



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LAS PRINCIPALES
ESTRUCTURAS DEL ENCÉFALO EN PERROS
(*Canis familiaris*) BRAQUICEFÁLICOS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

GRIZELL ROJAS DÍAZ

ASESOR: M. C. CARLOS IGNACIO SOTO ZÁRATE

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2011



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Estudio morfofétrico de las principales estructuras del encéfalo en perros
 (canis familiaris) braquicefálicos

Que presenta la pasante Grizell Rojas Díaz

Con número de cuenta: 099268077 para obtener el título de:

Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 16 de febrero de 2011.

PRESIDENTE Dr. Carlos Ignacio Soto Zárate

VOCAL MVZ. Arturo Carmona Ocañas

SECRETARIO QFB. Juana Alicia Alquicira Camacho

1er SUPLENTE MVZ. María Reyes Pichardo Molinero

2º SUPLENTE MVZ. Rocio Morales Mendez

RECONOCIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme culminar con mis estudios, gracias Dios por lo bondadoso y generoso que eres conmigo y con mi familia y sobre todo por el amor que me brindas diariamente.

A mis padres José Raymundo Rojas Serrano y Amparo Díaz Esquivel por todos sus cuidados, consejos, apoyo y su gran amor recibido durante toda mi vida. Gracias padres por su guía, comprensión y sus palabras de aliento brindadas en los momentos difíciles. Son maravillosos y los amo.

A mis hermanos Raymundo, Amparo, Martha, Jonatán Helena y Braulio, por su granito de arena que cada uno puso dándome un buen ejemplo y todo su amor.

A mi esposo Dagoberto Riaño Ruiz, por todo el apoyo y aliento que día a día me das para terminar esta aventura que comenzamos los dos y espero comenzar muchas más a tu lado.

A mis hijas Natalia Grizell Riaño Rojas y Valeria Lisseth Riaño Rojas por el cansancio y desvelos que pasaron para que yo pudiera terminar este trabajo, gracias princesas.

Agradezco al M.C. Carlos Ignacio Soto Zárate mi asesor de tesis por todo el apoyo, dedicación y esfuerzo que dedicó para poder concluir este trabajo, gracias doctor por su gran paciencia y por ser una persona maravillosa, sencilla y sobre todo un gran ser humano.

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México y principalmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán que me brindó el conocimiento en sus aulas, es un orgullo pertenecer a estas instituciones educativas y es un honor decir “soy de la UNAM”

Gracias a cada uno de mis profesores por aportar su conocimiento durante mi trayectoria escolar.

Agradezco a los miembros del jurado: Presidente, M. C. Carlos Ignacio Soto Zárate; Vocal, MVZ. Arturo Carmona Ocañas; Secretaria, QFB. Juana Alquicira Camacho; Primer suplente, MVZ. Ma. Reyes Pichardo Molinero; Segundo suplente, MVZ. Rocio Morales Méndez, por su colaboración y aportaciones para enriquecer este trabajo

Y especialmente a todas las personas que pensaron que no lo podría lograr ya que sus deseos fortalecieron los míos.

- *Este trabajo se realizó con el apoyo del proyecto PAPIME “Aplicación de técnicas de conservación en la producción de piezas anatómicas como apoyo a la enseñanza de la anatomía veterinaria”(clave PE201610) y de la Cátedra de Investigación “Morfología veterinaria y biología celular” (Clave PACIVE GVC-10).*

ÍNDICE

	Página
Resumen	7
Introducción	8
I. Sistema nervioso	8
II. Origen embrionario	9
a. Telencéfalo	10
a.1 Paleopallio	11
a.2 Neopallio	11
a.3 Arquipallio	12
a.4 Núcleos basales	12
b. Diencefalo	12
c. Mesencefalo	13
d. Metencefalo	14
d.1 Cerebelo	14
e. Mielsefalo	14
f. Médula espinal	15
III. La neuromorfometría y los estudios anatómicos del SNC	16
Objetivos	19
Materiales y Métodos	20
I. Características fenotípicas de los sujetos de estudio	20
II. Extracción, fijación de los encéfalos y mediciones iniciales	20
III. Realización de los cortes	21
a. Vista mediana	21
b. Vistas transversales	21
c. Vista producida por un corte dorsal	21
IV. Tinción de Mulligan (método de Barnard y Brow)	23
V. Obtención de fotos y el estudio morfométrico	24
VI. Calibración de las imágenes	25
VII. Análisis estadístico	25
Resultados	26
I. Mediciones iniciales	26
II. Vista mediana del encéfalo	27
III. Vistas transversales del encéfalo	30
IV. Vista de un corte dorsal del encéfalo	33
V. Resultados del análisis estadístico	34
Discusión	35
Conclusiones	38
Bibliografía	39

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Vista mediana del encéfalo de canino.	18
Figura 2. Vista transversal del encéfalo de canino.(corte a nivel del quiasma óptico).	18
Figura 3. Vista dorsal del encéfalo de un canino braquicefálico	22
Figura 4. Vista lateral del encéfalo de un canino braquicefálico	22
Figura 5. Vista mediana izquierda del encéfalo de un canino braquicefálico	28
Figura 6. Vista transversal obtenida con un corte a la altura del quiasma óptico	31
Figura.7. Vista transversal obtenida con un corte a la altura de la fisura pseudosilviana	31
Figura 8. Vista producida por un corte dorsal en el encéfalo de un canino Braquicefálico	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes y cavidades de las vesículas secundarias del encéfalo (Getty 1982, Dyce y col. 2007)	10
Tabla 2. Valores de las medidas iniciales obtenidas en encéfalos de caninos braquicefálicos	26
Tabla 3. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes de una vista mediana de encéfalo	29
Tabla 4. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes de vistas transversales de encéfalo	32
Tabla 5. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes de una vista dorsal del encéfalo	30

RESUMEN

Para este trabajo se extrajeron 11 encéfalos de cadáveres de caninos braquicéfalos que tuvieron un peso promedio de 21 kgs. Todos los encéfalos fueron sometidos a un periodo de fijación de 15 días en formol al 4% después del cual fueron utilizados para determinar los valores promedio para peso (111.7 ± 15 g), longitud (8.2 ± 0.5 cm), altura (5 ± 0.35 cm), ancho 1, determinado en el surco cruzado, (4.8 ± 0.3 cm) y ancho 2, sobre el borde saliente del giro ectosilviano caudal, (5.8 ± 0.2 cm). Posteriormente se realizaron los cortes necesarios con el fin de mostrar cuatro vistas distintas del encéfalo; mediana, transversales (2) y la producida por un corte dorsal. Con el fin de hacer evidentes las diferentes estructuras, los cortes resultantes, fueron teñidos con la técnica de Mulligan y fotografiados con una cámara digital y sobre las imágenes resultantes se realizó la medición de las estructuras más representativas del encéfalo, con un programa de análisis de imágenes (SigmaScan Pro). Cada una de las estructuras evaluadas, fueron medidas hasta en seis ocasiones en cada una de las imágenes utilizadas y al final se obtuvo su valor promedio y la desviación estándar. En la vista mediana se evaluó la longitud del acueducto mesencefálico (7.1 ± 1.0 mm), puente (10.1 ± 1.2 mm) y fosa romboidea (13.6 ± 1.4 mm), y el perímetro y el área del cuerpo calloso (67.6 ± 5.6 mm y 68.8 ± 14.4 mm²), fornix (44.5 ± 4.7 mm y 36.2 ± 10.5 mm²), cuerpo mamilar (8.9 ± 1.4 mm y 6.1 ± 1.7 mm²), quiasma óptico (9.1 ± 1.3 mm y 6 ± 1.7 mm²), comisura rostral (6.7 ± 1.0 mm y 3.0 ± 0.9 mm²) y adhesión intertalámica (25.8 ± 3.1 mm y 47 ± 11.3 mm²). En las vistas transversales se evaluaron la longitud del cuerpo calloso (17.2 ± 1.7 mm), el grosor de la corteza cerebral (2.8 ± 0.7 mm), y el perímetro y el área del núcleo caudado (35.9 ± 1.7 mm y 62.5 ± 11.3 mm²) y tálamo (43.2 ± 5.2 mm y 122 ± 28.5 mm²). En la vista mostrada por un corte dorsal se evaluó la longitud del acueducto mesencefálico (6.2 ± 0.9 mm), y el perímetro y el área del núcleo caudado (26.3 ± 1 mm y 36.9 ± 4.5 mm²), tálamo (34.4 ± 3.7 mm y 65.7 ± 6.1 mm²) y colículos rostrales (16.5 ± 2.4 mm y 18.6 ± 5.4 mm²). Finalmente se puede señalar que actualmente los estudios morfométricos conforman un campo dinámico que está construyendo las bases (imágenes y valores) que permitirán el uso de las nuevas tecnologías de diagnóstico por imagen (tomografía computarizada y resonancia magnética) en la práctica clínica veterinaria.

