árbol dendrítico en estas últimas es más bien pobre y muy poco ramificado. Otro aspecto notorio fue una intensa gliosis observada en secciones histológicas obtenidas de bulbo y protuberancia de víctimas del síndrome. La figura 3 muestra, a la derecha, secciones de los NP, OB e HM, donde se observa

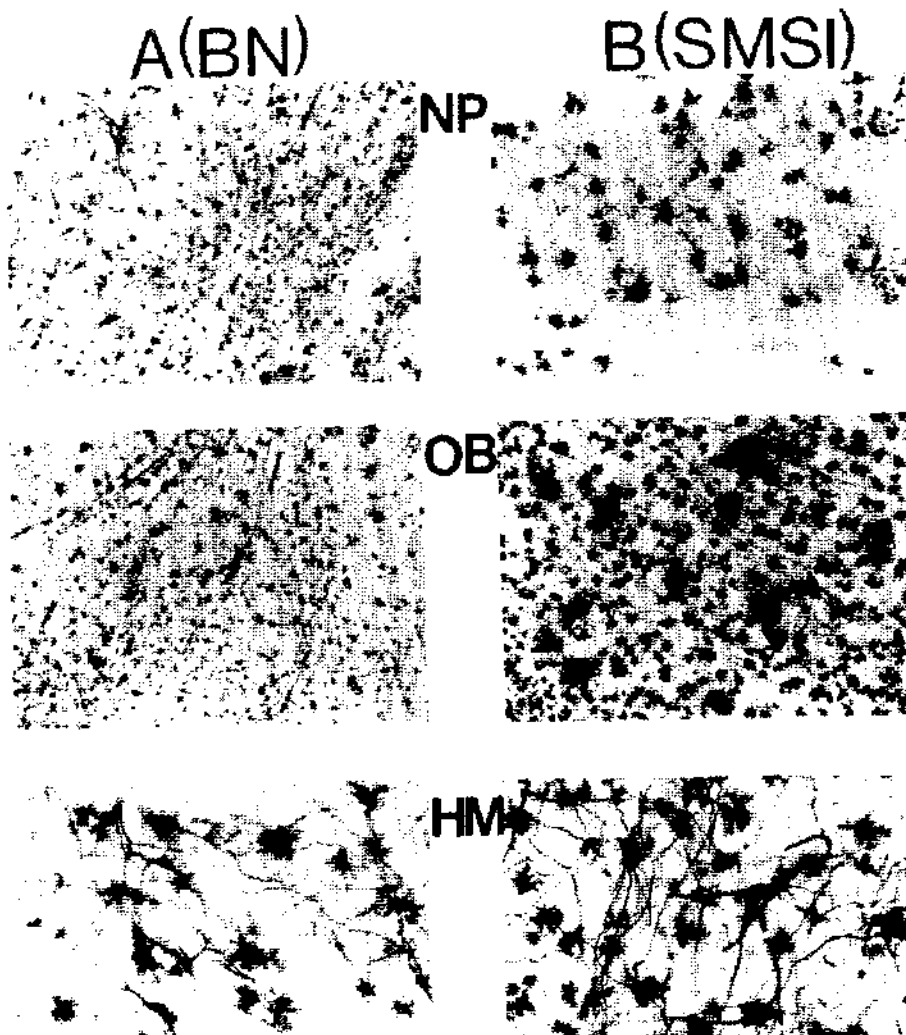


Fig. 3: Microfotografías de secciones de los núcleos del puente (NP), oliva bulbar (OB) e hipoglosa mayor (HM) de lactantes fallecidos de bronconeumonía, A (BN) a la izquierda de la figura y del síndrome de muerte súbita B (SMSI), a la derecha. Se observa una gran cantidad de células gliales aumentadas de tamaño en B, tanto en los NP como en la OB (método de Golgi-Cox y 40x). También se aprecia gliosis en la sección de HM del grupo B (método de Golgi-Cox y 100x).

aumento de la glia que no se registra en las microfotografías de la izquierda, de las lactantes fallecidas de neumonía. La tabla 2 describe los promedios y la desviación estándar del número de intersecciones de ramas que interceptan las líneas de un reticulado en neuronas de los NP y OB. Se observa una cantidad significativamente menor en el grupo B (muerte súbita) que en el A (neumonía). En la misma tabla se muestra densidad dendrítica en el núcleo HM en términos de

longitud dendrítica, siendo ésta menor en el grupo B (muerte súbita).

