

11261
Q
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

PATRON DE ANASTOMOSIS DEL CIRCULO ARTERIOSO
CEREBRAL EN ROEDORES Y SU RELACION CON LAS
LESIONES CEREBRALES Y CAMBIOS FUNCIONALES
INDUCIDOS POR LA RESTRICCION CONTROLADA
DEL FLUJO SANGUINEO CEREBRAL.

T E S I S

Q U E P R E S E N T A :

EL M.V. DARWIN RAMON LUGO SIRA

PARA OPTAR POR EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOMEDICAS

AREA CIENCIAS MORFOLOGICAS

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL DR. RODOLFO RODRIGUEZ CARRANZA COMO TUTOR ACADEMICO Y DE LOS COASESORES DR. SALVADOR DE LARA GALINDO E ISMAEL HERRERA VAZQUEZ EN LOS DEPARTAMENTOS DE FARMACOLOGIA Y ANATOMIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

DEDICATORIAS

A Dios, por darme vida, salud y por permitir mi crecimiento profesional.

A las A. de Guasare de quienes tendré siempre presente que sin su noble existencia jamás habría logrado mi cometido.

Al regalo más grande que la vida me ha dado: Isela y Darisse, sin cuyo apoyo firme, decidido y cotidiano; sin su estímulo comprensión y sacrificios no me hubiera sido posible continuar el camino Universitario.

A mis padres por sus sacrificios, por su educación y por su amor; para ellos mi mejor esfuerzo.

A mis hermanos por la confianza y el estímulo que siempre me han brindado.

A mi suegra por todo su apoyo comprensión y ternura.

A nuestra familia por su solidaridad, estímulos y abnegación.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rodolfo Rodríguez Carranza con admiración y respeto por sus enseñanzas y por la confianza que depositó en mí durante estos años de estudios; ya que con sus directrices aprendí tanto en el campo profesional como en el personal.

A los Doctores Salvador de Lara Galindo e Ismael Herrera Vázquez dos grandes maestros quienes ceden sus conocimientos de una manera desinteresada, formando vidas que elevan la calidad de la medicina tanto en esta gran nación como fuera de sus fronteras.

Al Dr. Horacio Vidrio por sus valiosas aportaciones técnicas. Guía esencial para la realización de este trabajo.

A la Dra. Martha Medina y al técnico Guillermo Espinasa por su gran dedicación y ayuda desinteresada en los momentos que más la necesitaba

A los Doctores Cesar Montalvo y Andrés Castell del Departamento de Histología por sus aportaciones en el trabajo fotográfico de esta tesis.

Al Dr. Quiterio Núñez Miranda, quien con su apoyo y entusiasmo hizo posible la realización de esta meta.

A mis maestros por la ética y conocimientos que me inculcaron.

A mis compañeros, amigos, personal técnico y administrativo y a todas aquellas personas que de alguna u otra forma contribuyeron para la realización de esta tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de la superación profesional.

A la fundación Gran Mariscal de Ayacucho y a la Universidad Nacional Francisco de Miranda por el auspicio económico para la realización de esta tesis.

RESUMEN

Los estudios de la fisiopatología de los estados isquémicos cerebrales demandan modelos de animales en los cuales se conozca la importancia de la anatomía vascular del encéfalo. Los objetivos de este estudio fueron: establecer el patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral en ratones; sus mecanismos de compensación posterior a la ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda; y por último determinar las áreas cerebrales que se afectan en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes. En una primera serie de experimentos se utilizaron 100 animales machos adultos, de 25 a 30 gramos de peso, provenientes del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Los ratones fueron perfundidos por vía intracardíaca con solución salina, formalina buffer 10% y gelatina tinta china. Los vasos sanguíneos de la base del encéfalo se disecaron por medio del microscopio estereoscópico y en cada caso se observó la configuración del círculo arterioso cerebral y se midió el diámetro de las arterias que lo constituyen. Los resultados reflejan un círculo arterioso completo en un 92% de los casos, e incompleto (8%) por ausencia de la porción distal y/o proximal de la arteria comunicante posterior. También se notó la presencia de la arteria callosa común en un 100%. No existe diferencia significativa en el diámetro de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral en ambos hemisferios. La relación entre el diámetro de las arterias carótidas internas con las vertebrales; así como de las porciones proximales con las distales de las arterias comunicantes posteriores fué $P < 0.05$. En una segunda serie de experimentos se usaron 50 ratones, a los cuales se les hizo la ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda. Treinta y dos días después los animales fueron perfundidos con solución de gelatina tinta china y se determinaron los

diámetros de las arterias que constituyen el círculo arterioso cerebral. Se encontró un incremento en el diámetro de dichos vasos $P < 0.05$, a excepción de la arteria cerebral posterior. El flujo sanguíneo cerebral fue suministrado tanto por la arteria carótida interna derecha como por el sistema vertebrobasilar, donde la primera presentó un incremento mayor en el diámetro $P < 0.05$ con respecto a las arterias vertebrales y basilar. En un tercer grupo de ensayos se empleó un lote de 50 ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes. En un plazo de una, y setenta y dos horas post-isquemia, se determinaron las áreas de infarto en el cerebro con la técnica de tinción de clorhidrato de 2,3,5 trifeniltetrazolium y, después con hematoxilina-eosina. Las áreas cerebrales vulnerables al infarto fueron corteza frontoparietal, cuerpo estriado e hipocampo derecho, la extensión del infarto fué mayor en el hemisferio cerebral derecho $P < 0.05$ que en el izquierdo; el volumen del infarto de la corteza frontoparietal y cuerpo estriado se relacionaron de manera directa con la aparición de trastornos conductuales motores. Se concluye, que el círculo arterioso cerebral en esta cepa de ratones es completo en su mayoría, con una configuración de tipo embrionaria en el origen de la arteria cerebral posterior. Esta estructura es capaz de compensar la interrupción del flujo sanguíneo inducida por el corte de la arteria carótida común izquierda, a través de la arteria carótida interna derecha y sistema vertebrobasilar. Finalmente, las áreas cerebrales infartadas en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes fueron la corteza frontoparietal, cuerpo estriado e hipocampo derecho; y los trastornos conductuales motores caracterizados se relacionaron de manera directa con el volumen del infarto en la corteza frontoparietal y cuerpo estriado en ambos hemisferios cerebrales.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
1. Antecedentes generales	1
1.1. Epidemiología del accidente cerebrovascular	1
1.2. Síntomatología clínica del accidente cerebrovascular	2
1.3. Anatomía del círculo arterioso cerebral	2
1.4. Variaciones del círculo arterioso cerebral	4
1.5. Territorios de vascularización de las arterias cerebrales	5
1.6. Fisiopatología y mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral	6
1.7. Áreas cerebrales vulnerables al infarto cerebral	8
1.8. Técnicas de estudio	10
1.8.1. Inyección y/o perfusión de sustancias de contraste en el sistema arterial	10
1.8.2. Técnica de fijación y conservación de tejidos	11
1.8.3. Técnicas para determinar la localización y extensión del infarto cerebral	11
1.9. Planteamiento del problema, hipótesis, y objetivos del estudio	12
II. MATERIALES Y METODOS	15
1. Animales	15
2. Estudios morfológicos	15
2.1. Primera serie de experimentos	15
2.2. Segunda serie de experimentos	16
2.3. Tercera serie de experimentos	17
3. Fármacos y reactivos	19
4. Análisis estadístico	19

III. RESULTADOS	21
1. Anatomía del círculo arterioso cerebral	21
2. Mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral	34
3. Determinación histológica del infarto cerebral	38
IV. DISCUSION.....	46
1. Configuración del círculo arterioso cerebral	46
2. Mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral	50
3. Determinación de las áreas cerebrales infartadas	52
V. CONCLUSIONES	56
VI. REFERENCIAS	58

I. INTRODUCCION

1. Antecedentes generales.

1.1. Epidemiología del accidente cerebrovascular.

Las enfermedades cerebrovasculares constituyen la tercera causa de muerte en muchos países industrializados y una de las principales que generan incapacidad a largo plazo en el humano, siendo en su mayoría repercusiones isquémicas producidas por la oclusión arterial de tipo trombótico o trombo-embólico en un 85% de los casos (Biller, 1992), con mortalidad en la población adulta de los países occidentales de un 20 a 25% durante los primeros 30 días después de su aparición (CDC, 1992; Bonita, 1992). Las manifestaciones clínicas son variables dependiendo de la zona cerebral afectada; a este respecto, algunos autores suponen que esta variabilidad puede estar asociada a anomalías en la configuración del círculo arterioso cerebral (Alpers, 1963; Rodda, 1986; Pessin, 1989; Van der zwan, 1992) por ser esta una estructura básica para el mantenimiento constante y estable del flujo sanguíneo al encéfalo, capaz de compensar en condiciones patológicas la disminución de dicho flujo en cualquiera de sus arterias (Hillen, 1986; Mayevsky, 1992); por lo tanto, se considera que los cambios en su morfología puede predisponer la aparición y severidad del accidente cerebrovascular en el humano (Alpers, 1963; Riggs, 1963; Battacharji, 1967; Mackenzie, 1991). En tal sentido, recientemente, Schomer (1994) señaló que un diámetro menor de 1 mm de la arteria comunicante posterior; o bien, la ausencia de la misma es factor de riesgo de isquemia cerebral en pacientes con oclusión de la arteria carótida interna.

1.2. Sintomatología clínica del accidente cerebrovascular.

Los síntomas y signos clínicos secundarios a la oclusión de una arteria concreta difieren en cada individuo; cuando se ocluye la arteria cerebral media en su origen se observa hemiplejía y hemianestesia contralateral de la cara, brazo y pierna, y afasia de conducción (Wilson, 1981; Wise, 1983; Hickey, 1991). En los estados oclusivos de la arteria carótida interna se ocasionan daños en las áreas abastecidas por esta arteria (Rodda, 1986), los cuales pueden cursar de una manera asintomática cuando la circulación colateral a través del círculo arterioso cerebral es adecuada (Wilson, 1981; Hickey, 1991). En cambio, cuando se interrumpe el flujo sanguíneo de la arteria cerebral anterior rara vez se producen infartos, a no ser por la presencia de anomalías u oclusiones en sus ramas distales, en consecuencia se produce un cuadro de abulia profunda con signos de lesión de la vía piramidal bilateral, entre ellos paraplejía, deficiencias sensitivas en dedos del pie, pie y pierna, incontinencia urinaria y apraxia de los miembros izquierdos (Wilson, 1981; Fisher, 1990; Hickey, 1991). Por otra parte, al afectarse el territorio vascular de la arteria cerebral posterior se presenta hemianopsia homónima uni o bilateral, defecto de la memoria, alucinaciones visuales no estructuradas, deficiencia sensitiva, hemiplejía contralateral y parálisis de los movimientos oculares verticales (Wilson, 1981; Pessin, 1989; Hickey, 1991; Goldenberg, 1991; Melo, 1992).

1.3. Anatomía del círculo arterioso cerebral.

El círculo arterioso cerebral, en humano, está situado en la base del encéfalo en la cavidad sub-araenoidea en la base del encéfalo (espacio largo de la cavidad sub-aracnoidea

hacia la base del cráneo); constituido por la unión de las ramas de las arterias carótidas internas entre sí y con las de la arteria basilar; es decir, que la parte anterior de esta estructura está formada por las arterias carótidas internas a través de la porción proximal de las arterias cerebrales anteriores; y, en su parte posterior, está formado por la anastomosis de la arteria comunicante posterior con la arteria cerebral posterior que se origina de la arteria basilar (Alpers, 1963; Riggs, 1963; Pansky, 1980; Hickey, 1991; Mackenzie, 1991); sin embargo, en relación a esto último Getty (1990) señala que en animales domésticos la arteria comunicante posterior tiene dos porciones, una anterior (proximal) que corresponde a la emitida por las carótidas internas, y otra posterior (distal), proveniente de la arteria basilar; asimismo, que la unión de éstas da origen a la arteria cerebral posterior.

Este círculo arterioso se ha descrito en roedores, particularmente en ratones consanguíneos CBA/Gr y A/Gr (Fraud, 1959), ratas Black hoodedy (Moffat, 1961a, 1961b), ratas albinas (Brow, 1968), ratas Wistar (Fibar, 1973; Yamori, 1976), Gerbils (Schonfeld, 1979), ratones consanguíneos C57BL/Gj, BALB/cCF, 129/j, ratones de carácter heterogéneo *Mus musculus molossinus*, *Mus musculus castáneos* (Ward, 1990), en conejos Newzelandes (Francke 1977; Lehman, 1991) y, finalmente, ratones consanguíneos BDF (Barone, 1993). Sin embargo, Fibar (1973) indica que en ratas no existe una arteria comunicante anterior, sino que en su lugar existe el tronco cerebral anterior formado por la anastomosis convergente de las arterias cerebrales anteriores.

1.4. Variaciones del círculo arterioso cerebral en roedores.

La configuración anatómica del círculo arterioso cerebral en roedores presenta variaciones similares a las observadas en el humano; entre las que se han identificado: a. La ausencia de la arteria comunicante posterior en ratones C57BL/Gr, BaLB/c Y CFW (Froud, 1959; Barone, 1993) y en Mongolian gerbils (Levine, 1969; Levy, 1974); b. La estrechez en el diámetro de la arteria comunicante posterior en ratones C57BL/Gr, GBA (Froud, 1959); c. La persistencia del patrón de tipo embrionario en la conformación de la arteria cerebral posterior caracterizada en mongolian gerbils (Levy, 1974); y d. La duplicación de la arteria comunicante anterior en 2 de 29 ratas albinas (Brow, 1968). Sin embargo, todos estos señalamientos se derivaron de una cantidad limitada de animales y en algunos casos no se realizó un análisis estadístico, lo cual evidentemente es insuficiente para obtener conclusiones de carácter universal.