INTRODUCCIÓN

I. Sistema nervioso.

El sistema nervioso tiene como funciones gobernar y coordinar la actividad de todos los órganos, sistemas y aparatos del cuerpo. También es el regulador del comportamiento, considerado como la interacción entre el organismo y el medio en que se desenvuelve (Getty 1982, Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

El sistema nervioso central (SNC) es un sistema que anatómicamente se encuentra protegido por el cráneo y la columna vertebral. Está formado por el encéfalo localizado dentro de la cavidad craneal y la médula espinal localizada en el interior del canal vertebral y es el encargado de recibir los estímulos conducidos por los nervios del sistema nervioso somático y autónomo provenientes del medio externo (exterocepción) e interno (propiocepción) (Dyce y col. 2007).

En el encéfalo se distinguen tres partes principales; cerebro, cerebelo y tallo encefálico. Por su parte la médula espinal se divide en cinco porciones; cervical, torácica, lumbar, sacra y caudal (Getty 1982, Dyce y col. 2007).

Los órganos que conforman al SNC reciben las señales provenientes del medio externo e interno y son ellos los que originan los cambios que hacen posible la adaptación del individuo. A través de múltiples conexiones y mediadores químicos van a regular el funcionamiento del resto de los órganos. Por otro lado, las respuestas del sistema nervioso a la estimulación son flexibles, es decir, no siempre responden a un mismo estímulo de igual manera (Dyce y col. 2007, Getty 1982, Herrera y col. 2008).

La red de comunicación que mantiene conectado a cada uno de los órganos del cuerpo con el SNC, se denomina sistema nervioso periférico (SNP) formado por los nervios craneales, nervios espinales, ganglios, plexos nerviosos y terminaciones nerviosas sensitivas. Este sistema se encarga de captar los cambios sucedidos en el medio externo e interno, los conduce al SNC donde, después de ser procesados, provocan la generación de una respuesta. Dentro de los estímulos ambientales se encuentran; los cambios climáticos, el día y la noche, la luz y las señales de peligro, entre otros (Dyce y col. 2007, Habel 1988).

Al estudiar la anatomía del SNC se encuentra que las estructuras que lo conforman no están delimitadas de manera precisa a la función de cada una de ellas (como sucede en los aparatos digestivo y respiratorio, por mencionar algunos), sino más bien forman una red

intrincada de neuronas y procesos (axones y dendritas), de ahí que el estudio de la anatomía del encéfalo y médula espinal resulte sumamente complejo (Dyce y col. 2007).

Para realizar una descripción adecuada de las diferentes porciones del SNC seguiremos el orden señalado por el origen embriológico de cada una de ellas.

II. Origen embrionario.

Una vez que se desarrolla el disco embrionario, inicia la fase de neurulación en donde mediante eventos de proliferación y diferenciación celular, se puede observar a lo largo de la superficie dorsal del ectodermo embrionario una prominencia que dará origen al sistema nervioso, la lámina neural. Un poco después se observará la formación del surco neural, por la presencia de dos elevaciones que se pliegan para finalmente fundirse y formar el tubo neural a cuyos lados se notan dos cúmulos neuronales, las crestas neurales, de donde derivarán los ganglios del sistema nervioso periférico. La luz del tubo neural, el canal neural, presenta en sus extremos a los neuroporos que al poco tiempo se cierran (Dyce y col. 2007).

Un poco después, en la porción cefálica del embrión se empieza a observar un ensanchamiento del tubo neural que dará origen al encéfalo, el resto del tubo neural que permanece sin cambios originará a la médula espinal en donde el canal neural permanecerá como el canal central. En un inicio dicho ensanchamiento está formado por tres vesículas primarias, denominadas de rostral a caudal; prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo. Posteriormente, el prosencéfalo y el rombencefalo se dividen cada una en dos partes, dando origen a las vesículas secundarias; telencéfalo, diencéfalo (derivadas del prosencéfalo), mesencéfalo y el metencéfalo y mielencéfalo (originadas del rombencéfalo). De cada una de estas vesículas se originarán los diferentes componentes del encéfalo y el canal neural que persiste en estas vesículas formará el sistema ventricular encefálico (Dyce y col. 2007).

Tabla 1. Componentes y cavidades de las vesículas secundarias del encéfalo
(Getty 1982, Dyce y col. 2007)

VESÍCULAS	COMPONENTES DERIVADOS	CAVIDADES
TELENCÉFALO	Corteza cerebral: giros y surcos, trígono olfatorio Bulbos, pedúnculos y tractos olfatorios, lóbulo piriforme Hipocampo-fornix-comisura rostral Tabique telencefálico Núcleos basales-Cuerpo estriado: caudado, lentiforme, claustro y amígdala	Ventrículos laterales (I y II)
DIENCÉFALO	Epitálamo: habenula, glándula pineal Tálamo: adhesión intertalámica, núcleos talámicos, Metatálamo: cuerpos geniculados (lateral y medial) Hipotálamo: quiasma óptico-tractos ópticos hipófisis, infundíbulo, tubérculo ceniciento, cpos. Mamilares	Tercer ventrículo
MESENCÉFALO	Techo mesencefálico: colículos rostrales y caudales pedúnculo cerebelar rostral Pedúnculos cerebrales: tegmento y pilares cerebrales fosa interpeduncular	Acueducto mesencefálico
METENCÉFALO	Cerebelo: hemisferios (laterales y vermis) y folias Puente: pedúnculo cerebelar medio	Cuarto ventrículo
MIELENCÉFALO	Médula oblongada: fosa romboidea, pedúnculo cerebelar caudal, pirámides y cuerpos trapezoides	Cuarto ventrículo

Se hará una descripción de los diferentes componentes del SNC con base a las formaciones macroscópicas fácilmente identificables y se anotarán otras que aunque no se pueden delimitar con precisión es posible ubicarlas usando referencias de posición y relaciones anatómicas.

a. Telencéfalo.

Forma la mayor parte del encéfalo y es lo que comúnmente se conoce como cerebro. La estructura básica del telencéfalo es el palio, el cual está formado por un manto de sustancia gris y la sustancia blanca subyacente. Durante el proceso evolutivo se desarrollan tres diferentes palios; el paleopalio (el más primitivo), el arquipalio (el segundo en aparecer) y el neopalio (el último en surgir y por lo tanto, el más reciente) (Dyce y col. 2007).

a.1. Paleopalio.

Forma la parte basal del encéfalo, se ubica lateral y rostralmente al tallo encefálico. Está constituido por los bulbos, pedúnculos y tractos olfatorios, así como por los lóbulos piriformes. Estas estructuras están relacionadas con la conducción e integración de los impulsos nerviosos del sentido del olfato (Getty 1982, Dyce y col. 2007).

a.2. Neopalio.

Está formado por dos partes, la corteza cerebral (sustancia gris) y la sustancia blanca subyacente, en conjunto forman a los hemisferios cerebrales que constituyen la mayor parte del telencéfalo. Existen dos hemisferios cerebrales, derecho e izquierdo, separados entre sí por la fisura longitudinal. Cada hemisferio es una estructura de forma más o menos ovalada con una superficie lateral convexa, una superficie medial aplanada que se relaciona con la equivalente del hemisferio del lado opuesto y una superficie caudal, también aplanada que se relaciona con el cerebelo y que está separada de éste por la fisura transversa (Herrera y col. 2008, Getty 1982, Dyce y col. 2007).