Comentario

La principal observación de este estudio es la menor densidad dendrítica de neuronas del tronco encefálico en los casos de SMSI comparado con el grupo control. La densidad dendrítica neu-

Tabla 2

Número de intersecciones de ramas dendríticas (promedio \pm DE)

Grupo	BN (A)			SMSI (B)			F
	A - 1	A - 2	A - 3	B - 1	B - 2	B - 3	
Casos	76 ds	62 ds	23 ds	56 ds	76 ds	33 ds	
Núcleos del puente	118,65 \pm 20,77	123,55 \pm 40,57	135,60 \pm 36,69	70,90 \pm 19,91	54,60 \pm 17,60	74,40 \pm 16,23	56,18*
Oliva bulbar	240,25 \pm 48,11	278,20 \pm 70,95	225,25 \pm 24,16	123,15 \pm 64,21	121,95 \pm 38,47	153,05 \pm 31,37	37,71*
Hipogloso mayor	46,05 \pm 7,67	49,02 \pm 7,77	55,85 \pm 12,92	27,22 \pm 6,42	29,80 \pm 4,56	30,90 \pm 6,18	46,86*

F: análisis de varianza, * $p < 0,01$

ronal es un indicador de la superficie receptiva de estímulos y de la conectividad neuronal. Una reducción de la trama dendrítica implicaría una posible disfunción neuronal. Según la edad se alcanza una determinada cantidad de ramas dendríticas; una disminución de ramas en niños víctimas del síndrome de muerte súbita apuntaría a un posible retardo del patrón de maduración neuronal. La razón para este retardo en la maduración del tronco encefálico se desconoce. Factores tales como la restricción nutricional postnatal precoz reduce el desarrollo dendrítico en células piramidales de la corteza visual de ratas^{20, 21}; sin embargo, las víctimas del síndrome eran de un peso adecuado para la edad y talla. Las espinas dendríticas aumentan a medida que progresa la gestación pero disminuyen rápidamente después del nacimiento. Se ha comunicado persistencia de espinas dendríticas en neuronas de la formación reticular bulbar¹⁵, en núcleos de la formación reticular del tronco y núcleo del haz solitario en víctimas del síndrome de muerte súbita infantil^{9, 14}, mencionándose en esos trabajos el rasgo de inmadurez del bulbo raquídeo. Durante el primer semestre de vida ocurren rápidos cambios que conducen a la maduración estructural y fisiológica de los centros del control cardiorrespiratorio y del ciclo sueño-vigilia. Con respecto a estas funciones, un porcentaje importante de víctimas del síndrome registran, previo al desenlace fatal, episodios de apnea⁸ y alteraciones del ciclo sueño-vigilia^{22, 23}. Esto podría explicarse por la inmadurez del bulbo raquídeo, incluyendo los centros que regu-

lan el control respiratorio y del sueño⁹. Estos resultados concuerdan con la inmadurez de la oliva bulbar y del núcleo del hipogloso mayor observada por nosotros. Estos núcleos derivan del mielencéfalo, vesícula de la que se forman los núcleos que controlan la actividad cardiorrespiratoria y tienen un desarrollo ontogenético similar. También muestran inmadurez los núcleos del puente, los que se desarrollan al mismo tiempo que los núcleos de la formación reticular pontina, que también ha sido encontrada inmadura⁹. La mayor incidencia de víctimas del síndrome entre los 2 y 4 meses de edad postnatal puede indicar que este es un período vulnerable, donde un retardo de la ontogenia del tronco encefálico podría desencadenar alteraciones funcionales incompatibles con la vida. El método de Golgi-Cox empleado, impregna selectivamente el soma neural y las dendritas, por lo que representa una herramienta útil para detectar el grado de maduración histológica neuronal. Otro aspecto que observamos fue una gliosis difusa en secciones de bulbo y protuberancia de lactantes víctimas del síndrome. Este rasgo morfológico coincide con el aumento de densidad de fibras astrogliales observadas en el tronco encefálico de víctimas del síndrome³. Algunos autores han atribuido la gliosis a una injuria hipóxica-isquémica²⁴. Al respecto se sabe que el consumo de oxígeno es muy elevado en el tronco encefálico hasta la mitad de la gestación. Por lo tanto, un estado de hipoxia repetida podría alterar la ontogenia del tronco encefálico, si ocurre los primeros meses de la gestación.