Algunos autores también han considerado las variaciones anatómicas en algunas colaterales que emergen del círculo arterioso cerebral, como el doble origen en forma unilateral de la arteria cerebral media en ratas, la formación de anastomosis longitudinales en el curso de las arterias cerebrales anterior y media, y la persistencia de las arterias olfatorias en ratas (Brow, 1968) y ratones (Ward, 1990).

Las causas de estas anomalías son en la actualidad imprecisas; sin embargo, Moffat (1961a, 1961b) ha comunicado que la formación de anastomosis longitudinales en el trayecto de las arterias cerebrales, como la duplicación de las mismas, se debe a una fusión incompleta de algunos canales dobles o plexiformes durante el desarrollo embrionario; mientras que las

variaciones de la parte posterior del círculo arterioso cerebral resultan de modificaciones en el desarrollo del lóbulo occipital (Overbeekke, 1991; Hillen, 1991). Por otra parte, se ha informado que las diferentes formas del círculo arterioso cerebral y las variaciones de la arteria comunicante posterior en ratones consanguíneos se debe a la variación de cambios genéticos entre razas (Ward, 1990). Otras de las posibles causas de la variación morfológica del sistema vascular cerebral según Van der zwan (1992, 1993) y Hillen (1986, 1991) se debe a factores hemodinámicos, los cuales están relacionados con la resistencia periférica de las arterias cerebrales mayores, y consecuentemente a los modelos de flujo sanguíneo.

1.5. Territorios de vascularización de las arterias cerebrales.

Las arterias cerebrales, en el humano, vascularizan los hemisferios cerebrales: a. La arteria cerebral anterior abastece la porción medial de la cara orbital del lóbulo frontal y el quiasma óptico, incluyendo bulbo y tracto olfatorio, la cara medial del lóbulo frontal, el extremo anteroinferior del núcleo caudado, la porción anterior del plexo coroideo, el cuerpo amigdalino, la cápsula interna y la mayor parte del cuerpo calloso (Testut, 1979; Pansky, 1980; Hickey, 1991; Van der zwan, 1991; Vincentelli, 1991); b. La arteria cerebral media abastece el territorio superficial y profundo del lóbulo parietal, parte anterior del lóbulo temporal y la posterior del lóbulo frontal (donde se encuentran los centros sensitivos y motores), incluyendo además, los núcleos basales, la región macular y cápsula externa e interna (Pansky, 1980; Vincentelli, 1990); y c. La arteria cerebral posterior nutre la corteza del lóbulo occipital y el área temporooccipital, incluyendo también tálamo, hipocampo, parte

posterior del plexo coroideo, cuerpo caloso en su parte posterior y el territorio peduncular (Testut, 1979; Pansky, 1980; Hickey, 1991).

En roedores, en particular en la rata se ha comunicado que las áreas de vascularización de las arterias cerebrales son similares a las del humano, con la diferencia que estas tres arterias se originan de la arteria carótida interna (Yamori, 1976).

1.6. Fisiopatología y mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral.

Es bien conocido el hecho de que el círculo arterioso cerebral funciona como una anastomosis entre las arterias carótidas internas y el sistema vertebrobasilar; constituyendo así la fuente más importante de flujo sanguíneo colateral en los territorios de las arterias carótidas internas y vertebrobasilar, donde la circulación es capaz de compensar el flujo sanguíneo cuando un paciente sufre de enfermedades oclusivas en algunas de sus principales arterias aferentes (Faraci, 1990); o bien, en una arteria distal, como cerebrales anterior, media y posterior, en las cuales el flujo colateral se limita a las anastomosis que existen en la superficie cortical del cerebro, tronco encefálico o el cerebelo (Wilson, 1981). En estas circunstancias, y en los casos en los que las colaterales del círculo arterioso cerebral son inadecuadas, los factores que influyen sobre la viscosidad sanguínea y la coagulación constituyen determinantes muy importantes de las consecuencias del accidente cerebral, ya que el aumento de la viscosidad podría disminuir el flujo sanguíneo cerebral en regiones de poco flujo (Grotta, 1982; Muizelarr, 1986). Por otra parte, la oclusión en los vasos aferentes

principales reducen la presión microvascular y podrían producir isquemia, cuya extensión depende de la incapacidad de la circulación colateral, por lo que la eficacia del círculo arterioso como red anastomótica es fundamental para mantener el flujo sanguíneo en niveles normales (Faraci, 1990). Los trastornos vasculares de tipo oclusivo generan mecanismos de compensación que denotan cambios en el modelo de flujo sanguíneo en las arterias colaterales del círculo arterioso cerebral, como se ha indicado en la arteria oftálmica, en el humano, luego de la oclusión unilateral de la arteria carótida interna ipsilateral (Schneider, 1991; Sipos, 1992); también se ha comunicado que en los casos de oclusión o estenosis de la arteria carótida común y/o carótida interna se produce un aumento del flujo en la arteria carótida interna contralateral a través de la arteria comunicante anterior en donde hay un flujo anterogrado en la arteria cerebral anterior del lado contralateral y un flujo retrogrado en la arteria cerebral anterior ipsilateral (Raju, 1989; Schneider, 1991; Sipos, 1992; Chaudhuri, 1992). Sin embargo, el flujo colateral desde el sistema vertebrobasilar puede o no participar en esta compensación dependiendo de la presencia de variantes en el segmento posterior del círculo arterioso cerebral, pero cuando participa en la compensación, el flujo es suministrado a través de la arteria comunicante posterior donde se aprecia un flujo con dirección posteroanterior; este mecanismo se ha observado en personas con oclusión de la arteria carótida interna derecha y estenosis en la opuesta, o en los casos donde ambas carótidas internas presentaron estenosis (Schneider, 1991; Sipos, 1992).

El aumento del flujo sanguíneo en las arterias colaterales de manera permanente induce el incremento en el diámetro arterial (Lehman, 1991), alargamiento de la misma,

caracterizada por tortuosidad (Coyle, 1984) y/o el aumento del número de microvasos (angiogénesis) en la penumbra del infarto (LaManna, 1992; Krupinski, 1994; Mironoy, 1994). Estos mecanismos vasculares se han observado en modelos experimentales, donde se encuentra un incremento del diámetro de las arterias del segmento posterior del círculo arterioso cerebral después de la oclusión prolongada (45 días) unilateral de la arteria carótida común en conejos (Brehmer, 1988). Del mismo modo, Lehman (1991) lo observó en conejos Newzelandeses, agregando un aumento en la longitud de la arteria basilar posterior a 4 semanas de oclusión bilateral de las arterias carótidas comunes.

1.7. Áreas cerebrales vulnerables al infarto cerebral.

Las neuronas del sistema nervioso central de los mamíferos, incluyendo al hombre, difieren en su vulnerabilidad a los procesos isquémicos, observándose mayor susceptibilidad de las células piramidales del hipocampo (CA.1, CA.2, CA.3, CA.4), las neuronas dorsolaterales del neocórtico, las células de las capas 3, 5 y 6 de la neocórtico, células del núcleo septal, células del núcleo reticular en el tálamo y a las neuronas piriformes (de Purkinje) en el cerebelo (Hossman, 1985). Esta vulnerabilidad parece estar relacionada con disturbios en los vasos sanguíneos locales que determinan una disminución del flujo sanguíneo (Grotta, 1982; Tyson, 1984; Hossman, 1985; Kirino, 1984; Toyoda, 1994) y con factores excitotóxicos o neurotóxicos, entre los cuales está la acidosis tisular y el aumento de la concentración de calcio intracelular. Ambos eventos alcanzan su pico a poco minutos después del ataque isquémico (Yamamoto, 1983; Crain, 1988; Bondy, 1989; Cochrane, 1991; Evans,

1993; Palmer, 1993; Araki, 1993).

Los estudios histopatológicos que demuestran mayor vulnerabilidad de ciertas áreas cerebrales a procesos isquémicos se derivan del empleo de técnicas de oclusión arterial, de manera focal o global, bien sea temporal y/o permanente. En este sentido, se señala que al ocluir a la arteria cerebral media en ratas, los infartos aunque variables en tamaño, se localizan en la corteza frontoparietal, cuerpo estriado (Tamura, 1981; Tyson, 1984; Bederson, 1986a; Lye, 1987; Barone, 1991) y área supraóptica (García, 1993). Por otra parte, en el gerbil, al ocluir simultáneamente las arterias carótidas comunes de manera temporal se producen daños celulares en ambos hemisferios cerebrales a nivel del hipocampo (Kirino, 1984; Gerhardt, 1988; Wang, 1990; Akai, 1993; Widmann, 1993), cuerpo estriado, neocorteza y núcleo septal (Crain, 1988; Mileson, 1991; Kulus, 1992; García, 1993; Barone, 1993). Las mismas lesiones se han observado en ratones y ratas con oclusión permanente de las arterias carótidas comunes (Tsuchiya, 1992; Bednar, 1994). Con ambos procedimientos se encuentra una variabilidad considerable en el volumen del infarto, lo cual podría estar influenciado por modificaciones en el patrón de vascularización de las arterias cerebrales (Stephen, 1992).

Los cambios degenerativos neuronales se hacen evidentes a partir de tres o seis horas post-isquemia (Kirino, 1984; Bederson, 1986b; Crain, 1988), denotándose en este período un ligero oscurecimiento del soma neuronal con presencia de vacuolas citoplásmicas. A las 24 horas las lesiones celulares son más acentuadas, los somas neuronales se muestran hinchados y oscuros, los núcleos tienen posición excéntrica, con agrupación de la cromatina, y necrosis

coagulativa (Kirino, 1984; Bederson, 1986b). Los cambios degenerativos asociados con períodos de 72 a 120 horas post-isquemia incluye, además, piconosis nuclear, pérdida de sustancia cromatofílica (Nilss), áreas desprovista de neuronas y gliosis reactiva (García, 1984; Markgraf, 1994). Finalmente, a los siete días el infarto se hace crónico, las células degeneradas son removidas por células fagocíticas, hay muchas células gliales, y el tejido lesionado comienza a retraerse (Aguilar, 1963; Kirino, 1984).

1.8. Técnicas de estudio.

1.8.1. Para la ejecución de los estudios descriptivos de la morfología del círculo arterioso cerebral en roedores se han utilizado diversos procedimientos:

La inyección y/o perfusión de sustancias coloreadas dentro del sistema arterial a través del ventrículo izquierdo y/o arco aórtico con el objeto de resaltar y darle mayor consistencia a los vasos sanguíneos del encéfalo para mejor visualización y disección de los mismos. Entre éstas se citan la inyección de: a. Latex en ratones (Froud, 1959) y ratas (Moffat, 1961a, 1961b; Brow, 1968); es una sustancia que da consistencia a los vasos sanguíneos y permite un buen manejo de éstos en la disección, pero su viscosidad es ligeramente alta, por lo que la fluidez o perfusión no es completa en todos; b. Tinta china, usada en ratas (Yamori, 1976) y ratones (Ward, 1990); es una sustancia que tiene buena difusión y resalta bien los vasos sanguíneos; sin embargo, no da consistencia, ni permite un adecuado manejo en la disección; c. Gelatina con tinta china, empleada en ratas (Yamaguchi, 1983); tiene características similares a la anterior con la ventaja que destaca mejor el diámetro de los vasos; d. Resina

acrílica tensol cement No. 7 (Bugge, 1974); se caracteriza por su baja viscosidad, pero es muy quebradiza; e. Monastras (pigmento más sulfato de bario en gelatina), usada en mongolian gerbils (Levy, 1974); tiene buena fluidez, pero no da consistencia a los vasos sanguíneos.

1.8.2. La técnica de fijación consiste en introducir el encéfalo en sustancias conservadoras; o bien, la perfusión de éstas a través del sistema arterial en el animal íntegro, con el propósito de endurecerlo e inhibir los procesos autolíticos; entre éstas se ha utilizado la formalina al 10%, con un pH ya sea ácido, alcalino o buffer. Bugge (1974) evita la fijación y emplea en su lugar el proceso de maceración.

1.8.3. Las técnicas empleadas para determinar la localización y extensión del infarto cerebral en roedores se basan, en el mayor número de casos, en estudios histológicos, en los cuales es necesario contrastar los tejidos con colorantes que permitan diferenciar las neuronas normales de las degeneradas; entre éstas tenemos:

a. Hematoxilina y eosina (HE). Se trata de colorante ácido-básico que tiñe en las neuronas, el núcleo, nucleolo y sustancia cromatofílica (Nilss) de color azul violeta y al citoplasma de rosado. Esta técnica se ha utilizado principalmente para teñir cortes de tejido en parafina (Tsuchiya, 1992; Kuluz, 1992; García, 1993).

b. Cresil violeta. Al igual que la hematoxilina, tiñe el núcleo, nucleolo y sustancia cromatofílica (Nilss) de color violeta; este colorante se ha usado para teñir cortes de tejidos

tanto de parafina como por congelación (Tyson, 1984; Wang, 1990; García, 1993).

c. Luxol fast blue. Tiñe principalmente la mielina de color azul cielo, permitiendo observar las prolongaciones neuronales pero no el soma neuronal (Aguilar, 1963).

d. Kluver barrera. Es un colorante compuesto, constituido por luxol fast blue y cresil violeta, lo que permite contrastar tanto al soma como las prolongaciones mielinizadas de las neuronas.