En la superficie de cada hemisferio se pueden apreciar una serie de prominencias o giros separados por surcos. Estos giros y surcos corresponden al plegamiento de la corteza cerebral que, al aumentar de tamaño durante el proceso evolutivo, no encuentra suficiente espacio dentro de la cavidad craneal y por tanto tiene que doblarse sobre sí misma (Herrera y col. 2008).

La sustancia blanca de los hemisferios cerebrales está formada por una serie de tractos nerviosos que ascienden y descienden hacia y desde la corteza cerebral. Estos tractos se han dividido de acuerdo al origen y destino de sus componentes en fibras de asociación, fibras comisurales y fibras de proyección. Las fibras de asociación son aquellas que conectan dos áreas o regiones del mismo hemisferio. Las fibras comisurales están formadas por una serie de tractos que conectan a los hemisferios cerebrales entre sí. El cuerpo calloso es el ejemplo más evidente de este tipo de fibras y se puede observar como relaciona a ambos hemisferios cuando en una vista dorsal se separan dichos hemisferios. Las fibras de proyección son los tractos que conectan a la corteza cerebral con el paleopalio, el arquipalio, los núcleos basales y el tallo encefálico. Forman una estructura que por la apariencia dada por la dirección de sus fibras (ascendentes y descendentes) se denomina corona radiada (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

a.3. Arquipalio.

Es la segunda parte del encéfalo en aparecer durante la evolución. La presencia del cuerpo calloso hace que el arquipalio se divida en una parte dorsal y otra ventral. La parte dorsal está formada por una región que se observa como un componente de la corteza cerebral y está constituida por dos giros presentes en la superficie medial de cada hemisferio; son los giros supracaloso y cingular (Dyce y col. 2007).

La parte ventral está formada por el hipocampo, el cual tiene forma de cuernos de carnero. La porción caudal del hipocampo es más ancha y se adelgaza paulatinamente conforme se acerca a la superficie dorsal del tálamo, en esta zona se origina el fornix que es un tracto que conecta al hipocampo con los cuerpos mamilares. El fornix es una banda de fibras nerviosas que en su inicio está situada por debajo del cuerpo calloso; a este nivel los hipocampos se conectan entre sí mediante fibras comisurales (comisura del fornix). El fornix también se conecta con el cuerpo calloso mediante una serie de fibras que forman un tabique delgado membranoso denominado tabique telencefálico (Getty 1982, Dyce y col. 2007).

a.4. Núcleos Basales.

Son un grupo de grandes núcleos situados sobre el paleopalio. Los núcleos basales están embebidos en la sustancia blanca, existiendo una alternancia entre los núcleos y dicha sustancia lo que da a esta región un aspecto estriado al corte, por lo que en conjunto se le denomina cuerpo estriado. Los núcleos basales que conforman al cuerpo estriado son el caudado, el lentiforme (pálido y putamen), el claustro y la amígdala. El complejo pudo haber tenido su importancia original en relación al olfato, pero ahora ha adquirido funciones adicionales en relación con otras funciones sensoriales tales como el control de la postura y la actividad muscular; principalmente inhibe el movimiento no intencional cuando está en reposo (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

b. Diencéfalo.

Está cubierto por los hemisferios cerebrales formando la parte más rostral del tallo cerebral y se forma por el epitálamo, el tálamo y el hipotálamo (Dyce y col. 2007).

El tálamo es el mayor componente del diencefalo y para observarlo es necesario retirar los hemisferios cerebrales y el hipocampo. Es el centro principal de relevo sensorial; influye en el humor y las acciones asociadas con emociones fuertes como el miedo y la ira. También está involucrado en los movimientos (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

El epitálamo es la parte del diencefalo que se desarrolla a partir del techo del tercer ventrículo. Contiene un núcleo que responde a la estimulación olfatoria, respuestas emocionales y viscerales a los olores. Como parte del epitálamo está el cuerpo pineal que es una glándula endocrina situada en posición dorsocaudal con respecto al tálamo, entre los hemisferios cerebrales y el cerebelo (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

El hipotálamo es la porción más ventral del diencefalo, se desarrolla del piso del tercer ventrículo. Es la única porción del diencefalo que se puede observar desde la superficie, en la base del encéfalo y contiene varios pequeños núcleos y tractos nerviosos. Los núcleos más conspicuos llamados cuerpos mamilares sirven como estaciones de relevo para reflejos relacionados con el olfato y respuestas relacionadas a los olores. El hipotálamo también desempeña un importante papel en el control de muchas actividades corporales y es uno de los reguladores principales de la homeostasis. Influye en la regulación del sistema endocrino, pues regula la secreción de hormonas de la hipófisis, que influyen en funciones tan diversas como metabolismo, reproducción, respuestas a los estímulos de tensión o producción de orina (Herrera y col. 2008).

c. Mesencéfalo.

También conocido como cerebro medio, está entre el tálamo y el puente y dorsalmente está cubierto por los hemisferios cerebrales y el cerebelo. Está formado por una parte dorsal (techo mesencefálico formado por los colículos rostrales y caudales) y otra ventral (pilares cerebrales). Contiene tractos nerviosos ascendentes y descendentes, constituye el centro del reflejo visual; además, es parte de las vías auditivas (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

Internamente encontramos sustancia gris alrededor del acueducto mesencefálico formando la sustancia gris periacueductal y en el resto del cerebro medio está fragmentada formando núcleos, dentro de los que destacan los núcleos de los nervios craneales, el núcleo rojo y la sustancia negra. El núcleo rojo ayuda en la regulación y coordinación

inconsciente de las actividades motoras. La sustancia negra contiene gránulos de melanina citoplasmática que da el color gris oscuro o negro y está involucrada en mantener el tono muscular, coordinar los movimientos y la actividad muscular subconsciente (Herrera y col. 2008).

d. Metencéfalo.

Formado por el puente y el cerebelo. El puente es una dilatación en forma de barra transversal que se localiza en la parte ventral del encéfalo, su parte central es ensanchada y se adelgaza hacia los extremos en donde se conecta con el cerebelo mediante los pedúnculos cerebelares medios (Dyce y col. 2007).

Internamente encontramos a la sustancia gris arreglada en columnas envueltas por sustancia blanca. En el puente las columnas se fragmentan formando los núcleos de los nervios craneales y también está la formación reticular y la sustancia blanca formada por tractos ascendentes y descendentes que se encuentran en el cerebro y cerebelo por lo que retransmiten información entre ellos; además constituye un centro reflejo (Dyce y col. 2007, Herrera y col. 2008).

d.1. Cerebelo.

Es una masa más o menos globosa, llena de surcos, situada sobre el puente y la médula oblongada. Se sostiene y conecta con el tallo encefálico mediante los pedúnculos cerebelares. Es el órgano que controla el tono y el movimiento muscular; regula el balance de extensión de movimientos intencionales; además está involucrado en el aprendizaje de habilidades motoras (Getty 1982, Dyce y col. 2007).

e. Mielencéfalo.

Está formado por la médula oblongada que corresponde a la dilatación rostral de la médula espinal. La médula oblongada es una estructura cilíndrica, aplanada dorsoventralmente, de ahí que para su descripción presente dos superficies; dorsal y ventral. Ambas superficies recuerdan a la médula espinal ya que presentan los mismos surcos (mediano dorsal, intermedios dorsolaterales e intermedios ventrolaterales) y a la fisura mediana ventral (Getty 1982, Dyce y col. 2007).

En la parte rostral de la superficie dorsal está la fosa romboidea a cuyos lados se observan los tres pilares que sostienen al cerebelo; los pedúnculos cerebelares rostral, medio y caudal, este último formado por fibras que conectan a la médula oblongada con el cerebelo (Dyce y col. 2007).