Estudios realizados en corteza del hipocampo de rata han mostrado que el desarrollo de las dendritas de las células piramidales está particularmente afectado por una injuria hipóxica²⁵. Se sugiere que una hipoxia mantenida entre la cuarta y octava semana de gestación induciría un retardo de la ontogenia del bulbo y protuberancia. A su vez, la deficiente maduración de los centros cardiorrespiratorios mantendría las condiciones de hipoxia produciendo una respuesta reactiva de la astrogliosis (gliosis). La aparición de procesos apneicos e hiperreflexia sugieren una injuria severa en el desarrollo del tronco encefálico en niños víctimas del síndrome²⁶. La astrogliosis es frecuente en niños que muestran persistencia de espinas dendríticas¹⁰. Nosotros encontramos en los tres casos estudiados de víctimas de muerte súbita infantil una menor densidad dendrítica neuronal junto con gliosis del bulbo y protuberancia. Otras alteraciones que también se pueden atribuir a la hipoxia son la hematopoyesis y la persistencia de grasa parda retroperitoneal observada en víctimas del síndrome²⁷. Este estudio demuestra en víctimas del síndrome de muerte súbita un retardo de la maduración histológica de neuronas de los núcleos del puente, oliva bulbar e hipogloso mayor. Lo cual, unido a la inmadurez de los centros cardiorrespiratorios y del control del sueño, pueden ser responsables de una disfunción nerviosa en estos niños^{9, 14, 15}. Los cambios en la dendroarquitectura neuronal del tronco encefálico en las víctimas del síndrome pueden ser el sustrato anatómico que explica en parte las alteraciones de la función nerviosa en la multifactorial patogénesis del síndrome de muerte súbita infantil.

Resumen

Se examinaron los cerebros de tres niños fallecidos con diagnóstico de síndrome de muerte súbita infantil (SMSI), con el propósito de determinar el patrón de maduración histológico de los núcleos del puente, oliva bulbar e hipogloso mayor (núcleos del tronco encefálico que no están directamente vinculados con la función cardiorrespiratoria) y compararla con el patrón observado en tres niños que fallecieron de causa conocida, usando el método de Golgi-Cox y morfometría. Los niños fallecidos del SMSI

presentan una reducción significativa de la arborización dendrítica neuronal en los tres núcleos estudiados, comparado con el grupo control. Estos hallazgos sugieren un retardo de la maduración neuronal de todo el tronco encefálico y no sólo de los centros cardiorrespiratorios como ha sido demostrado en niños que fallecieron del SMSI. Se sugiere que este retardo en la maduración del tronco encefálico representa un sustrato anatómico anormal en la multifactorial patogénesis de este síndrome.

(Palabras clave: síndrome de muerte súbita infantil, dendritas, tronco encefálico.)