En general, estas técnicas son muy costosas y consumen mucho tiempo en la preparación y procesamiento de los tejidos (Tsuchiya, 1992).

Durante los últimos diez años se ha venido utilizando el clorhidrato de tetrafeniltetrazolium como una técnica de tinción para identificar el infarto cerebral de manera macroscópica (Bederson, 1986b; Barone, 1993; Bednar, 1994). Con este método se colorean de rojo oscuro las zonas del tejido donde hay actividad enzimática y no se colorean aquellas donde ésta no existe o está disminuida; delimitándose así claramente las zonas de infarto por su color blanquecino. El principio de la técnica se fundamenta en que la sustancia colorante es reducida por las deshidrogenasas presentes en los tejidos normales (Lye, 1987). Este tipo de tinción permite identificar y delimitar el infarto macroscópicamente, en la cual el tamaño del infarto no es diferente al obtenido con hematoxilina y eosina (Bederson, 1986b; Bednar, 1994).

1.9. *Planteamiento del problema, hipótesis y objetivos del estudio.*

El análisis de la literatura reveló que no se ha hecho un estudio sistemático del patrón

de anastomosis del círculo arterioso cerebral en roedores, particularmente en ratones. Entre los estudios existentes hay discrepancia en la caracterización de esta estructura en ratones de una misma cepa e, inclusive, entre ratones consanguíneos; o bien, entre razas heterogéneas, lo cual puede ser atribuido a disposiciones particulares del círculo arterioso cerebral en cada una de las razas de ratones, o a la aparición de modificaciones en un individuo en particular.

Durante los últimos años, la importancia de la isquemia cerebral en la práctica clínica ha estimulado el desarrollo de modelos experimentales en diferentes especies de animales que permitan reproducir dicho fenómeno, con base en el conocimiento de la significancia del patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral, los mecanismos de compensación vascular que se desarrollan como resultado de la oclusión de alguna de sus arterias aferentes, así como la caracterización de las áreas cerebrales que se afectan a fin de orientar la investigación de su fisiopatología y la valoración terapéutica de fármacos neuroprotectores.

a.- Hipótesis:

1.- La configuración anatómica del círculo arterioso cerebral en los ratones de la cepa del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM presenta variantes significativas.

2.- La ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda produce una compensación vascular a través del sistema vertebrobasilar.

3.- El corte secuencial de las arterias carótidas comunes del ratón produce infarto en hipocampo, cuerpo estriado y neocorteza, en ambos hemisferios.

h.- Objetivos generales:

1.- Establecer el patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral en ratones de la cepa del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM.

2.- Establecer el patrón de compensación vascular que se genera en el círculo arterioso cerebral en ratones con ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda.

3.- Determinar las áreas cerebrales que se infarten en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes.

c.- Objetivos específicos:

En la cepa de ratones del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM:

1.- Determinar la configuración anatómica del círculo arterioso cerebral.

2.- Establecer el diámetro promedio de las arterias que conforman el círculo arterioso.

3.- Identificar similitudes o diferencias de las variaciones con las ya reportadas.

4.- Relacionar el patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral con el sitio y extensión del infarto.

II. MATERIALES Y METODOS

1. *Animales*

Se utilizaron ratones machos, adultos, de 25 a 30 g de peso, originarios de la cepa del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los animales se seleccionaron al azar por medio de tablas de números aleatorios y fueron colocados en jaulas bajo condiciones ambientales constantes, con libre acceso al agua y alimento, y un ciclo de luz y oscuridad de 12 x 12 horas.

2. *Estudios morfológicos*

2.1. *Primer serie de experimentos*

Se emplearon 100 ratones con ayuno de 12 horas. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (47 mg/kg) y heparinizados (1000 UI/kg) por vía intraperitoneal. Los ratones se colocaron en decúbito dorsal; se practicó una toracotomía ventral de dirección caudal a craneal quedando el corazón al descubierto, al que se introdujo una aguja número 0.63 x 19 mm en la pared del ventrículo izquierdo e inmediatamente después se hizo una incisión en la pared del atrio derecho para facilitar el lavado del circuito arterial. La aguja estaba conectada a un sistema de fleboclisis que permitió la perfusión de la solución salina (0.9%) y luego la de formal buffer al 10% por gravedad (altura de 1.5 metros).

Antes de la perfusión, se administraron 0.02 ml xilocaína al 2% por vía intracardíaca y, posteriormente, se permitió el paso de la solución salina (37^o C) hasta que ésta se recuperó transparente por la abertura del atrio derecho. Inmediatamente después de este lavado se

procedió a perfundir, de la misma manera, la solución fijadora de formol buffer al 10% (37^o C) hasta que el animal quedó rígido; finalmente, se inyectó gelatina tinta china (22 g de gelatina Knor más 17.5 ml de tinta china negra Pelikan en 500 ml de agua destilada), a la misma temperatura, en forma manual, controlando este proceso por medio de la coloración aparente de las arterias nasales, conjuntivales, linguales y auriculares. Se suspendió cuando éstas estaban completamente teñidas. Después de la perfusión, los ratones fueron colocados en el refrigerador durante dos horas. Al término de este tiempo, los ratones fueron decapitados y sus cabezas se colocaron en solución fijadora de formol buffer al 10% a temperatura de 4^o C durante 3 días. Al término de este período, se removieron los encéfalos, la duramadre y el círculo arterioso cerebral. La duramadre fue removida meticulosamente para facilitar la disección de las arterias del círculo arterioso cerebral en la base del encéfalo con ayuda de un microscopio estereoscópico (SZ-PT Olympus, Japan). El tejido conectivo adyacente fue diseccionado de cada arteria con el objeto de observar y resaltar el patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral. Posteriormente, a cada arteria que constituye el círculo arterioso se le determinó el diámetro y longitud por medio de un ocular milimétrico; para ello, se siguió el procedimiento de Hillen (1987) y Ward (1990).

2.2. *Segunda serie de experimentos*

Se utilizaron 50 ratones en ayuno de 12 horas antes de la intervención quirúrgica. Estos animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (47mg/kg) por vía intraperitoneal. Fueron colocados en decúbita dorsal, y se practicó, bajo el microscopio estereoscópico, una incisión en la piel a nivel del tercio anterior de la línea media de la región cervical ventral;

se diseccionaron las glándulas parotídeas desplazándolas en sentido lateral para exponer la arteria carótida común izquierda, continuando luego con la disección de ésta hasta separarla del nervio vago adyacente. Posteriormente, la arteria se ligó y se cortó. Finalmente, la piel se suturó (Seda 4-0 ANACAP MR) y se permitió la recuperación post-anestésica de los animales, controlando la temperatura corporal con ayuda de lámpara incandescente. Después de 32 días, los animales fueron reanestesiados y heparinizados como se describió previamente. Se practicó una toracotomía ventral con objeto de perfundir, por vía intracardíaca, con solución salina, formol Buffer al 10% y gelatina tinta china (Pelikan), de la misma manera como se aplicó al grupo experimental anterior y con el fin de determinar el diámetro de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral.

2.3 Tercera serie de experimentos

Se procedió a la determinación del sitio y extensión del infarto cerebral en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes. Se utilizó un total de 48 animales y, en una primera etapa, se practicó la ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda, tal como se describe en la segunda serie de experimentos. Treinta y dos días después, se hizo la ligadura y corte de la arteria carótida común contralateral a los ratones sobrevivientes de la primera cirugía (n=37). Los ratones del grupo control (shamp operated) fueron sometidos a las mismas condiciones experimentales, a excepción de la ligadura y cortes de las arterias carótidas comunes (n=6).

Posterior a la segunda cirugía, los ratones fueron divididos en dos grupos. El primer grupo estuvo constituido por aquellos animales que evolucionaron a la muerte en una hora

(n=18), mientras que el segundo grupo incluyó ratones con 72 horas post-isquemia que presentaban, en su mayoría, trastornos conductuales motores severos (n=8), así como aquellos animales que permanecieron asintomáticos (n=7). Estos trastornos conductuales motores fueron valoradas de acuerdo al procedimiento de Irwin (1964). No se consideraron los ratones que evolucionaron a la muerte durante los períodos de 24 y 48 horas post-isquemia por ser un número muy reducido.

Previa anestesia con pentobarbital sódico, los ratones de cada grupo fueron decapitados e inmediatamente después los encéfalos fueron extraídos. Se determinó el patrón de anastomosis del círculo arterioso cerebral a través del microscopio estereoscópico en un período menor o igual a tres minutos. Posteriormente, cada cerebro fue cortado transversalmente en cuatro rebanadas de 1.5 a 2 mm, mismas que fueron sumergidas en una solución de clorhidrato de 2,3,5 trifeniltetrazolium al 2% en buffer de fosfato durante 30 minutos a temperatura de 37°C (Bederson, 1986; Barone, 1993). Al término de este tiempo se procedió a determinar las áreas de infartos en cada una de las rebanadas del cerebro. Estas áreas fueron aquellas que no se tiñeron con el clorhidrato de 2,3,5 trifeniltetrazolium.

Las áreas blanquecinas o no coloreadas fueron medidas con un ocular milimétrico. En cada rebanada se determinó el volumen del infarto (área x el grosor de la rebanada). El volumen total del infarto en cada área cerebral, para cada ratón, se obtuvo de la sumatoria de los volúmenes de infarto determinados en cada rebanada. Para la corroboración histológica de los sitios de infarto, cada una de las rebanadas fue incluida en parafina previa fijación con formol buffer durante 24 horas. Una vez obtenidos los bloques de parafina se realizaron

cortes coronales de 10 micrometros con un micrótopo (MINOT), los cuales se tiñeron con hematoxilina y eosina y se observaron a través del microscopio de luz (ZEISS Docuval). El estudio histológico incluyó la corteza cerebral, cuerpo estriado, hipocampo y tálamo, destacando la presencia de oscurecimiento del soma neural, núcleos piónicos y/o excéntricos, áreas desprovistas de neuronas y gliosis reactiva.

3. *Fármacos y reactivos*

El pentobarbital sódico, la heparina y la xilocaína fueron obtenidos del laboratorio Smithkline Beecham Farmacéutica, S.A. La hematoxilina, eosina y el clorhidrato de 2, 3, 5 trifeniltetrazolium fueron adquiridos del laboratorio SIGMA.

4. *Análisis estadístico*

Las configuraciones del círculo arterioso cerebral fueron sometidas a un estudio de frecuencia relativa. Los datos obtenidos del estudio morfométrico de las arterias fueron analizados mediante una prueba de T para comparar las arterias homólogas del lado derecho contra las del izquierdo. Para determinar los patrones vasculares del círculo arterioso cerebral se consideraron los siguientes criterios: a. Dos desviaciones standar mayor y menor al diámetro promedio de cada arteria; y b. Cada grupo debió tener un número mínimo de 5 ratones. Los grupos obtenidos fueron: A. Representó los ratones donde los diámetros de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral estuvieron entre $> 2 DS <$; B. Incluyó a los ratones con un diámetro $< 2 DS$ en la porción distal de la arteria comunicante

posterior izquierda; C. Representó a los ratones con diámetros < 2 DS en la arteria vertebral izquierda; D. Ratones con diámetro < 2 DS en la arteria vertebral izquierda; y E. Representó a los ratones con un diámetro > 2 DS en la arteria cerebral posterior derecha. Los grupos B, C, D y E fueron comparados con el grupo A, el cual fue considerado como control, por ser el más frecuente, por medio de la prueba Dunnet. Además se practicó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las arterias cerebrales de un mismo lado, así como también a las porciones distales y proximales ipsilateral de la arteria comunicante posterior.

Los diámetros obtenidos de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral en ratones con corte de la arteria carótida común izquierda fueron comparados con el promedio de los diámetros de las arterias respectivas en los 100 ratones no ligados, mediante la prueba T. En todos los casos los valores de $P < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Finalmente, se aplicó la prueba de rangos de Wilcoxon para ver las diferencias en la extensión del infarto en las áreas de cada hemisferio cerebral y la prueba de Mann-Whitney para comparar el volumen del infarto cerebral determinado en los ratones con trastornos conductuales motores versus los asintomáticos.

III. RESULTADOS

1. Anatomía del círculo arterioso cerebral

En el 92% de los animales estudiados, el círculo arterioso cerebral estaba completo, formando una red poligonal de arterias sobre la superficie basal del encéfalo. Se encontró que dicha estructura es abastecida por el par de arterias carótidas internas y la arteria basilar; rostralmente lo constituye la anastomosis convergente de las arterias cerebrales anteriores y en su parte posterior por la anastomosis de las porciones proximal y distal de la arteria comunicante posterior en el lado respectivo (Figura 1). En los animales restantes (8%) el círculo arterioso estaba incompleto, caracterizado por la ausencia de la porción distal de la arteria comunicante posterior en un 7%, y 1% en su porción proximal, en donde la arteria carótida interna izquierda formó un tronco común de origen para las arterias cerebrales anteriores, medias y coroideas anteriores derechas e izquierdas, además de emitir la porción proximal de la arteria comunicante posterior del lado correspondiente; mientras que la arteria carótida opuesta solo dió origen a la arteria cerebral posterior (Cuadro 1, Figura 2).

El círculo arterial presentó una longitud promedio de 4.41 mm y 2.12 mm de ancho (Cuadro 2), delimitando un área en la base del encéfalo de 9.35 mm, en donde se localizó la hipófisis, cuerpo mamilar, tuber cinereum y quiasma óptico. La circunferencia de esta estructura midió 12.31 mm, manifestando una forma de hexágono irregular. Las arterias que lo conforman como la carótida interna, cerebral anterior, media y posterior, porción proximal y distal de la arteria comunicante posterior derechas no presentaron diferencia significativa en el diámetro con sus homólogas izquierdas, como se demuestra en el Cuadro 3 y en la

Figura 3.