A ambos lados de la fisura mediana ventral están las pirámides, elevaciones longitudinales que se extienden rostralmente hasta el puente. Caudalmente al puente y dispuestos transversalmente están los cuerpos trapezoides, uno al lado del extremo rostral de cada pirámide (Dyce y col. 2007).

La médula oblongada es el camino de los tractos nerviosos, ascendentes y descendentes; asimismo, es el centro de varios reflejos importantes, como la frecuencia cardiaca, la respiración y la deglución entre otros (Herrera y col. 2008).

f. Médula espinal.

Es la parte del SNC encerrada dentro de la columna vertebral. Macroscópicamente, la médula espinal aparece como una masa continua de tejido nervioso. Es una estructura cilíndrica, algo aplanada dorsoventralmente. Se puede dividir en cinco regiones; cervical, torácica, lumbar, sacra y caudal, las cuales se corresponden con las vértebras respectivas (Dyce y col. 2007). Es extremadamente importante para el funcionamiento total del sistema nervioso, pues es el principal vínculo de comunicación entre el encéfalo y el SNP. Integra la información que ingresa y produce respuestas a través de mecanismos reflejos (Herrera y col. 2008).

Sin el buen funcionamiento del sistema nervioso en su conjunto, la vida de cualquier individuo sería muy difícil ó prácticamente imposible. En relación con este sistema, cabe señalar que cada especie presenta características propias que corresponden con su grado de desarrollo evolutivo (Dyce y col. 2007).

III. La neuromorfometría y los estudios anatómicos del SNC.

La neuromorfometría estudia o analiza la forma y el tamaño de las diferentes estructuras que conforman al sistema nervioso de manera ordenada y sistemática por medio de la obtención de valores cuantitativos y busca la relación entre estos valores y el estado fisiológico y/o patológico del individuo (Haug, 1986, Bolender y col. 1991, Uylings y col. 1986).

La neuromorfometría es una ciencia que inicia a mediados del siglo XIX aunque, debido a las grandes variaciones reportadas, a finales del mismo siglo estas investigaciones ya habían disminuido drásticamente. Aún en los primeros 30 años del siglo XIX muchos científicos consideraban que las cuantificaciones realizadas hasta entonces no tenían aplicación en las neurociencias. A finales del siglo XIX fueron introducidos nuevos e importantes procedimientos por Ramón y Cajal, Golgi y otros, los cuales tuvieron gran impacto sobre el análisis de los procesos neuronales (Haug, 1986).

La neuromorfometría y en general la mayoría de las disciplinas científicas han aprovechado el desarrollo que los sistemas y programas computacionales han presentado en los últimos años. Desde 1970 la computadora y el análisis de imágenes digitalizadas han dado una nueva dimensión a la investigación en morfología (Haug, 1986). Este persistente cambio para la biología, de descriptiva a cuantitativa, está llevándose a cabo por la disponibilidad de nuevos métodos experimentales y la aplicación de herramientas computacionales (Bolender, 1992). La morfología cuantitativa ha sufrido cambios dramáticos en los años recientes y hoy virtualmente todas las estructuras biológicas pueden ser cuantificadas y medidas con mayor facilidad y exactitud incluso aquellas dispuestas en formas tridimensionales (Jernigan y col. 1990, Nagale y col. 1991).

Actualmente los estudios morfométricos son una herramienta útil para abordar el estudio del SNC en una gran variedad de especies, pues a partir de mediciones y del uso de programas de cómputo se pueden obtener datos morfométricos con exactitud, facilidad y rapidez, además de facilitar la labor de la interpretación de los datos obtenidos, reduciendo tiempo y esfuerzo (Bolender, 1992, Bolender y col. 1991).

Los estudios morfométricos permiten obtener datos cuantitativos ayudados por diversas herramientas y técnicas de medición, así se pueden determinar características como peso, tamaño, densidad, volumen, etc., de las diferentes estructuras que conforman a

un organismo. Estas mediciones se pueden realizar en cualquier etapa del crecimiento y en cualquier estado fisiológico y/o patológico del individuo (Haug 1986, Bolender y col. 1991, Bolender 1992, Nitza y col. 2006). Al realizar este tipo de estudios se busca determinar una relación directa entre los valores obtenidos con estados patológicos específicos (True 1996, Bolender 1992, Nitza y col. 2006).

Los estudios morfométricos tienen la particularidad de ser versátiles de tal manera que se pueden aplicar a diferentes niveles biológicos; organelos, células, tejidos u órganos, con el fin de emitir el diagnóstico de lesiones específicas (True 1996). En la actualidad, los estudios morfométricos ya están siendo aplicados en medicina humana con el fin de diagnosticar tumores (Haug 1986), enfisema pulmonar (Kohlhauf y col. 1998), fracturas de la columna vertebral (Pak y col. 1996), glaucoma (Stroux y col. 2003), esquizofrenia (Nopoulos y col. 1998, Gaser y col. 2001), malformaciones de la sustancia gris (Wilke y col. 2003), entre otras. Se espera que en un futuro este tipo de estudios también sean aplicados en medicina veterinaria (Vullo y col. 1997, De Vico y col. 2002).

Debido a su complejidad y localización anatómica, el SNC es de difícil exploración y la aplicación de los métodos usuales de diagnóstico por imagen (rayos X y ultrasonido) suelen ser poco útiles, por lo que el diagnóstico de patologías propias del SNC se torna particularmente difícil, sino es que imposible (Feeney y col 1991, Keally y McAllister 2000, Oliver y Green 1983). Así, las técnicas de elección son la Tomografía Computarizada (TC) y la Imagen por Resonancia Magnética (IRM), estas técnicas de neurodiagnóstico son frecuentemente usadas en medicina humana y permiten diagnósticos finos y certeros (Gaser y col. 2001, Ashburner y col. 1998, Buchsbaum y col. 1997). Actualmente, sin embargo, esta tecnología es de disposición limitada en medicina veterinaria, pero es con estas técnicas (TC e IRM) con las que los datos morfométricos del SNC tendrán un valor aplicado importante (Assheuer y Sager 1997, Fike y col. 1986).

Por otra parte se puede considerar que la realización de este tipo de estudios en el encéfalo de perros sanos es importante ya que ésta especie es ampliamente utilizada en trabajos experimentales en las neurociencias (Weis 1991).

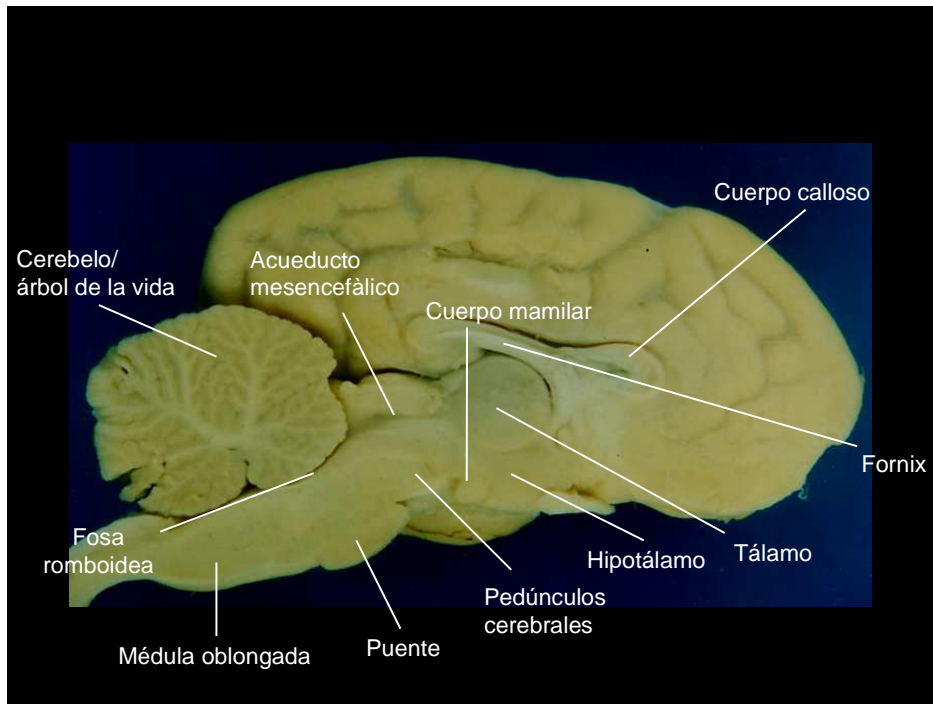


Figura 1. Vista mediana del encéfalo de canino.