Referencias

1. *Valdes-Dapena M*: Sudden infant death syndrome: Over view of recent research development from a pediatric pathologist's perspective. *Pediatrician* 1988; 15: 222-230.
2. *Naeye R*: Hypoxemia and the sudden infant death syndrome. *Science* 1974; 186: 837-838.
3. *Naeye R*: Brains-stem and adrenal abnormalities in the sudden infant death syndrome. *Am J Clin Pathol* 1976; 66: 526-530.
4. *Gadson D, Emery J*: Fatty change in the brain in perinatal and unexpected death. *Arch Dis Child* 1976; 51: 42-48.
5. *Takashima S, Armstrong D, Becker L, Huber J*: Cerebral white matter lesions in sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1978; 62: 155-159.
6. *Guilleminault C, Peraita R, Souquet M, Dement W*: Apneas during sleep in infants: possible relation with sudden infant death syndrome. *Science* 1975; 190: 677-679.
7. *Shannon D, Kelly H, O'Connell K*: Abnormal regulation of ventilation in infants at risk of sudden infant death syndrome. *N Engl J Med* 1977; 297: 747-750.
8. *Steinschneider A*: Prolonged apnea and the sudden infant death syndrome: clinical and laboratory observations. *Pediatrics* 1972; 50: 646-654.
9. *Quattrachi J, Mac Bride P, Yates A*: Brainstem immaturity in sudden infant death syndrome: a quantitative rapid Golgi study of dentritic spines in 95 infants. *Brain Res* 1985; 325: 39-48.
10. *Takashima S, Becker L*: Developmental abnormalities of medullary "Respiratory centers" in sudden infant death syndrome. *Exp Neurol* 1985; 90: 580-587.
11. *Naeye R, Olsson J, Combs J*: New brainstem and bone marrow abnormalities in victims of sudden infant death syndrome. *J Perinatal* 1989; 9: 180-183.
12. *Sachis P, Armstrong D, Becker L, Bryan H*: The vagus nerve and sudden infant death syndrome: a morphometric study. *J Pediatr* 1981; 98: 278-280.
13. *Perrin D, Cutz E, Becker L, Bryan A, Madapallimattam A, Sole M*: Sudden infant death syndrome: increased carotid-body dopamine and noradrenaline content. *Lancet* 1984; 2: 535-537.

14. *Quattrochi J, Baba N, Liss L, Adrion W*: Sudden infant death syndrome (SIDS): a preliminary study of reticular dendritic spines in infant with SIDS. *Brain Res* 1980; 181: 245-249.
15. *Takashima S, Becker L*: Delayed dendritic development of catechol aminergic neurons in the ventrolateral medulla of children who died of sudden infant death syndrome. *Neuropediatrics* 1991; 22: 97-99.
16. *Kinney H, Burger P, Harrell Jr. F, Hudson R*: Reactive gliosis in the medulla oblongata of victims of the sudden infant death syndrome. *Pediatrics* 1983; 72: 181-187.
17. *Sumner C, Parker Jr. J*: The brain stem in sudden infant death syndrome. A postmortem study. *Am J Forensic Med Pathol* 1981; 2: 121-127.
18. *Takashima S, Armstrong D, Becker L, Bryan C*: Cerebral hypoperfusion in the sudden infant death syndrome? Brainstem gliosis and avasculature. *Ann Neurol* 1978; 41: 257-262.
19. *Sholl D*: Dendritic organization in the neurons of the visual cortex and motor cortices of the cat. *J Anat* 1953; 87: 387-408.
20. *Cordero M, Trejo M, García E, Barros T, Colombo M*: Dendritic development in the neocortex of adult rats subjected to postnatal malnutrition. *Early Hum Dev* 1985; 12: 309-321.
21. *Cordero M, Trejo M, García E, Barros T, Rojas A, Colombo M*: Dendritic development of the neocortex of adult rat following a maintained prenatal and or early postnatal life undernutrition. *Early Hum Dev* 1986; 14: 245-258.
22. *Harper R, Leake B, Hoffman H, et al.*: Periodicity of sleep states in altered infants at risk for sudden infant death syndrome. *Science* 1981; 213: 1030-1032.
23. *Guilleminault C, Ariagno R, Kurobkin R, Coons S, Owen-Boeddiker M, Baldwin R*: Sleep parameters and respiratory variables in 'near-miss' sudden infant death syndrome infants. *Pediatrics* 1981; 68: 354-360.
24. *Hoppenbrouwers T, Hodgman J*: Sudden infant death syndrome: an integration of ontogenetic, pathologic, physiologic and epidemiologic factors. *Neuropediatrics* 1982; 13: 36-51.
25. *Trojan S, Stastny*: Hypoxia and the developing brain. *Handbook of Human growth and Developmental Biology*. Vol 1. Part C. Ed. Esmail Meisanic, Paola S. Timitar CRC Press. 1988; 101-123.
26. *Nigro M, and Hui Cun N Lim*: Hyperekplexia and Sudden neonatal death *Pediatr Neurol* 1992; 8: 221-225.
27. *Naeye R, Ladis B, Drage J*: Sudden infant death syndrome: a prospective study. *Am J Dis Child* 1976; 130: 1207-1210.