Esta cepa de ratones presentó cinco patrones vasculares de acuerdo al diámetro de algunas de las arterias que constituyen el círculo arterioso cerebral. El grupo A fue el más frecuente (84%), a diferencia de los grupos B, C, D y E quienes se presentaron en un 5% cada uno. El grupo B exhibió un patrón vascular diferente al grupo A (control) $P < 0.01$ y fue caracterizado por la ausencia de la arteria comunicante posterior izquierda. Mientras que en el grupo C evidenció una disminución en el diámetro de la arteria cerebral anterior derecha ($P < 0.01$) y de la arteria vertebral derecha ($P < 0.05$). En cambio en el grupo D hubo una disminución en los diámetros de las arterias vertebral izquierda ($P < 0.01$) y de la arteria cerebral anterior derecha ($P < 0.05$) aunado a un aumento en el diámetro de la arteria carótida interna izquierda ($P < 0.05$). En cuanto al grupo E se caracterizó por manifestar aumento en el diámetro de las arterias cerebrales posteriores (Cuadro 4).

En el patrón vascular más frecuente, la arteria basilar se localizó en el surco medio ventral a nivel del bulbo y puente y se originó de la anastomosis convergente de las arterias vertebrales en el 99% de los casos; en uno de los ratones resultó ser la continuación de la arteria vertebral izquierda debido a la ausencia de su homóloga. Este vaso presentó diferentes formas de terminación, siendo la más frecuente (76%) una cuadrifurcación que emite un par de arterias cerebelares anteriores (superiores en el humano) y las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores o mesencefálicas; también se observó la terminación a través de uno (9%) o dos (6%) troncos comunes para el origen de las arterias cerebelar anterior y porción distal de la arteria comunicante posterior. Se encontró, además, un tronco común

para las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores, el cual estuvo ubicado en el lado izquierdo (1%). Las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores presentaron un diámetro menor ($P < 0.05$) a la porción proximal ipsilateral en el lado correspondiente (Cuadro 3 y Figura 4) y tienen un trayecto entre la superficie lateral de la base del encéfalo y la cara posteroventral del hemisferio cerebral, mostrando asimetría entre ellas. Estas arterias dieron origen a ramas perforantes para el mesencéfalo y cuerpo mamilar y, finalmente, cada una termina anastomosándose con la porción proximal de la arteria comunicante posterior del lado ipsilateral resultando de esta unión la arterias cerebrales posteriores.

Las arterias carótidas internas son la principal vía aferente de aporte sanguíneo cerebral por presentar un diámetro significativamente mayor ($P < 0.05$) al que tienen las arterias vertebrales y/o basilar; o bien, por el diámetro obtenido en las porciones proximales de las arterias comunicantes posteriores (120.72 micrómetros la izquierda y 122.58 micrómetros la derecha), las cuales fueron mayores ($P < 0.05$) al de las porciones distales (69.62 micrómetros la izquierda y 71.25 micrómetros la derecha). Cada una de éstas arterias emiten a las porciones proximales de las arterias comunicantes posteriores, a nivel de la base del hemisferio cerebral, lateral a los cuerpos mamilares, tuber cinereum y la hipófisis, esta arteria se dirigió caudolateral sobre el borde ventral del lóbulo piriforme hasta unirse a la porción distal en el lado correspondiente como se mencionó anteriormente. La arteria carótida interna, una vez que emite a esta arteria, continuó con dirección craneal originando en primer lugar a la arteria coroidea anterior (100%) y terminó proporcionando a las arterias

cerebrales media y anterior a la altura del quiasma óptico. No obstante, en un 41% de los casos se observaron cerebrales medias accesorias (Figura 1), el 22% unilaterales y 19% bilaterales; éstas emergieron directamente de la carótida interna inmediatamente después de la arteria coroidea anterior; en cambio las arterias cerebrales medias principales se localizaron en el surco silviano (lateral en el humano).

La arteria cerebral anterior derecha presentó un diámetro mayor ($P < 0.05$) que las arterias cerebrales media y posterior ipsilaterales; por otra parte, en la arteria cerebral anterior izquierda se encontró un incremento en el diámetro ($P < 0.05$) en relación a la arteria cerebral posterior del mismo lado. (Cuadro 2 y Figura 3). Las arterias cerebrales anteriores se dirigieron rostralmente dando origen de manera inconstante a la arteria estriada medial (8%) y de manera frecuente a la arteria meníngea anterior (olfatoria, Brow, 1968) y pequeñas arterias perforantes; en este trayecto se encontró un caso de anastomosis longitudinal. Las arterias cerebrales anteriores terminaron uniéndose por medio de una anastomosis convergente a nivel de la cara medial del tracto olfatorio dando origen a un tronco cerebral anterior (100%) (arteria común del cuerpo calloso); de este tronco se originan las arterias que nutren al bulbo olfatorio (100%) y las arterias pericallosas derecha e izquierda que se dirigen en sentido dorsocaudal sobre la cara medial del hemisferio cerebral correspondiente (Figura 5). Además, en esta cepa de ratones no se observó la formación de la red mirabile.

CUADRO I. CONFIGURACION ANATOMICA DEL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL EN RATONES.

CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL	Nº RATONES	%
COMPLETO	92	92
INCOMPLETO POR AUSENCIA DE LA PORCION DISTAL DE LA COMUNICANTE POSTERIOR	7	7
INCOMPLETO POR AUSENCIA DE LA PORCION PROXIMAL DE LA COMUNICANTE POSTERIOR.	1	1
TOTAL	100	100

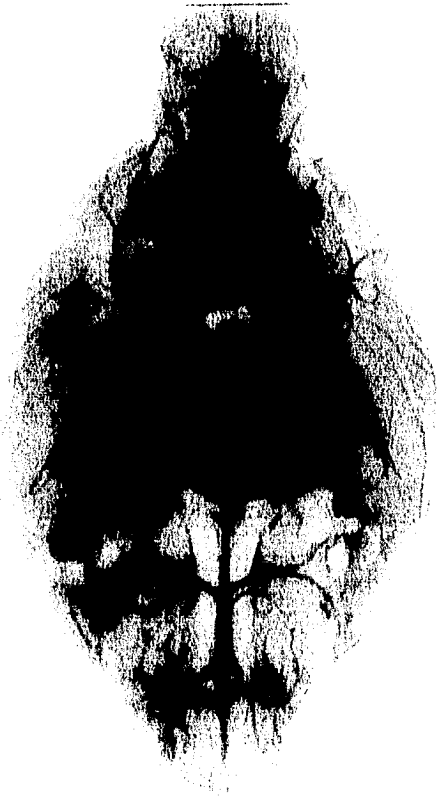


Fig. 1. Círculo arterioso cerebral completo. A. Tronco cerebral anterior. B. Cerebral media accesoria.



Fig. 2. Círculo arterioso cerebral incompleto. A. Ausencia de la porción distal de la arteria comunicante posterior; B. Arteria carótida interna izquierda emitiendo un tronco común de origen para las arterias coroideas anteriores, cerebrales medias y anteriores derechas e izquierdas; B₁. Ausencia de la porción proximal de la arteria comunicante posterior; C. Arteria cerebral media accesoría.

CUADRO 2. LONGITUD DE LAS ARTERIAS QUE CONSTITUYEN EL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL EN RATONES.

PUNTO DE REFERENCIA ARTERIAL	N° RATONES	LONGITUD PROMEDIO (mm) ± D.S		
		IZQUIERDA	DERECHA	IMPARES
DESDE EL ORIGEN A LA TERMINACION DE LA ARTERIA BASILAR	100			3.697 ± 0.37
DESDE EL ORIGEN DE LA PORCION DISTAL DE LA ARTERIA COMUNICANTE POSTERIOR HASTA SU TERMINACION	95	1.493 ± 0.16	1.505 ± 0.14	
DESDE EL ORIGEN DE LA PORCION PROXIMAL DE LA ARTERIA COMUNICANTE POSTERIOR HASTA SU TERMINACION	95	1.151 ± 0.20	1.18 ± 0.24	
DESDE LA ARTERIA CAROTIDA INTERNA HASTA EL ORIGEN DE LA ARTERIA CEREBRAL MEDIA	100	1.115 ± 0.15	1.114 ± 0.16	
DESDE EL ORIGEN DE LA ARTERIA CEREBRAL MEDIA HASTA EL ORIGEN DEL TRONCO CEREBRAL ANTERIOR	100	2.377 ± 0.47	2.376 ± 0.49	
DESDE EL ORIGEN DEL TRONCO CEREBRAL ANTERIOR A SU TERMINACION	100			0.444 ± 0.13
DESDE LA ARTERIA CAROTIDA INTERNA A SU OPUESTA	100			2.119 ± 0.24
DESDE LA TERMINACION DE LA BASILAR HASTA EL ORIGEN DEL TRONCO CEREBRAL ANTERIOR	100			4.414 ± 0.19

CUADRO 3. PROMEDIO DE LOS DIÁMETROS DE LAS ARTERIAS QUE FORMAN EL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL EN RATONES.

ARTERIAS	Nº RATONES	LONGITUD PROMEDIO (µ) ± DS		
		IZQUIERDA	DERECHA	IMPARES
CAROTIDAS INTERNAS	100	164.19 ± 21.45	165.45 ± 19.81	
CEREBRALES ANTERIORES	100	112.29 ± 20.52	116.81 ± 18.63	
PORCIONES PROXIMALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	100	120.72 ± 17.02	122.58 ± 22.36	
PORCIONES DISTALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	100	69.62 ± 31.59	71.25 ± 33.67	
CEREBRALES MEDIAS	100	110.1 ± 22.70	108.14 ± 19.99	
CEREBRALES POSTERIORES	100	105.09 ± 18.39	105.46 ± 21.91	
VERTEBRALES	100	127.44 ± 26.24	126.46 ± 27.38	
BASILAR	100			111.01 ± 22.22
TRONCO CEREBRAL ANTERIOR	100			116.14 ± 22.86

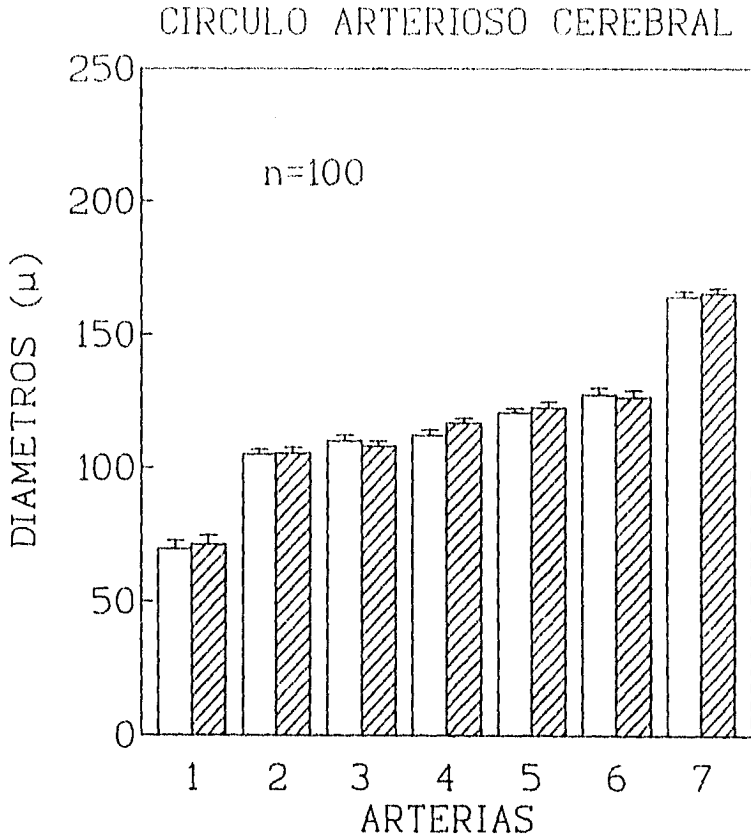


Fig. 3. Distribución del promedio de los diámetros de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral en ratones: 1. Porciones distales de las arterias comunicantes posteriores. 2. Arterias cerebrales posteriores. 3. Arterias cerebrales medias. 4. Arterias cerebrales anteriores. 5. Porciones proximales de las arterias comunicantes posteriores. 6. Arterias vertebrales. 7. Arterias carótidas internas. Las barras vacías corresponden a las arterias del lado izquierdo, y las barras con rayas a las arterias del lado derecho.

CUADRO 4. PROMEDIO DE LOS DIAMETROS DE LAS ARTERIAS QUE FORMAN EL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL EN LOS SUBGRUPOS O PATRONES VASCULARES PRESENTE EN RATONES.