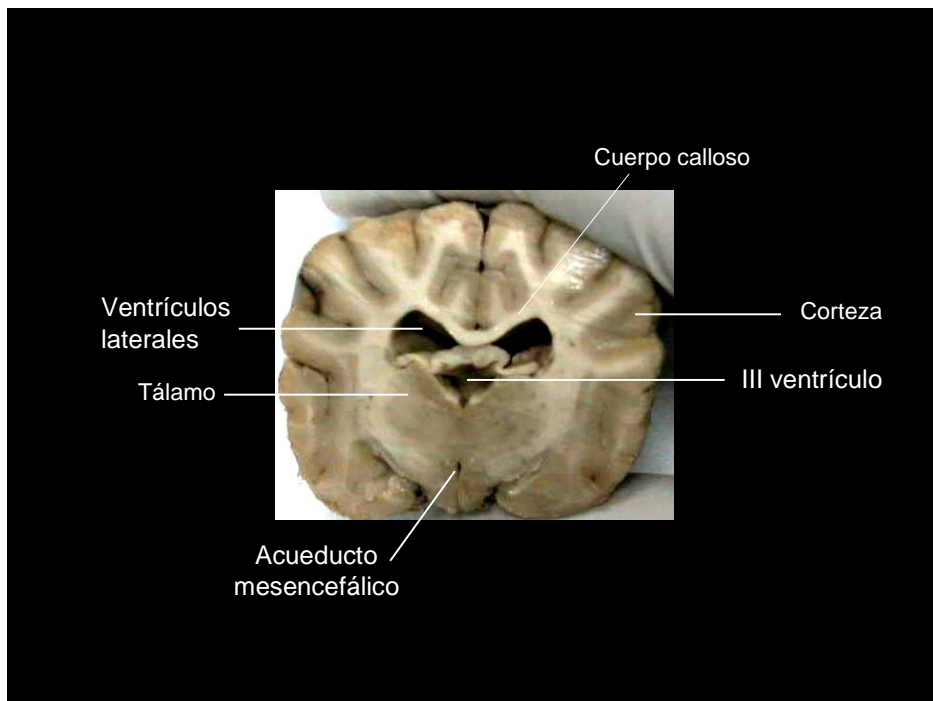


Figura 2. Vista transversal del encéfalo de canino.
(corte a nivel del quiasma óptico).

OBJETIVOS

- a. Obtener imágenes digitales de cortes de encéfalo procesados mediante la tinción de Mulligan.

- b. Determinar longitud, perímetro y área de las principales estructuras del encéfalo mediante un programa de análisis de imágenes.

- c. Determinar el valor promedio de cada una de las estructuras analizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

I. Características fenotípicas de los sujetos de estudio.

Con el fin de seleccionar adecuadamente a los sujetos para este estudio se consideraron dos criterios; animales braquicefálicos y que su peso corporal estuviera dentro de un rango de 18-23 kgs. Un animal braquicéfalo es aquel que presenta un cráneo corto y ancho, anatómicamente esta característica se puede definir mediante el índice craneofacial, que es la relación que existe entre la longitud del cráneo y de la cara. Para las razas braquicéfalas extremas se considera una relación de 10:3 (3.3) (Getty 1982). En general, los animales considerados para este estudio tuvieron un índice craneofacial superior a 2.0.

Se utilizaron once perros braquicéfalos provenientes del antirrábico de Cuautitlán, Mex. Los animales considerados para este estudio presentaban, en mayor o menor grado, características fenotípicas de las siguientes razas; Sharpei, Boxer, Rotweiller y Bull-Terrier, y tuvieron un peso promedio de 21 kgs. Los animales fueron sacrificados mediante la aplicación de una sobredosis de pentobarbital sódico por vía endovenosa.

II. Extracción, fijación de los encéfalos y mediciones iniciales.

Los encéfalos fueron extraídos inmediatamente después del sacrificio según el método descrito por Aluja (1980) y modificado por Trejo-Maya (1994). Luego fueron sometidos a un periodo de fijación por 15 días en una solución de formol al 4%, durante este tiempo los encéfalos estuvieron suspendidos dentro de la solución fijadora con el fin de evitar deformaciones por compresión.

Después del periodo de fijación, los encéfalos fueron pesados en una balanza y con un calibrador (Vernier), se determinaron cuatro de sus dimensiones generales (Fig. 3).

- 1. Longitud.** Se consideró desde el borde rostral del cerebro hasta la parte caudal del cerebelo.
- 2. Altura.** Se midió la distancia entre la superficie de la mesa sobre la cual se apoyaba la cara ventral del encéfalo (sin hipófisis) hasta el punto más alto del giro marginal del cerebro.
- 3. Ancho 1.** Es la parte angosta del cerebro que coincide con el surco cruzado (Fig. 3).

4. Ancho 2. Es la parte más ancha del cerebro y fue tomada sobre el borde saliente del giro ectosilviano caudal (Fig. 3).

III. Realización de los cortes.

Los cortes fueron realizados con un cuchillo bien afilado, lubricado con glicerina y con la longitud adecuada para realizar el corte en un solo tiempo. Todo lo anterior con el fin de evitar la formación de marcas, ya que durante la tinción se deposita en ellas el colorante y se vuelven muy evidentes.

a. Vista mediana

La mayoría de las mediciones reportadas en este estudio se hicieron en la vista mediana del encéfalo. Para poder realizar la tinción de Mulligan (Aja 1987), se obtuvo una porción de encéfalo mediante dos cortes longitudinales. El corte inicial se realizó justo sobre la línea mediana (fisura longitudinal del cerebro) y posteriormente se realizó un corte sagital sobre el surco marginal (Fig. 3-4). Finalmente se obtuvo la imagen de la superficie medial de la preparación.

b. Vistas transversales

En este trabajo fueron utilizadas dos vistas transversales; una a la altura del quiasma óptico (Fig. 4-1) y la otra con un corte realizado a la altura de la fisura pseudosilviana (Fig. 4-2). Para obtener porciones de cerebro se realizaron tres cortes transversales; el primer corte se realizó a nivel del quiasma óptico, el siguiente sobre la fisura pseudosilviana y el último corte se realizó rostralmente al puente (Fig.4-3). En todos los casos la imagen utilizada para realizar las mediciones correspondió a la vista rostral.

c. Vista producida por un corte dorsal

Las estructuras evaluadas en este trabajo fueron tomadas de la vista que dejó un corte dorsal que se realizó sobre el surco rinal lateral (Fig. 4-4).

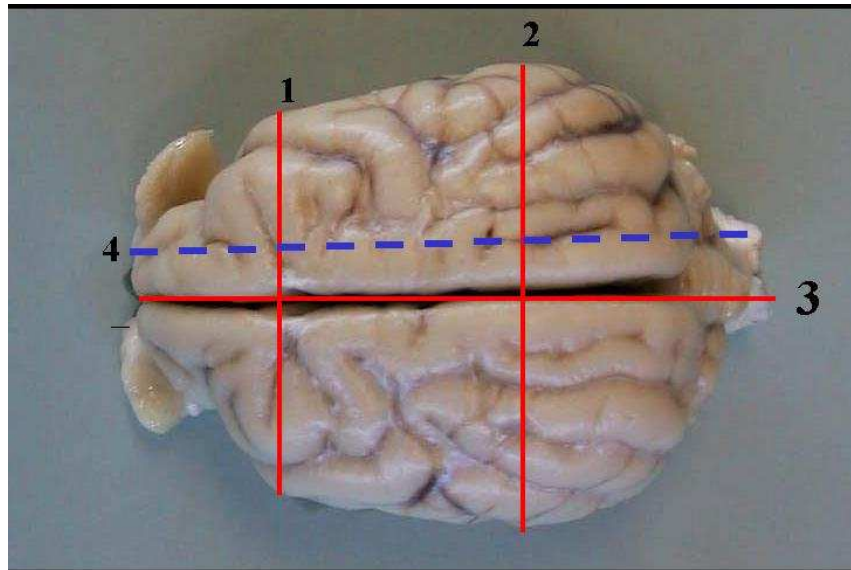


Figura 3. Vista dorsal del encéfalo de un canino braquicefálico. 1 Parte angosta del cerebro. 2. Parte ancha del cerebro. 3. Longitud total del encéfalo. 4. La línea punteada ilustra el corte sagital realizado sobre el surco marginal.