ARTERIAS	PATRONES VASCULARES DIAMETROS PROMEDIOS				
	A	B	C	D	E
CAROTIDAS INTERNAS	162.33 (163.81)	164.76 (166.76)	169.02 (166.22)	190.42 (176.32)	178.18 (181.22)
CEREBRALES ANTERIORES	112.18 (118.43)	129 (125.46)	100.26 (75.96**)	101.42 (97.12*)	119.72 (118.96)
PORCIONES PROXIMALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	120.43 (121.33)	110.5 (130.5)	118.58 (124.62)	120.88 (127.06)	137.74 (140.56)
PORCIONES DISTALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	73.15 (68.26)	0** (104.26)	63.48 (77.82)	63.32 (79.48)	73.32 (92.04)
CEREBRALES MEDIAS	110.59 (109.07)	91.26 (90.76)	119.14 (104.16)	112.41 (109.16)	129.04 (126.84)
CEREBRALES POSTERIORES	103.10 (102.72)	106 (110)	112.6 (119.32)	121.6 (121.66)	143.7** (154.04**)
VERTEBRALES	131.19 (129.27)	123.26 (130.5)	109.66 (85.26**)	56.06** (104.26)	116.22 (110.96)
BASILAR	112.72	121.7	90.12	93.36	102.92
TRONCO CEREBRAL ANTERIOR	118.29	113.4	90.86	96.86	118.86

A) Lote de ratones con diámetros arteriales entre $> 2 DS <$. B) Lote de ratones con diámetro $< 2 DS$ en la porción distal de la arteria comunicante posterior. C) Lote de ratones con diámetro $< 2 DS$ de la arteria cerebral anterior derecha. D) Lote de ratones con diámetro $< 2 DS$ de la arteria vertebral izquierda. E) Lote de ratones con diámetro $> 2 DS$ de la arteria cerebral posterior derecha. * Los datos entre parentesis representan el lado derecho.



Fig. 4. Patrón embrionario en el origen de la arteria cerebral posterior; A. Porción proximal y B. Distal de la arteria comunicante posterior.

2. Mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral.

En los animales de 32 días después de la ligadura y corte de la arteria carótida común izquierda, se encontró un incremento en el diámetro ($P < 0.05$) en cada una de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral, así como en sus colaterales, excepto las arterias cerebrales posteriores, como se ilustra en el Cuadro 5 y Figura 6.

El flujo sanguíneo cerebral fue suministrado por las arterias carótida interna derecha y sistema vertebrobasilar, donde la primera de las arterias mencionadas presentó un incremento mayor en el diámetro ($P < 0.05$) de 242.9 micrómetros, contra 185.8 y 177.8 micrómetros de las arterias vertebrales izquierda y derecha, respectivamente, y 181.16 micrómetros de la arteria basilar (Cuadro 5). En consecuencia la arteria carótida interna derecha compensó el territorio vascular de la arteria carótida interna izquierda por medio del segmento anterior del círculo arterioso cerebral, llevando la sangre por las arterias cerebral anterior derecha, tronco cerebral anterior y cerebral anterior izquierda donde se produjo un flujo sanguíneo reverso o anteroposterior. Por otra parte, el sistema vertebrobasilar restituyó el flujo sanguíneo a través de las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores, particularmente la porción distal izquierda, la cual es ipsilateral a la arteria carótida común ligada y cortada (Figura 7). En los casos donde esta porción estuvo ausente (4%), la arteria carótida común derecha asumió la vascularización del hemisferio cerebral izquierdo a través del segmento anterior del círculo arterioso cerebral previamente mencionado; a pesar de este flujo, estos ratones presentaron infarto en la corteza occipital del hemisferio cerebral izquierdo.

CUADRO 5. PROMEDIO DE LOS DIAMETROS DE LAS ARTERIAS QUE FORMAN EL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL EN RATONES CON LIGADURA Y CORTE DE LA ARTERIA CAROTIDA COMUN IZQUIERDA.

ARTERIAS	N° RATONES	DIAMETROS PROMEDIOS (µ) ± D.S		
		IZQUIERDA	DERECHA	IMPARES
CAROTIDAS INTERNAS	50	231.5 ± 34.76	242.9 ± 41.18	
CEREBRALES ANTERIORES	50	199.8 ± 39.64	201.4 ± 30.25	
CEREBRALES MEDIAS	50	144.84 ± 22.51	146.1 ± 19.88	
CEREBRALES POSTERIORES	50	109.12 ± 19.57	106.13 ± 17.18	
PORCIONES PROXIMALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	50	178.75 ± 27.76	168.63 ± 23.49	
PORCIONES DISTALES DE LAS ARTERIAS COMUNICANTES POSTERIORES	50	145.22 ± 46.98	98.64 ± 32.03	
VERTEBRALES	50	185.8 ± 34.93	177.8 ± 32.97	
BASILAR	50			181.16 ± 31.55
TRONCO CEREBRAL ANTERIOR	50			132.72 ± 27.65

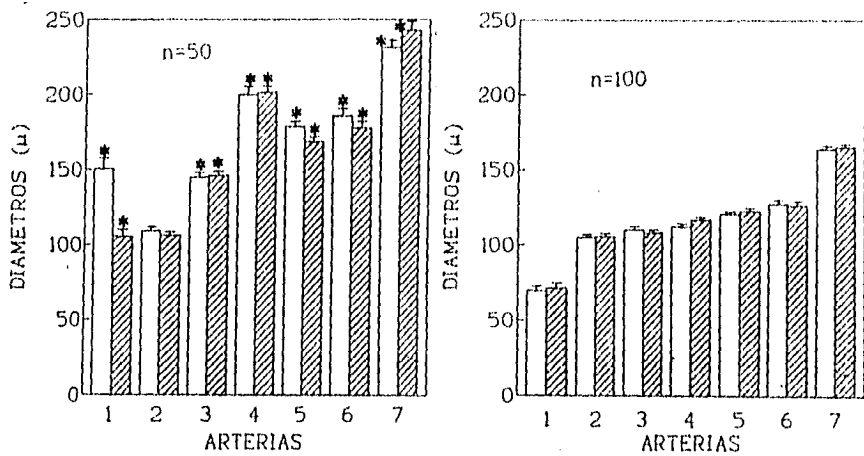


Fig. 6. A) Distribución del promedio de los diámetros de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral en ratones con corte de la arteria carótida común izquierda; 1. Porciones distales de las arterias comunicantes posteriores; 2. Arterias cerebrales posteriores; 3. Arterias cerebrales medias; 4. Arterias cerebrales anteriores; 5. Porciones proximales de las arterias comunicantes posteriores; 6. Arterias vertebrales; 7. Arterias carótidas internas; B) Control.

*Las barras vacías corresponden a las arterias del lado izquierdo, y las barras con rayas a las arterias del lado derecho.



Fig. 7. 1. Patrón de compensación vascular del círculo arterioso cerebral en ratones con corte de la arteria carótida común izquierda. A. Arteria carótida interna derecha; B. Arteria cerebral anterior derecha; C. Tronco cerebral anterior; D. Arteria cerebral anterior izquierda; E. Arteria basilar; F. Porción distal de la arteria comunicante posterior; 2) Control.

3. *Determinación histológica del infarto cerebral.*

Las áreas cerebrales lesionadas fueron bien evidenciadas con la tinción de clorhidrato de 2,3 5 trifeniltetrazolium en el grupo de ratones sacrificados a las 72 horas post-isquemia, observandose lesiones con mayor frecuencia a nivel de la corteza frontoparietal y cuerpo estriado, en ambos hemisferios cerebrales, y también en el hipocampo derecho. En 8 ratones se encontró que las lesiones corticales en el hemisferio derecho se extendieron hacia el lóbulo temporal y occipital y las lesiones en el hipocampo fueron bilaterales. Además se encontró infarto a nivel del núcleo septal medial en 7 ratones (Cuadro 6, Figura 8).

El estudio histológico corroboró la afectación de estas áreas cerebrales observando diferentes estados degenerativos de las neuronas, los cuales fueron caracterizados por la presencia de células con citoplasma oscuro, núcleos picnóticos y/o excéntricos, abundantes células gliales y ausencia de neuronas. Estos cambios se observaron en las neuronas de las capas 1, 2, 3, 4 y 5 de la corteza fronto-parietal y temporo-occipital, en las neuronas dorsolaterales del cuerpo estriado y las CA1, CA2, CA3, CA4 del hipocampo derecho y solo CA1, CA2 en el izquierdo (Figura 9).

En la evaluación conductual se observó que 7 ratones no presentaron trastornos motores; mientras que 8 manifestaron disminución de la actividad locomotora, tono y fuerza muscular, incoordinación motora y abducción del miembro anterior izquierdo (Figura 10). En estos últimos, el volumen del infarto en la neocorteza de ambos hemisferios cerebrales fue mayor ($P < 0.05$) (Cuadro 7). En general, tanto en los ratones que presentaron trastornos motores como en los asintomáticos, el volumen promedio del infarto fue mayor en el hemisferio

derecho que en el izquierdo ($P < 0.05$) (Cuadro 7).

Los ratones que evolucionaron a la muerte durante la primera hora post-isquemia ($n=18$) presentaron disnea y paro respiratorio. Con la técnica de tinción con elorhidrato de 2,3,5 trifeniltetrazolium no se observó infarto cerebral. Aunque, la evaluación histológica con hematoxilina y eosina determinó ligeros oscurecimientos del citoplasma en algunas neuronas de la quinta capa de la corteza parietal y en las células CA4 en el hipocampo, en ambos hemisferios cerebrales (Figura 11). Las características histológicas del resto de las áreas cerebrales fueron similares a las observadas en los controles (sham operated).

Las variaciones en el sitio y extensión del infarto cerebral observadas en los ratones sacrificados a las 72 horas post-isquemia, así como el hecho de que algunos ratones evolucionaron a la muerte durante la primera hora, no se relacionaron con la disposición del círculo arterioso cerebral dado que todos los ratones presentaron una configuración anatómica completa.

CUADRO 6. DISTRIBUCION DE LAS AREAS CEREBRALES DE INFARTO RESPECTO AL TIEMPO DESPUES DE LA ISQUEMIA EN RATONES CON CORTE SECUENCIAL DE LAS ARTERIAS CAROTIDAS COMUNES Y SU RELACION CON EL PATRON DE ANASTOMOSIS DEL CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL.

AREAS CEREBRALES	TIEMPO POST-ISQUEMIA			TOTAL
	SHAMP-OPERATED (N=6)	1 HORA (N=18)	72 HORAS (N=15)	
NEOCORTEZA DERECHA	0	0	15	15
NEOCORTEZA IZQUIERDA	0	0	12	12
CUERPO ESTRIADO DERECHO	0	0	12	12
CUERPO ESTRIADO IZQUIERDO	0	0	11	11
HIPOCAMPO DERECHO	0	0	12	12
HIPOCAMPO IZQUIERDO	0	0	8	8
NUCLEO SEPTAL	0	0	7	7
CIRCULO ARTERIOSO CEREBRAL COMPLETO	6	18	15	39

CUADRO 7. DISTRIBUCION DE LOS SITIOS Y EXTENSION DEL INFARTO CEREBRAL EN RATONES CON 72 HORAS DESPUES DE LA ISQUEMIA.

AREAS CEREBRALES	VOLUMEN DEL INFARTO (mm ³)		
	RATONES SIN TRASTORNOS CONDUCTUALES MOTORES (n=7)	RATONES CON TRASTORNOS CONDUCTUALES MOTORES (n=8)	PROMEDIO (n=15)
NEOCORTEZA DERECHA	3.69 ± 1.1	18.38 ± 11.04	11.52 ± 10.91
NEOCORTEZA IZQUIERDA	1.37 ± 1.48	8.56 ± 6.29	5.2 ± 5.88
CUERPO ESTRIADO DERECHO	2.54 ± 2.61	8.53 ± 4.52	5.73 ± 4.77
CUERPO ESTRIADO IZQUIERDO	0.73 ± 1.21	3.88 ± 2.95	2.41 ± 2.76
HIPOCAMPO DERECHO	0.25 ± 0.36	1.51 ± 0.84	0.93 ± 0.91
HIPOCAMPO IZQUIERDO	0	0.57 ± 0.63	0.3 ± 0.53
NUCLEO SEPTAL	0.41 ± 0.65	0.61 ± 0.9	0.52 ± 0.78

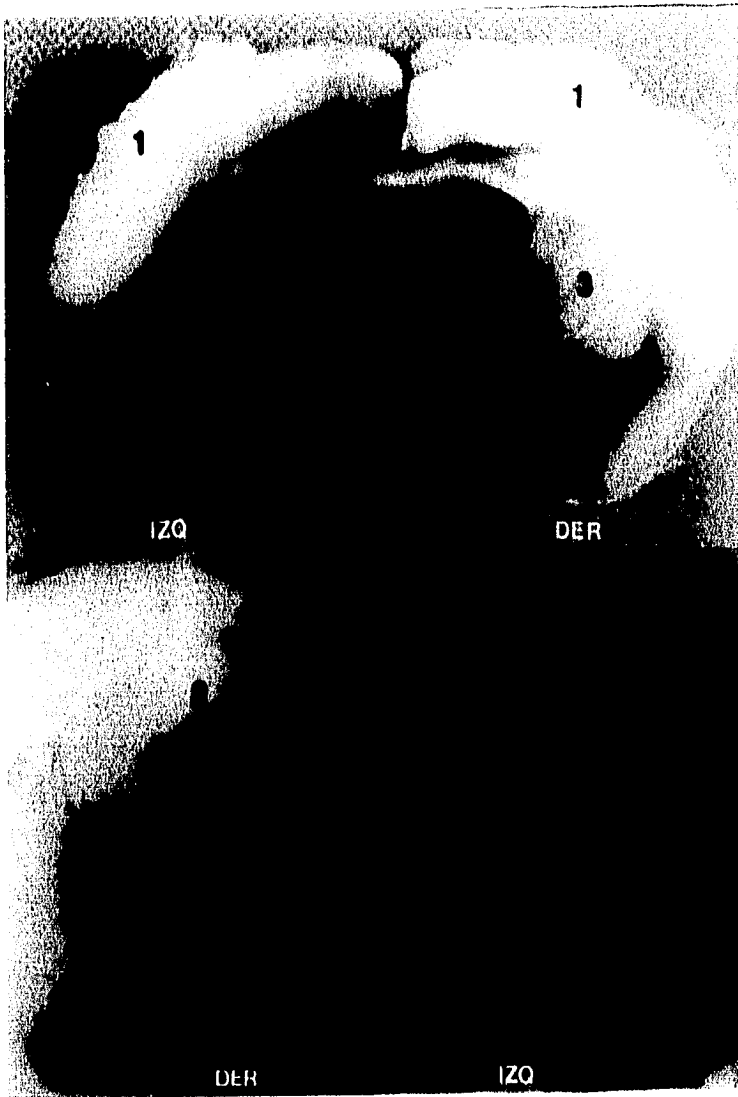


Fig. 8. Areas cerebrales infartadas, en ratones con 72 horas post-isquemia: 1. Neocorteza; 2. Hipocampo; 3. Cuerpo estriado (putamen y núcleo caudado); 4. Núcleo septal (tinción con clorhidrato de 2, 3, 5 trifeniltetrazolium).