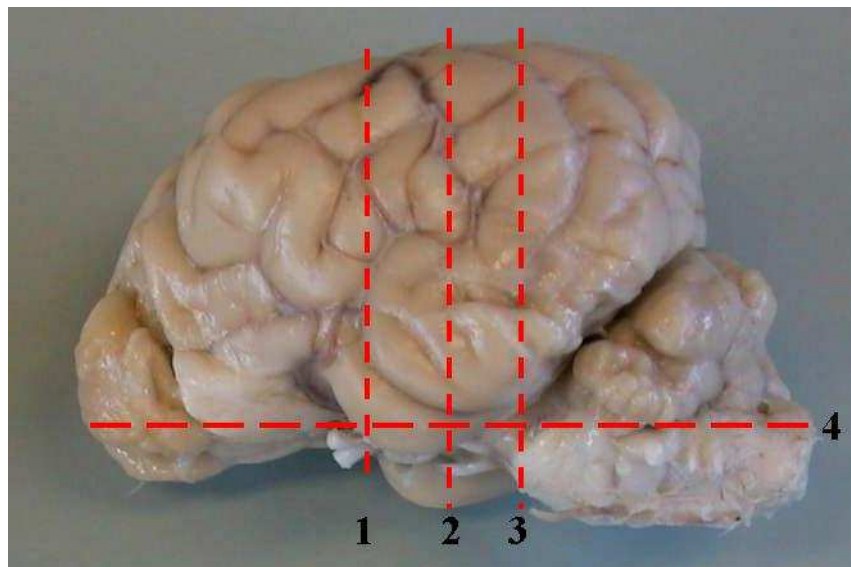


Figura 4. Vista lateral del encéfalo de un canino braquicefálico. 1. Corte transversal realizado sobre el quiasma óptico. 2. Corte transversal realizado sobre la fisura pseudosilviana. 3. Corte transversal realizado rostralmente al puente. 4. Corte dorsal realizado sobre el surco rinal lateral.

IV. Tinción de Mulligan (método de Barnard y Brow).

Antes de realizar la tinción de Mulligan, los encéfalos fueron lavados en agua corriente durante 24 horas y, finalmente, en agua destilada por una hora.

Las rebanadas de encéfalo fueron teñidas por el método de Barnard y Brow según lo describe Trejo-Maya (1994), mediante esta técnica la sustancia gris del encéfalo adquirió un color azul, lo cual permitió distinguir de forma evidente las diferentes estructuras del encéfalo. Después de teñidos, los cortes fueron mantenidos en una solución de formol al 4%.

Técnica:

1. Colocar las rebanadas del cerebro en la solución de fenol de Mulligan a 60°C durante dos minutos. Asegurándose de que queden completamente sumergidas.
2. Lavar con agua a una temperatura de $\approx 30^{\circ}\text{C}$ durante un minuto.
3. Sumergirlas durante dos minutos en una solución de cloruro férrico al 1% hasta que se pueda diferenciar la sustancia gris.
4. Lavar con agua corriente durante un minuto.
5. Sumergir cada corte en una solución de ferrocianuro de potasio al 1% hasta que la sustancia gris tome un color azul brillante.
6. Lavar una vez más con agua corriente durante un minuto. Si la coloración azul no es intensa sumergir nuevamente la pieza en la solución de cloruro férrico durante otro minuto y lavarla nuevamente.
7. Finalmente, las piezas se conservan en una solución de formol al 10%. Los cortes deben ser uniformes para evitar depósitos de colorante en los surcos cerebrales o en las marcas producidas ya que no son bien eliminados durante el lavado.

Como medida de seguridad se recomienda usar guantes y cubreboca durante la realización de esta técnica (el ácido clorhídrico es altamente corrosivo y el ferrocianuro de potasio es muy tóxico), además de que se debe realizar en un lugar bien ventilado (Arroyo, 1962).

Solución de fenol de Mulligan (Aja, 1987)

Cristales de fenol	20 g
Ácido clorhídrico concentrado	0.6 ml
Sulfato de cobre	2.5 g
Agua destilada, cbp	500 ml

Cloruro férrico al 1%

Cloruro férrico	5 g
Agua destilada, cbp	500 ml

Ferrocianuro de potasio al 1%

Ferrocianuro de potasio	5 g
Agua destilada, cbp	500 ml

V. Obtención de fotos y el estudio morfométrico.

Se obtuvieron las imágenes de las vistas producidas mediante una cámara digital y se almacenaron en una computadora, en la cual, posteriormente, se realizó el estudio morfométrico. Para esto se utilizó un programa de análisis de imágenes SigmaScan Pro, se determinó la longitud, el perímetro y el área de las estructuras más representativas del encéfalo. Las estructuras evaluadas fueron: corteza cerebral, cuerpo calloso, fórnix, núcleo caudado, adhesión intertalámica, quiasma óptico, cuerpo mamilar, comisura rostral, colículos rostrales, acueducto mesencefálico y fosa romboidea. Con el fin de disminuir la influencia del error humano, todas las estructura fueron medidas hasta por seis veces en cada imagen y el promedio de estos valores fue el valor que se consideró junto con los promedios obtenidos en el resto de las imágenes, finalmente se presentan los valores promedio y la desviación estándar de cada una de las estructuras estudiadas (Tablas 2, 3 y 4).

Debido a su forma y a la disposición que mostraron las estructuras evaluadas en las imágenes obtenidas no siempre fue posible valorar en tres dimensiones; longitud, perímetro y área, por lo que aquella que no fue evaluada aparece como valor no determinado (ND) en las tablas 2, 3 y 4.

VI. Calibración de las imágenes digitalizadas.

La calibración es un requisito fundamental antes de la realización de cualquier estudio morfométrico y es un proceso específico para cada imagen que consiste en asignar un valor a la longitud de una estructura particular del encéfalo en su imagen digital desplegada en un programa de análisis de imágenes. La longitud de la estructura elegida se ha determinado previamente en el mismo encéfalo al cual corresponde la imagen. Con la calibración se reducen los posibles errores provocados por distorsiones y/o aumentos producidos al tomar las fotografías y/o manipular las imágenes, por lo que la calibración permite realizar correctamente el resto de las mediciones. En este estudio y con el fin de lograr la mayor exactitud posible la longitud de la estructura elegida fue determinada con un calibrador (Vernier). Sólo después de realizar la calibración de cada una de las imágenes se hacían los estudios morfométricos.

VII. Análisis estadístico.

Todos los valores fueron evaluados mediante un análisis de varianza (Johnson 1991) tomando en cuenta el siguiente criterio:

a. Los valores correspondientes a una característica (por ejemplo; longitud del acueducto mesencefálico), fueron separados de manera aleatoria en dos grupos.

b. Se realizaron las operaciones básicas que indica el método y se obtuvo el valor de F calculada.

c. Se comparó el valor de F calculada con su valor en tablas. Si el valor de F calculada es menor, los resultados quedan dentro de la curva y podemos considerar que no hay diferencia significativa entre ellos.

Para este estudio se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

I. Mediciones iniciales.

Se puede señalar que el encéfalo de un perro braquicefálico con un peso promedio de 21 kgs, tiene un peso promedio de 111.7 ± 15.0 g, una longitud de 8.2 ± 0.5 cm y una altura de 5.0 ± 0.4 cm (Tabla 2).