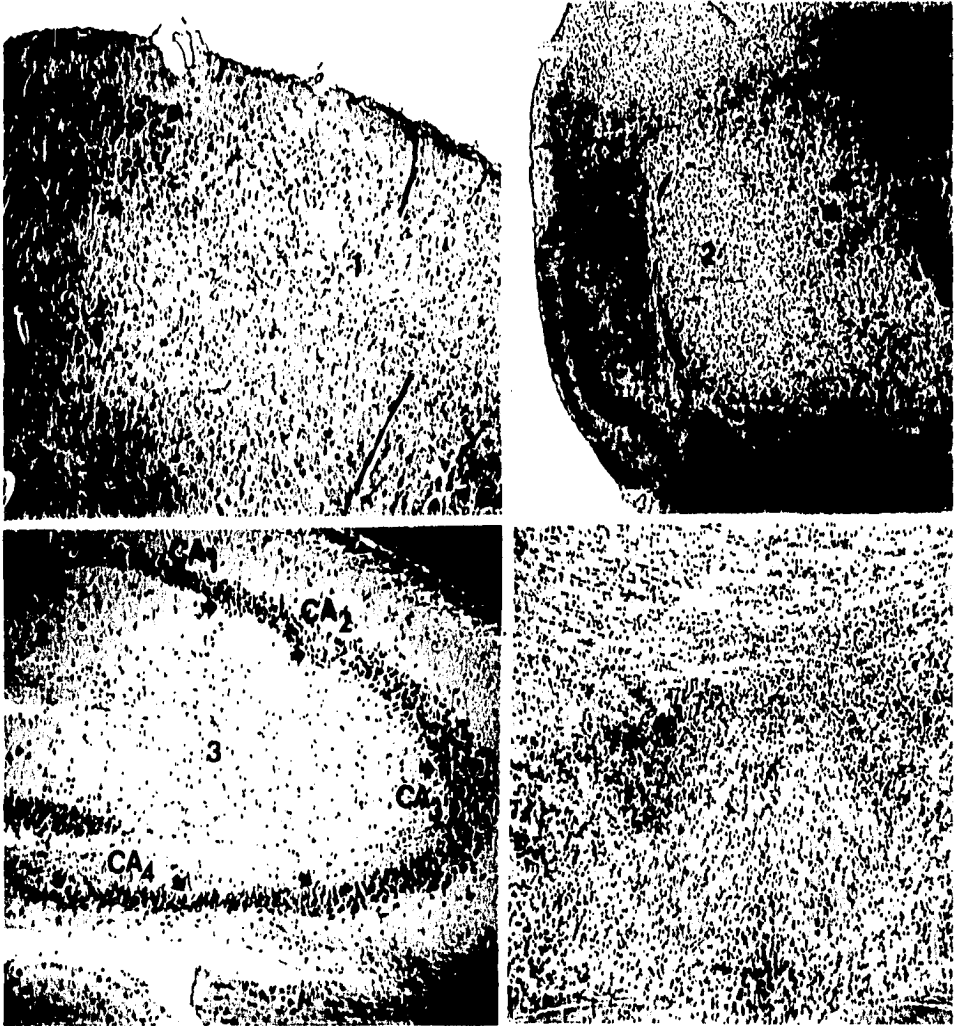


Fig. 9. Cambios degenerativos en las neuronas de la: 1. Neocorteza; 2. Cuerpo estriado; 3. Hipocampo; 4. Núcleo septal, en ratones sacrificados a las 72 horas post-isquemia (tinción con hematoxilina y eosina)

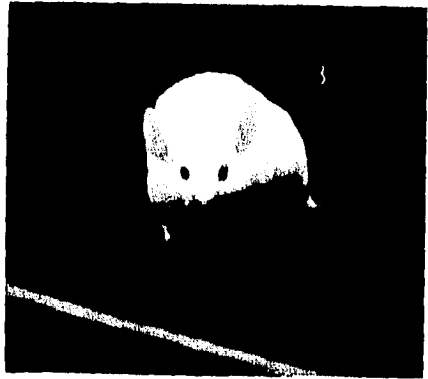
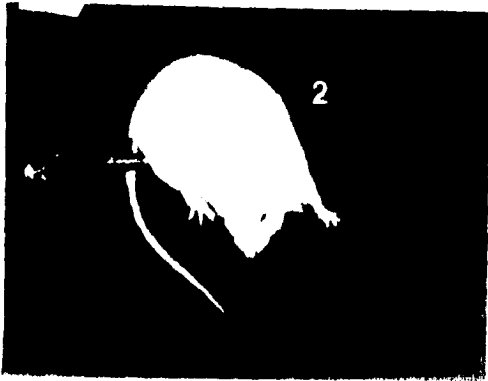
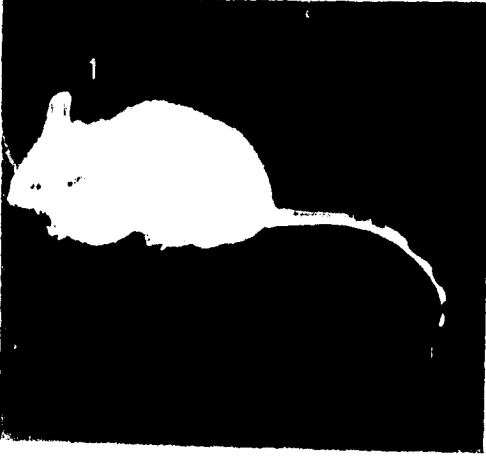


Fig. 10. Trastornos conductuales motores caracterizados en ratones con 72 horas post-isquemia: 1. Disminución de la actividad locomotora; 2. Incordinación motora; 3. Abducción del miembro anterior izquierdo.



Fig. 11. Cambios degenerativos en las neuronas: 1. CA, del hipocampo; 2. De la capa 5 de la neocorteza, en ratones que evolucionaron a la muerte en la primera hora post-isquemia (tinción con hematoxilina y eosina).

IV. DISCUSION

1. Configuración del círculo arterioso cerebral.

La característica más notable del círculo arterioso cerebral de la cepa de ratones estudiada es que la mayoría presenta un circuito arterial cerrado por completo, similar al reportado en ratones consanguíneos (Yamori, 1976; Ward, 1990; Barone, 1993) y heterogéneos (Ward, 1990), ratas (Moffat, 1961; Brow, 1968; Fibar, 1973) y conejos (Franke, 1977; Lehman, 1991). Sin embargo, se determinó la presencia, en algunos animales, de una configuración incompleta, caracterizada por la ausencia unilateral de la porción distal de la arteria comunicante posterior, que se ha comunicado en ratones consanguíneos C57G BL/Gr (Froud, 1959), CFW, Balb/c (Barone, 1993) y en gerbits (Levine, 1969; Levy 1974), y por la ausencia de la porción proximal de la arteria comunicante posterior, donde la arteria carótida interna izquierda emitió un tronco común de origen para las arterias coroideas anteriores y cerebrales anteriores y medias derechas e izquierdas, lo cual no ha sido reportado en los estudios morfológicos del círculo arterioso cerebral realizados en roedores. Ambas variantes no son frecuentes, por lo tanto su aparición es de origen congénito y no genético, lo cual podría estar influido por modificaciones en el desarrollo, como fallas en la fusión de algunos canales plexiformes (Moffat, 1961); o bien, a las demandas hemodinámicas iniciadas por el desarrollo del cerebro (Hillen, 1991; Overbeekke, 1991; Van der zwan, 1992, 1993).

Entre otras variantes obtenidas en este estudio se indica la presencia de diferentes patrones vasculares establecidos en el diámetro de algunas de las arterias que forman el círculo

arterioso cerebral, las cuales no fueron convincentes y se caracterizaron de la siguiente manera: El grupo C presentó disminución en el diámetro de las arterias cerebral anterior y vertebral derecha, el grupo D presentó reducción en el diámetro de la arteria vertebral izquierda y arteria cerebral anterior derecha, con aumento del diámetro de la arteria carótida interna izquierda. El grupo E evidenció aumento en el diámetro de las arterias cerebrales posteriores. En cada uno de los grupos, las arterias restantes del círculo arterioso cerebral exhibieron diámetros que estuvieron dentro del rango promedio de la población estudiada, lo cual sugiere que estas variaciones en el patrón vascular en algunas arterias está en coherencia con los factores hemodinámicos que influyen durante el desarrollo cerebral, coincidiendo con Hillen (1986, 1991) y Van Der Zwan (1992, 1993), quienes señalan que el tamaño de los vasos sanguíneos, así como su territorio de vascularización, son consecuencias de los patrones de flujo sanguíneo y la resistencia periférica existente. Estos patrones vasculares no han sido reportados en roedores; sin embargo, particularmente el grupo C y E, han sido comunicados en el humano (Alpers, 1963; Riggs, 1963; Battacharji, 1967).

En cuanto al patrón vascular más frecuente, catalogado en el grupo A, los diámetros de las arterias homólogas que conforman el círculo arterioso cerebral así como sus colaterales fueron iguales; esto implica un equilibrio hemodinámico en cada lado del círculo arterioso y por ende en cada hemisferio cerebral. En ambos hemisferios las arterias carótidas internas tienen predominio del aporte sanguíneo, ya que por medio de la porción proximal de la arteria comunicante posterior dieron origen a las arterias cerebrales posteriores, lo que ha

sido demostrado por la disminución en el diámetro de la porción distal (cerebral posterior en el humano), respecto a la porción proximal ipsilateral de la arteria comunicante posterior (arteria comunicante posterior en el humano). De ello se puede deducir que las arterias carótidas internas emiten a las arterias cerebrales anterior, media y posterior en cada hemisferio cerebral, similar a la rata (Yamori, 1976). Esta configuración difiere del patrón clásico humano, ya que la arteria cerebral posterior se origina de la arteria basilar y no de la arteria carótida interna; sin embargo, la disposición anatómica de la arteria cerebral posterior observada en esta cepa de ratones, se conoce en el humano como patrón embrionario o fetal (Puchades, 1975; Hegedus, 1987; Wojtowicz, 1989; Edelman, 1990; Overbecke, 1991; Mackenzie, 1991), la cual, constituye una variante frecuente representando el 16 a 18.8% unilateralmente y 3.7% bilateralmente (Alpers, 1963; Riggs, 1963; Battacharji, 1967; Mackenzie, 1991), e incluso, al igual que la estrechez de la arteria comunicante posterior (conocida en los animales como porción proximal de la arteria comunicante posterior), la han asociado a la ocurrencia de accidentes cerebrovasculares con daños neurológicos severos, 20 a 30% en infarto cerebral (Alpers, 1963; Riggs, 1963; Battacharji, 1967; Hegedus, 1987; Schomer, 1994).

Esta configuración embrionaria o fetal de la arteria cerebral posterior caracterizada en esta cepa de ratones, hace evidente el poco desarrollo del sistema vertebrobasilar en la constitución del segmento posterior del cefrulo arterioso cerebral; lo cual difiere a lo reportado en conejos donde se señala un sistema vertebrobasilar bien desarrollado (Lehman, 1991), y por consiguiente la arteria basilar emite a la arteria cerebral posterior; pese a esto

ambas especies carecen de la red mirabile (Francke, 1977).

La estrechez uni o bilateral en el diámetro de la porción distal de la arteria comunicante posterior, a similitud de lo comunicado por Froud (1959) en ratones consanguíneos, no se reporta en este estudio debido a que los criterios de inclusión utilizados en este ensayo difieren de los considerados por dicho autor, quien fundamentó su hallazgo con la sola observación de la asimetría de estos vasos.

Las arterias carótidas internas emitieron a las arterias cerebrales mayores, donde la cerebral media frecuentemente nació a nivel del surco silviano o lateral; sin embargo, se encontró más de una arteria unilateral y en menor grado bilateral, emitidas siempre por su arteria carótida interna ipsilateral. Cada una de estas surgió después que la arteria carótida interna dió origen a la arteria coroidea anterior y se ubicaron caudalmente al surco silviano, para luego terminar ramificándose en la corteza del lóbulo temporal y occipital. Esta conformación de la arteria cerebral media no ha sido reportada en ratones. No obstante, Brown (1968) ha comunicado en ratas albinas la existencia de un doble origen de la arteria cerebral media, mismas que se unen para formar una anastomosis longitudinal; de igual manera Ward (1990) refiere un caso en ratones consanguíneos.