Si se observa el contorno del cerebro, se puede distinguir en sentido transversal, dos sitios particulares (Fig. 3); una parte menos ancha (Ancho 1) que se sitúa a la altura del surco cruzado y en la cual se obtuvo un valor promedio de 4.8 ± 0.3 cm y otra más ancha (Ancho 2) situada en la parte más saliente del giro ectosilviano caudal y en donde se obtuvo un valor de 5.8 ± 0.2 cm.

Tabla 2. Valores de las medidas iniciales obtenidas en encéfalos de caninos braquicefálicos.

Animal	Peso (g)	Largo (cm)	Alto (cm)	Ancho 1 (cm)	Ancho 2 (cm)
1	135.3	8.8	5.1	5.2	5.9
2	98	7.8	4.9	4.5	5.4
3	108.6	7.7	4.9	4.7	5.7
4	124.0	8.5	5.1	5.0	6.0
5	101.0	7.5	4.6	4.7	5.9
6	81.7	7.6	4.5	4.2	5.6
7	104.2	7.9	4.5	4.8	5.9
8	120.0	8.3	5.0	5.1	5.9
9	115.9	8.7	5.2	4.7	5.9
10	115.0	9.0	5.6	4.8	5.8
11	124.8	8.7	5.4	5.1	5.6
Promedio \pm DE	111.7 ± 15	8.2 ± 0.5	5.0 ± 0.3	4.8 ± 0.3	5.8 ± 0.2

DE: desviación estándar.

II. Vista mediana del encéfalo.

En la vista mediana del encéfalo fue posible apreciar y medir la mayor cantidad de estructuras del encéfalo. En esta vista se midieron el cuerpo calloso, fosa romboidea, acueducto mesencefálico, cuerpo mamilar, comisura rostral, fornix, adhesión intertalámica y quiasma óptico (Fig. 5). En la tabla 3 se muestran los promedios obtenidos después de medir en once imágenes distintas las estructuras enlistadas previamente.

a. Acueducto mesencefálico.

Es el espacio tubular que sirve de conexión entre el tercero y el cuarto ventrículo, se localiza por debajo de los colículos rostrales y de los colículos caudales (Fig. 5). Sólo se determinó su longitud y el valor promedio obtenido fue de **7.1 ± 1.0 mm**.

b. Puente.

Es una estructura anular constituida por fibras dispuestas transversalmente entre los pilares cerebrales y la médula oblonga (Fig.5). Con la tinción de Mulligan adquiere un color blanco y lo único que es factible evaluar en esta vista es su longitud, se obtuvo un valor promedio de **10.1 ± 1.2 mm**.

c. Fosa romboidea

Conforma el piso del cuarto ventrículo y se extiende desde los colículos caudales hasta el inicio de la médula espinal. Se determinó su longitud en base a los límites que se pueden apreciar en la imagen (Fig.5), su valor promedio fue de **13.6 ± 1.4 mm**.

d. Cuerpo calloso.

Estructura formada por una serie de fibras que se encuentran relacionando a ambos hemisferios cerebrales, con la tinción de Mulligan aparece de color blanco y el valor de su perímetro fue de **67.6 ± 5.6 mm**, mientras que el valor de su área fue de **68.8 ± 14.4 mm²**.

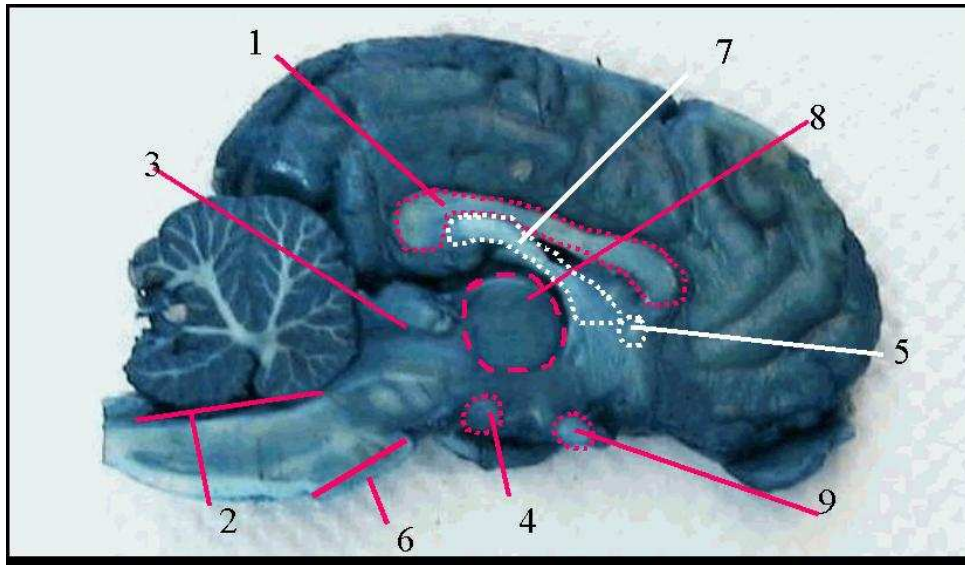


Figura 5. Vista mediana izquierda del encéfalo de un canino braquicefálico. Se muestran las estructuras que se evaluaron en esta vista. **1.** Cuerpo calloso. **2.** Fosa romboidea. **3.** Acueducto mesencefálico. **4.** Cuerpo mamilar. **5.** Comisura rostral. **6.** Puente. **7.** Fornix. **8.** Adhesión intertalámica. **9.** Quiasma óptico.

e. Fornix.

Es una estructura formada por un conjunto de fibras, se localiza justo por debajo del cuerpo calloso pero pronto se desvía ventralmente conforme progresa en su trayecto, se curva sobre el borde rostral del tálamo para entrar en el hipotálamo y termina en el cuerpo mamilar. Con la tinción de Mulligan las fibras adquieren un color blanco. En una vista mediana es alargado y con bordes redondeados y un tanto irregulares. Los valores obtenidos para el perímetro y el área son de $44.5 \pm 4.7 \text{ mm}$ y $36.2 \pm 10.5 \text{ mm}^2$ respectivamente.

f. Cuerpo mamilar.

En una vista mediana del encéfalo muestra un contorno oval alargado y con la tinción de Mulligan adquiere un color blanco (Fig. 5). El valor promedio para el perímetro de esta estructura fue de $8.9 \pm 1.4 \text{ mm}$ y el valor de su área fue de $6.1 \pm 1.7 \text{ mm}^2$.

g. Quiasma óptico.

En la imagen que se obtiene con este tipo de corte, presenta una forma circular de bordes definidos y de color blanco. Los valores promedio fueron de 9.1 ± 1.3 mm y 6.0 ± 1.7 mm² para el perímetro y el área, respectivamente.

h. Comisura rostral.

Es una estructura formada por fibras comisurales de tal forma que toma una coloración blanca con la tinción de Mulligan, en esta vista presenta un contorno oval bien definido. Se determinaron los valores correspondientes a su perímetro y a su área, los cuales fueron de 6.7 ± 1.0 mm y 3.0 ± 0.9 mm², respectivamente.

i. Adhesión intertalámica.

El tálamo conforma la pared lateral del tercer ventrículo y presenta una protuberancia que une las masas laterales del tálamo, a ésta porción se le conoce como adhesión intertalámica. En una vista mediana del encéfalo aparece como una estructura circular que con la tinción de Mulligan adquiere un tono azulado (Fig. 5). Los promedios obtenidos fueron para el perímetro 25.8 ± 3.1 mm y para el área 47.0 ± 11.3 mm².

Tabla 3. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes digitalizadas de una vista mediana de encéfalo

Estructura	Longitud (mm)	Perímetro (mm)	Área (mm²)
Acueducto mesencefálico	7.1 ± 1.0	ND	ND
Puente	10.1 ± 1.2	ND	ND
Fosa romboidea	13.6 ± 1.4	ND	ND
Cuerpo calloso	ND	67.6 ± 5.6	68.8 ± 14.4
Fornix	ND	44.5 ± 4.7	36.2 ± 10.5
Cuerpo mamilar	ND	8.9 ± 1.4	6.1 ± 1.7
Quiasma óptico	ND	9.1 ± 1.3	6.0 ± 1.7
Comisura rostral	ND	6.7 ± 1.0	3.0 ± 0.9
Adhesión intertalámica	ND	25.8 ± 3.1	47.0 ± 11.3

ND: No determinado.