El diámetro de la arteria cerebral anterior derecha fué mayor comparado con las demás arterias cerebrales ipsilaterales, en cambio la cerebral anterior izquierda solo fué mayor al de la arteria cerebral posterior del mismo lado, lo cual podría deberse a una diferencia en el patrón de flujo sanguíneo para cada una de ellas en la vascularización del cerebro, implicando un mayor territorio de nutrición (Van der zwan, 1991, 1992, 1993). Estas

arterias se originaron inmediatamente después de las arterias cerebrales medias en el lado correspondiente, dando origen en primer lugar, de manera inconstante, a las arterias estriadas mediales y luego a las arterias meníngicas rostrales, señaladas por Brown (1968) como arterias olfatorias en la rata. En su trayecto se observó una anastomosis longitudinal unilateral similar al reportado en ratas (Brow, 1968). Las arterias cerebrales anteriores terminaron uniéndose entre sí en ángulo agudo formando así un tronco común de igual manera que en la rata (Fibar, 1973); esta estructura dió origen a las arterias pericallosas derechas e izquierdas. A diferencia del humano, en la cepa de ratones en estudio no se observó una arteria comunicante anterior, en su lugar se formó un tronco común, denominado por Getty (1990) arteria común del cuerpo caloso y por Fibar (1973) tronco cerebral anterior.

2. Mecanismos de compensación vascular del círculo arterioso cerebral.

El círculo arterioso cerebral en esta cepa de ratones, tiene la capacidad de compensar el flujo sanguíneo cerebral del territorio vascular de la arteria carótida interna izquierda después 32 días de ligada y cortada la arteria carótida común ipsilateral. Este mecanismo de circulación colateral fue determinado por el aumento de los diámetros de las arterias del círculo arterioso, tanto en el segmento anterior como posterior, lo que debe inducir los cambios hemodinámicos que presentan la arteria carótida interna derecha y sistema vertebrobasilar para suministrar el flujo sanguíneo al territorio vascular de la arteria carótida interna izquierda. Estos aumentos en el diámetro podrían explicarse por aparición de

procesos de hiperplasia en la pared de los vasos, los cuales son inducidos por incremento del flujo sanguíneo (Faraci, 1990).

En el segmento anterior del círculo arterioso cerebral la colateralización vascular la proporcionó la arteria carótida interna derecha, quien suplió el área de vascularización de la arteria carótida interna izquierda a través de las arterias cerebral anterior derecha, tronco cerebral anterior y cerebral anterior izquierda; lo cual fue semejante a lo comunicado en el humano en los casos de oclusión o estenosis unilateral de la arteria carótida común y/o carótida interna (Raju, 1989; Schneider, 1991; Sipos, 1992; Chaudhuri, 1992), donde la arteria comunicante anterior permite el paso del flujo sanguíneo al mismo lado de la arteria ocluida. La similitud en este mecanismo de compensación destaca la homología del funcionamiento del tronco cerebral anterior del ratón con la arteria comunicante anterior en el humano, ya que permite el paso del flujo sanguíneo de un lado al otro del círculo arterioso cerebral, que en este estudio es del lado derecho al izquierdo; lo que implica un flujo reverso en la arteria cerebral anterior izquierda, como sucede en el humano; sin embargo, este flujo sanguíneo podría pasar a la arteria carótida interna izquierda y de allí a la arteria carótida externa, lo que ha sido reportado por Tindall (1963) en personas con oclusión unilateral de la arteria carótida común.

En el segmento posterior del círculo arterioso cerebral el sistema vertebrobasilar compensó a través de las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores, particularmente por medio de la porción izquierda o ipsilateral a la arteria carótida común seccionada. Esta porción de la arteria comunicante posterior permitió la restitución sanguínea al hemisferio

cerebral izquierdo, igual que la arteria cerebral anterior derecha, tronco cerebral anterior y cerebral anterior izquierda en el segmento anterior; la explicación es que probablemente hubo un reflujo sanguíneo en la porción proximal de la arteria comunicame posterior izquierda, de manera similar a lo indicado en conejos (Brehmer, 1988; Lehman, 1991) y en el humano (Schneider, 1991; Sipos, 1992). En cambio la arteria cerebral posterior no mostró cambios significativos en su diámetro, lo cual podría deberse a que el flujo sanguíneo es suministrado por la arteria basilar, que además compensa el lado izquierdo del círculo arterioso cerebral a través de la porción proximal de la arteria comunicame posterior ipsilateral. Tal señalamiento resalta la capacidad del círculo arterioso cerebral para equilibrar el flujo sanguíneo en ambos lados, lo cual explica el alto índice de sobrevivencia, sin trastornos motores aparentes, en los ratones donde se efectuaron estas maniobras.

Finalmente, el círculo arterioso cerebral en esta cepa de ratones es capaz de compensar la interrupción del flujo sanguíneo inducida por el corte de la arteria carótida común izquierda a través de dos vías colaterales, entitadas por la arteria carótida interna derecha y el sistema vertebrobasilar, esto último es similar a lo comunicado en conejos (Brehmer, 1988), los cuales de manera normal presentan un sistema vertebro-basilar bien desarrollado (Lehman, 1991).

3. Determinación de las áreas cerebrales infartadas.

Las áreas cerebrales vulnerables al infarto en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas comunes fueron evidentes a las 72 horas post-isquémia. Entre éstas se encontrarón

la corteza frontoparietal, cuerpo estriado e hipocampo derecho (CA.1, CA.2, CA.3, CA.4) y, con menor frecuencia, el núcleo septal, hipocampo izquierdo (CA.1, CA.2) y corteza occipital. Estos hallazgos coinciden en parte con lo reportado en roedores con oclusión bilateral simultánea de las arterias carótidas comunes (Crain, 1988; Milesón, 1991; Kuluz, 1992; Tsuchiya, 1992; García, 1993; Barone, 1993), con la diferencia de que las lesiones en el hipocampo no siempre fueron bilaterales y que la dimensión del infarto en cada una de las áreas cerebrales fue mayor en el hemisferio derecho, lo que sugiere que los mecanismos de compensación proporcionados por la parte distal de la arteria comunicante posterior izquierda y/o basilar son suficientes para disminuir los daños celulares en el hemisferio cerebral izquierdo; o bien, que el intervalo de 32 días entre el corte de las arterias carótidas comunes permite el desarrollo de angiogenesis (LaManna, 1992; Mironov, 1994; Krupinski, 1994).

Los trastornos conductuales motores identificados en los ratones estuvieron directamente relacionados con la extensión del infarto a nivel de la corteza frontoparietal y cuerpo estriado, tal como ha sido señalado por Castro (1972), Bederson (1986a) y Barone (1991). Sin embargo, dichas alteraciones no guardan relación con la disposición anatómica completa del círculo arterioso cerebral; lo cual implica que el infarto en cada una de las regiones cerebrales probablemente se deba a disturbios hemodinámicos como una hipoperfusión en los territorios más distales nutridos por las arterias cerebrales (Tamura, 1981; Tyson, 1984; Hossmann, 1985, 1993); o bien, a variantes en las colaterales de estas últimas (Stephen, 1992) y/o a procesos excitotóxicos propios del estado isquémico, como trastornos en la

homeostasis de la concentración intracelular del calcio (Hossman, 1985, 1993; Bondy, 1989; Dragunow, 1995), acumulación de ácido láctico (Tombaugh, 1993), liberación masiva de neurotransmisores y aminoácidos, tanto excitatorios como inhibitorios (Choi, 1988; Araki, 1993), e incremento en la generación de radicales libres (Yamamoto, 1983; Evans, 1993). La persistencia de la disminución del flujo sanguíneo como de los eventos bioquímicos post-isquémicos podrían ser los responsables de la prolongación de los daños celulares hacia los territorios adyacentes e influir en la extensión del infarto (García, 1984; Hossmann, 1985, 1993). La cual explicaría, en este estudio, la presencia de neuronas con diferentes procesos degenerativos que van desde células con citoplasma ligeramente oscurecido o aumentadas de tamaño con núcleos excéntricos y/o picnóticos en la periferia del infarto, hasta regiones desprovistas de células en el centro del mismo.

Los ratones que evolucionaron a la muerte durante la primera hora post-isquemia sólo presentaron ligeros cambios degenerativos en algunas neuronas cerebrales (corteza parietal e hipocampo), lo cual implica que el período de una hora no es suficiente para que se establezcan cambios celulares degenerativos evidentes, como fue reportado por Kirino (1984), Bederson (1986b) y Crain (1988). Sin embargo, estos ratones presentaron un círculo arterioso cerebral completo, similar al de los animales sacrificados a las 72 horas post-isquemia. Estas observaciones sugieren posibles efectos de variabilidad biológica que influyeron para que en estos ratones los disturbios hemodinámicos en el encéfalo fueran más severos, disturbios que han sido asociado a eventos de hipoperfusión acompañados con fallas en el reflujo sanguíneo, lo cual impediría la recuperación de las neuronas en muchas

regiones del encéfalo (Hossmann, 1985, 1993). En este sentido, también se ha comunicado la influencia que tienen los trastornos de la homeostasis de la concentración intracelular del calcio por mediar en la reducción del flujo sanguíneo cerebral a consecuencia de vasoespasmo y agregación plaquetaria (Bondy, 1989).

Los cambios estructurales incipientes encontrados en las neuronas cerebrales de los ratones con una hora post-isquemia explica el hecho de que en este estudio la tinción con clorhidrato de 2,3,5 trifeniltetrazolium no haya delimitado áreas de infarto cerebral ya que los procesos enzimáticos en este momento aún no están totalmente alterados; estos hallazgos concuerdan con los reportes de Bederson (1986a , 1986b) y Bednar (1994).

V. CONCLUSIONES

1. En esta cepa de ratones el círculo arterioso cerebral es, por lo general, completo. Caracterizado por presentar un patrón de tipo embrionario en la conformación de las arterias cerebrales posteriores y la presencia de un tronco cerebral anterior formado por la anastomosis convergente de las arterias cerebrales anteriores.

2. La cepa de ratones estudiada presentó 4 patrones vasculares determinados por la disminución y/o aumento del diámetro en algunas de las arterias que conforman el círculo arterioso cerebral como, disminución en el diámetro de la arteria cerebral anterior derecha; disminución en el diámetro de la arteria vertebral izquierda, aumento del diámetro de las arterias cerebrales posteriores, y ausencia de la porción distal de la arteria comunicante posterior izquierda.

3. No existe predominio en el diámetro de las arterias en un hemisferio cerebral respecto al otro; sin embargo, se demostró que la arteria cerebral anterior derecha presenta un diámetro mayor que el de las arterias cerebrales media y posterior ipsilaterales.

4. El círculo arterioso cerebral, en esta cepa de ratones, es capaz de compensar la interrupción del flujo sanguíneo producida por el corte de la arteria carótida común izquierda, a través de la arteria carótida interna derecha y el sistema vertebrobasilar por medio de las porciones distales de las arterias comunicantes posteriores, en particular la izquierda.

5. Las áreas cerebrales infartadas en ratones con corte secuencial de las arterias carótidas

comunes fueron la corteza frontoparietal, cuerpo estriado e hipocampo derecho; encontrándose que la extensión de las lesiones no se relacionó con variantes en la configuración del círculo arterioso cerebral.

6. Los trastornos conductuales motores caracterizados en los ratones se relacionaron de manera directa con el volumen del infarto en la corteza frontoparietal y cuerpo estriado en ambos hemisferios cerebrales.

VI. REFERENCIAS

1. Aguilar JA. Cerebral vascular insufficiency in rabbits after basilar artery ligation. *Neurophatol Exp Neurol* 1963;22:617-628.
2. Akai F, Yanagihara T. Identity of the dorsal hippocampal region most vulnerable to cerebral ischemia. *Brain Res* 1993;603:87-95.
3. Alpers BJ, Richard G, Berry MD. Circle of Willis in cerebral vascular disorders. *Arch Neurol* 1963;8:398-402.
4. Araki M, Kanai Y, Fumie M, Kato H, Kogure K. Postischemic changes in the binding of excitatory and inhibitory neurotransmitters in the gerbil brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993;45:945-949.
5. Barone FC, Clark RK, Feuerstein G, Lenkinski RE, Sarkar SK. Quantitative comparison of magnetic resonance imaging (MRI) and histologic analyses of focal ischemia damage in the rats. *Brain Res Bull* 1991;26:285-291.
6. Barone FC, Knudsen DJ, Nelson AH, Feuerstein GZ, Willette RN. Mouse strain differences in susceptibility to cerebral ischemia are related to cerebral vascular anatomy. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13(4):683-692.
7. Battacharji SK, Hutchinson EC, Mccall AJ. The circle of Willis - the incidence of developmental abnormalities in normal and infarcted brains. *Brain* 1967;90:747-758.
8. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji MB, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rats middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986a;17:472-476.
9. Bederson JB, Lawrence HP, Sabelle MG, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski A. Evaluation of 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 1986b;17:1304-1308.
10. Bednar MM, Fanburg JC, Anderson ML, Raymond SJ, Dooly RJJ, Groos CE. Comparison of triphenyltetrazolium dye with light microscopic evaluation in a rabbit model of acute cerebral ischaemia. *Neurol Res* 1994;16(2):129-132.
11. Biller J. Medical management of acute cerebral ischemia. *Neurol Clin* 1992;10(1):64-85.

12. Bonita R. Epidemiology of stroke. *The Lancet* 1992;339:342-344.
13. Bondy SC. Intracellular calcium and neurotoxic events. *Neurotoxicol Teratol* 1989;11:527-531.
14. Brehmer VA, Beleites B. The morphology of the circulus arteriosus cerebri of the rabbit and its changes following unilateral ligation of the common carotid artery. *Anat Anz* 1988;167:297-300.
15. Brow JO. The morphology of circulus arteriosus cerebri in rats. *Anat Rec* 1968;156:99-106.
16. Bugge J. The cephalic arterial system insectivores, primates, rodents and lagomorphs, with special reference to the systematic classification. *Acta Anat* 1974;87(Supl 2):1-96.
17. CDC. Cerebrovascular disease mortality and medicare hospitalization United States, 1980-1990. *MMWR* 1992;41:477-480.
18. Castro AJ. The effects of cortical ablations on digital usage in the rat. *Brain Res* 1972;37:173-185.
19. Chaudhuri R, Padayachee TS, Lewis R, Gosling RG, Cox TC. Non-invasive assessment of the circle of Willis using transcranial pulsed doppler ultrasound with angiographic correlation. *Clin Radiol* 1992;46:193-197.
20. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1988;1:623-632.
21. Cochrane CH. Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 1991;1(Supply 3c):3C-23S 3C-30S.
22. Coyle P. Diameter and length changes in cerebral collaterals after middle cerebral artery occlusion in the young rat. *The Anatomical Rec* 1984;210:357-364.
23. Crain BJ, Westerkam WD, Harrinson AH, Nadler JV. Selective neuronal death after transient forebrain ischemia in the mongolian gerbils: A silver impregnation study. *Neuroscience* 1988;27(2):387-402.
24. Dragunow M, Prestin K. The role of inducible transcription factors in apoptotic nerve cell death. *Brain Res Rev* 1995;21:1-28.

25. Edelman RR, Mattle IIP, Reilly GV, Wentz KV, Liu C, Zhao B. Magnetic resonance imaging of flow dynamics in the circle of Willis. *Stroke* 1990;21(1):56-65.
26. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull* 1993;49(3):577-587.
27. Faraci FM, Heistad D. Regulation of large cerebral arteries and cerebral microvascular pressure. *Circulation Res* 1990;66:8-17.
28. Fibar S. Uber den circulus arteriosus bei ratte, maus und goldhamster. *Anat Histol Embryol* 1973;2:243-251.
29. Fisher CM. Pure sensory stroke involving face, arm and leg. *Neurology* 1990;24:76-80.
30. Francke JP, Clarisse J, Dhellemmes P, Bousquet Ch, Mauroy BF. The arterial circle of the base of the brain and its feeding vessels in certain mammals. *J neuroradiology* 1977;4:271-289.
31. Froud MD. Studies on the arterial system of three inbred strains of mice. *J Morphol* 1959;104:441-478.
32. Garcia JH. Experimental ischemic stroke: a review. *Stroke* 1984;15:5-14.
33. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang Lian J, Chen S, Chopp M. Progression from ischemia injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Am J Pathol* 1993;142(2):623-635.
34. Gerhardt SC, Boast CA. Motor activity changes following cerebral ischemia in gerbils are correlated with the degree of neuronal degeneration in hippocampus. *Behav Neurosci* 1988;102:301-303.
35. Getty R. *Circulación cerebral. Anatomía de los animales domésticos. Tercera edición.* Barcelona, Salvat 1990;641-644.
36. Goldenberg G, Podreka I, Pfaffelmeyer N, Wessely P, Deeckel L. Thalamic ischemia in transient global amnesia. *Neurology* 1991;41:1748-1752.
37. Grotta JM, Ackerman R, Correa J, Falliek G, Chang J. Whole blood viscosity parameters and cerebral blood flow. *Stroke* 1982;13:296-301.

38. Hegedus K, Molnar L. Anatomical patterns of hypoplastic posterior communication arteries and their implications for cerebrovascular diseases. *Eur Arch Psychiatr Neurol Sci* 1987;236:241-246.
39. Hickey JV. Cerebral circulation demystified. *Clin Issues Crit Care Nurs* 1991;2(4):657-64.
40. Hillen B. The variability of the circle of Willis: univariate and bivariate analysis. *Acta Morphol Neerl Scand* 1986;24:87-101.
41. Hillen B. The variability of the circulus arteriosus (Willisii): order or anarchy. *Acta Anat* 1987;129:74-80.
42. Hillen B, Hoogstraten HW, Overbeeke JJ, Van der zwan A. Functional anatomy of the circulus arteriosus cerebri. *Bull Association des Anatomistes* 1991;75(229): 123-126.
43. Hossmann KA. Post-ischemia resuscitation of the brain: selective vulnerability versus global resistance. *Brain Res* 1985;63:3-17.
44. Hossmann KA. Ischemia-mediated neuronal injury. *Resuscitation* 1993;26:225-235.
45. Irwin S, Nodine H, Siegler PE. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: *Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation*. Year Book Med pubs 1964:36-44.
46. Kirino T, Sano K. Selective vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischemia. *Acta Neuropath* 1984;62:201-208.
47. Krupinski J, Kaluza J, Kumar S, Wang JM. Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemia stroke. *Stroke* 1994;25(9):1794-1798.
48. Kulus JW, Gregory GA, Yu A, Chang Y. Selective brain cooling during and after prolonged global ischemia reduces cortical damage in rats. *Stroke* 1992;23:1792-1797.
49. LaManna JC. Rat brain adaptation to hypobaric hypoxia. *Adv Med Biol* 1992;317:107-114.
50. Lehman M, Gary KO, Neal FK. Mechanism of enlargement of major cerebral collateral arteries in rabbits. *Stroke* 1991;22:499-504.
51. Levine S, Sohn D. Cerebral ischemia in infant and adult gerbils. Relation to incomplete circle of Willis. *Arch path* 1969;87:315-317.

52. Levy DE, Brierley JB. Communications between vertebrobasilar and carotid arterial circulation in the gerbils. *Exp Neurol* 1974;45:503-508.
53. Lye RH, Gee JS, Slater P, Latham A. Rat middle cerebral artery occlusion: use evoked potentials and tetrazolium staining to assess chronic ischaemia. *J Neurosci Methods* 1987;22:113-139.
54. Mackenzie JM. The anatomy of aneurysm bearing circles of Willis. *Clin Neuropathol* 1991;10(4):187-189.
55. Mayevsky A, Breuer Z. Brain Vasculature and mitochondrial responses to ischemia in gerbils. Basic anatomical patterns and biochemical correlates. *Brain Res* 1992;598:242-250.
56. Melo TP, Bogousslavsky J. Hemiataxia-hypesthesia: a thalamic stroke syndrome. *J Neurol Neurosurg psychiat* 1992;55:581-584.
57. Mileson BE, Schwartz RD. The use of locomotor activity as a behavioral screen for neuronal damage following transient forebrain ischemia in gerbils. *Neurosci Lett* 1991;128:71-76.
58. Mironov V, Hritz MA, La Manna JC, Hudetz AG, Harik SJ. Architectural alterations in rat cerebral microvessels after hypobaric hypoxia. *Brain Res* 1994;660:73-80.
59. Moffat DB. The development of the anterior cerebral artery and its related vessels in rats. *Am J Anat* 1961;108:17-29.
60. Moffat DB. The development of the posterior cerebral artery. *J Anat* 1961;95:485-494.
61. MuizeLaar JP, Wei EP, Koutos HA, Becker DP. Cerebral blood flow is regulated by changes in blood pressure and in blood viscosity alike. *Stroke* 1986;17(1):44-48.
62. Overbeekke JJV, Hillen B, Tulleken CAF. A comparative study of the circle of Willis in fetal and adult life. The configuration of the posterior bifurcation of the posterior communicating artery. *J Anat* 1991;176:45-54.
63. Palmer Ch, Towfigui J, Roberts RT, Heitjan DF. Allopurinol administered after inducing hypoxia-ischemia reduces brain injury in 7-day-old rats. *Pediatr Res* 1993;33:405-411.
64. Pansky B, Allen D. Review of Neuroscience. Blood Supply of the brain. Macmillan Publishing Co., New York 1980;116-122.

65. Pessin MS, Kwan ES, Scott MR, Hedges TR. Occipital infarction with hemianopsia from carotid occlusive disease. *Stroke* 1989;20:409-411.
66. Puclades O A, Gomez MN, Ortuñe PG. Variation in form of circle of Willis: some anatomical and embryological considerations. *Anat rec* 1975;185:119-124.
67. Raju TN, Kim SY, Meller JL, Srinivasan G. Circle of Willis blood velocity and flow direction after common carotid artery ligation for neonatal extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatrics* 1989;83(3):343-347.
68. Riggs HE, Rupp C. Variation in form of circle of Willis. *Arch Neurol* 1963;8:24-30.
69. Rodda RA, Path FR. The arterial patterns associated with internal carotid disease and cerebral infarcts. *Stroke* 1986;17(1):69-75.
70. Schomer DF, Marks MP, Steinberg GK, Johnstone IM, Boothroyo DB, Ross MR, Pele NJ, Enzmann DR. The anatomy of the posterior communicating artery as a risk factor for ischemic cerebral infarction. *N Engl J Med* 1994;330(22):1565-1570.
71. Schonfeld AR, Glick SD. Cerebrovascular abnormalities associated with seizure susceptibility in the mongolian gerbil. *Brain Res* 1979;173:147-151.
72. Schneider PA, Rossman ME, Eugene FB, Ringelstein EB, Otis SM. Noninvasive assessment of cerebral collateral blood supply through the ophthalmic artery. *Stroke* 1991;22(1):31-36.
73. Sidney S. Pruebas de rangos de Wicolxon. Estadística no Paramétrica. Tercera edición. Editorial Trillas. México 1990;99-108.
74. Sapos C. Modalities of compensation of cerebral circulation through the circle of willis in stenoses and occlusions of extracranial arteries. *Neurol Res* 1992;(14 suppl):150.
75. Stephen AM, Hoff JT, Betz LA. Middle cerebral artery occlusion in rats: a neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery* 1992;31:100-107.
76. Tamura A, Graham DY, McCulloch J, Teasdale GM. Focal cerebral ischaemia in the : I. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1981;1(1):53-60.

77. Testut L, Latarjet A. Circulación cerebral. Anatomía humana. Edición Novena. Barcelona, Salvat editores, 1979;1195-1237.
78. Tindall GT, Odom GL, Dillon ML, Cupp HB, Mahaley MS, Greenfield JC. Direction of blood flow in the internal y external carotid arteries following oclusion of the ipsilateral common carotid artery. *J Neurosurg* 1963;20:985-94.
79. Tombaugh GC, Sapolsky RM. Evolving concepts about the role of acidosis ischemic neuropathology. *J Neurochem* 1993;61:793-803.
80. Toyoda K, Minematsu K, Yamaguchi T. Long-term changes in cerebral blood flow according to different types of stroke. *J neurol Sci* 1994;121(2):222-223.
81. Tsuchiya M, Sako K, Yura S, Yonemasu Y. Cerebral blood flow and histopathological changes following permanent bilateral carotid artery ligation in wistar rats. *Exp Brain Res* 1992; 89: 87 - 92.
82. Tyson GW, Teasdale GM, Graham, McCulloch J. Focal cerebral ischemia in the rat topography of hemodynamic and histopathological changes. *Ann Neurol* 1984;15:559-567.
83. Van der zwan A, Hillen B. Review of the variability of the territories of major cerebral arteries. *Stroke* 1991;22:1078-1084.
84. Van der zwan A, Hillen B, Tulleken CAF, Dujovny M, Dragovic L. Variability of the major cerebral arteries. *J Neurosurg* 1992;77:927-940.
85. Van der zwan A, Hillen B, Tulleken CAF, Dujovny M. A quantitative investigation of the variability of the major cerebral territories. *Stroke* 1993;24(12):1951-1959.
86. Vincentelli G, Caruso G, Andriamamonji M, Rabehanta P, Graziani N, Grisoli F. Modalities of origen of the middle cerebral artery. *J Neurosurg Sci* 1990;34:7-11.
87. Vincentelli G, Lehman G, Caruso G, Grisoli F, Rabehanta P, Gouaze A. Extracerebral course of the perforation branches of the anterior communicating artery: microsurgical anatomical study. *Surg Neurol* 1991;35:98-104.
88. Wang D, Corbett D. Cerebral ischentia, locomotor activity and spatial mapping. *Brain Res* 1990;533:78-82.
89. Ward R, Collins RL, Tanguay C, Miceli D. A quantitative study of cerebrovascular variation in inbred mice. *J Anat* 1990;173:87-95.

90. Widman R, Miyazawa T, Hossman KA. Protective effect of hypothermia injury after 30 minutes of forebrain ischemia in rats is mediated by posts ischemic recovery of protein synthesis. *J Neurochem* 1993;61:200-209.
91. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Martin JB, Fauci AS, Root PK. Enfermedades cerebrovasculares. *Harrison Principios de Medicina interna*. Edición Doceava. México, Interamericana Mc Graw-hill 1981:2288-2317.
92. Wise JS, Bernardi S, Frackowiak J S, Legg N J. Serial observations on the pathophysiology of acute stroke. *Brain* 1983; 106: 197 - 222.
93. Wojtowicz Z, Kis G, Sawa J, Zahiska S. The posterior portion of the cerebral arterial circle in postnatal life. *Folia Morphol* 1989;48(1-4):113-122.
94. Yamamoto M, Shima T, Uozumi T, Sogabe T, Yamada K, Kwasaki T. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and the protective effect of tocopherol administration. *Stroke* 1983;14(6):977-982.
95. Yamaguchi K, Schoe FL. Blood vessels of the Peyer's in the mouse. *Anat Rec* 1983;206:391-401.
96. Yamori Y, Horie R, Handa H, Sato M, Fukase M. Pathogenetic similarity strokes in stroke-prone spontaneously hipertensive rats and humans. *Stroke* 1976;7:46-53.