III. Vistas transversales del encéfalo.

Se utilizaron dos diferentes imágenes transversales del encéfalo del perro para realizar las mediciones que a continuación se describen. La imagen más rostral fue obtenida mediante un corte transversal realizado a nivel del quiasma óptico (Fig. 6), en esta imagen se midió el núcleo caudado. La segunda imagen fue obtenida mediante un corte transversal realizado a nivel de la fisura seudossilviana (Fig. 7) y en esta imagen se midió el tálamo. En ambas imágenes se midió la longitud del cuerpo calloso y el grosor de la corteza cerebral.

a. Núcleo caudado.

Forma parte de los núcleos basales y tiene forma de coma con una gran cabeza protruyendo dentro del piso del ventrículo lateral (Fig. 6). Es de forma oval y toma un color azul con la tinción de Mulligan. El valor promedio de su perímetro fue de **35.9 ± 1.7 mm** y el de su área fue de **62.5 ± 11.3 mm²**.

b. Tálamo.

En las preparaciones utilizadas se encontró que el tálamo presenta límites poco definidos, sin embargo se puede señalar que de manera general es de forma redondeada, amplia y se tiñe de color azul (Fig. 7). El valor promedio de su perímetro fue de **43.2 ± 5.2 mm** y el de su área fue de **122.0 ± 28.5 mm²**.

c. Corteza cerebral.

Para determinar el grosor de la corteza cerebral se utilizaron las imágenes obtenidas con los dos cortes transversales, se midió la distancia que existe entre el borde de la corteza cerebral y el límite más próximo de la sustancia blanca (Fig. 7). El grosor de la corteza cerebral fue de **2.8 ± 0.7 mm**.

d. Cuerpo calloso.

Esta estructura es muy aparente en las dos imágenes transversales y se aprecia como una “V” alargada de color blanco (Figs. 6 y 7). Del cuerpo calloso se evaluó su longitud total, esta medición fue sencilla de realizar ya que el programa permitió medir las dos porciones en un mismo paso, posteriormente se determinó el promedio que resultó ser de **17.2 ± 1.7 mm**.

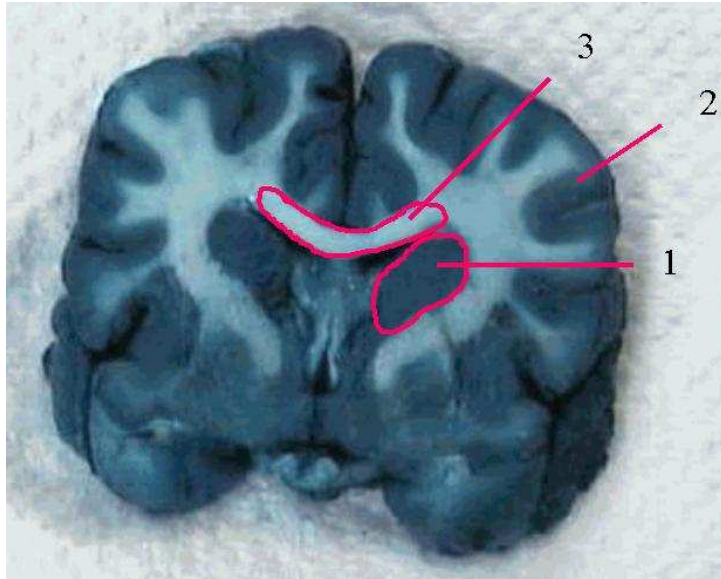


Figura 6. Vista transversal obtenida mediante un corte a la altura del quiasma óptico. Se muestran las estructuras que se evaluaron en esta vista. **1. Núcleo Caudado. 2. Corteza Cerebral. 3. Cuerpo Calloso.**

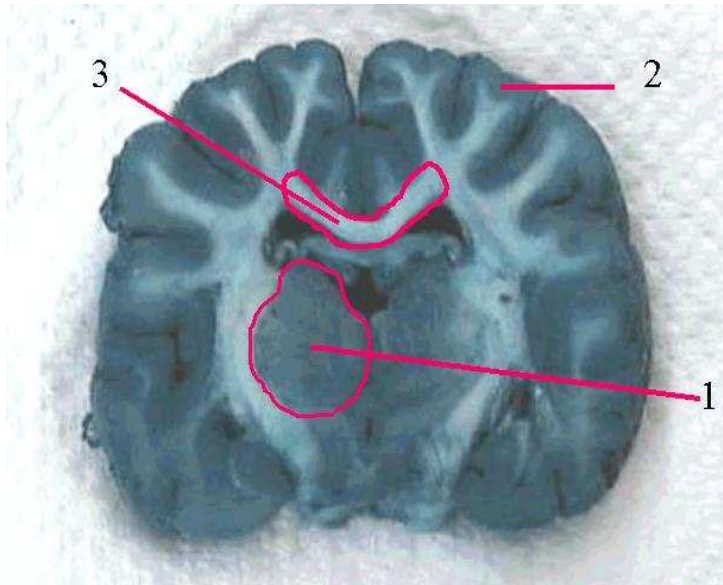


Figura 7 Vista transversal obtenida mediante un corte a la altura de la fisura seudossilviana. Se muestran las estructuras que se evaluaron en esta vista. **1. Tálamo. 2. Corteza Cerebral. 3. Cuerpo Calloso.**

Tabla 4. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes digitalizadas de vistas transversales de encéfalo

Estructura	Longitud (mm)	Perímetro (mm)	Área (mm²)
Núcleo caudado	ND	35.9 ± 1.7	62.5 ± 11.3
Tálamo	ND	43.2 ± 5.2	122.0 ± 28.5
Corteza cerebral	2.8 ± 0.7	ND	ND
Cuerpo calloso	17.2 ± 1.7	ND	ND

ND: No determinado

IV. Vista de un corte dorsal del encéfalo.

Esta vista fue obtenida mediante un corte dorsal realizado a la altura del surco rinal lateral (Fig. 8). En esta vista fueron medidos el núcleo caudado, tálamo, colículos rostrales y acueducto mesencefálico.

a. Núcleo caudado.

En esta vista se aprecia la cabeza del núcleo caudado, la cual al ser cortada horizontalmente aparece de forma oval alargada y de color azul (Fig. 8). El valor promedio para el perímetro fue de $26.3 \pm 1.0 \text{ mm}$ y para el área $36.9 \pm 4.5 \text{ mm}^2$.

b. Tálamo.

En la imagen aparece como una estructura formada por dos porciones laterales. Cada una de forma oval alargada y, con la tinción de Mulligan, de color azul. Las porciones laterales se disponen oblicuamente, de tal forma que se tocan en la línea mediana. El valor promedio del perímetro fue de $34.4 \pm 3.7 \text{ mm}$ y el del área de $65.7 \pm 6.1 \text{ mm}^2$.

c. Colículos rostrales.

Los colículos rostrales son dos estructuras redondeadas que se unen en la línea mediana, se tiñen de color azul y se localizan sobre el tallo encefálico. En la vista dorsal los colículos rostrales (derecho e izquierdo) son casi circulares, ya que el lado que se sitúa sobre la línea mediana es recto (Fig. 8). Se midió el perímetro y el área, y se encontraron los siguientes valores promedio; $16.5 \pm 2.4 \text{ mm}$ y $18.6 \pm 5.4 \text{ mm}^2$, respectivamente.

d. Acueducto mesencefálico.

En la vista dorsal no es posible apreciar directamente el acueducto mesencefálico, de tal forma que se calculó su longitud por la relación que guarda con los colículos rostrales. Así la medición fue realizada sobre estos últimos, ya que el acueducto transita por debajo de ellos. El valor promedio de su longitud fue de $6.2 \pm 0.9 \text{ mm}$.

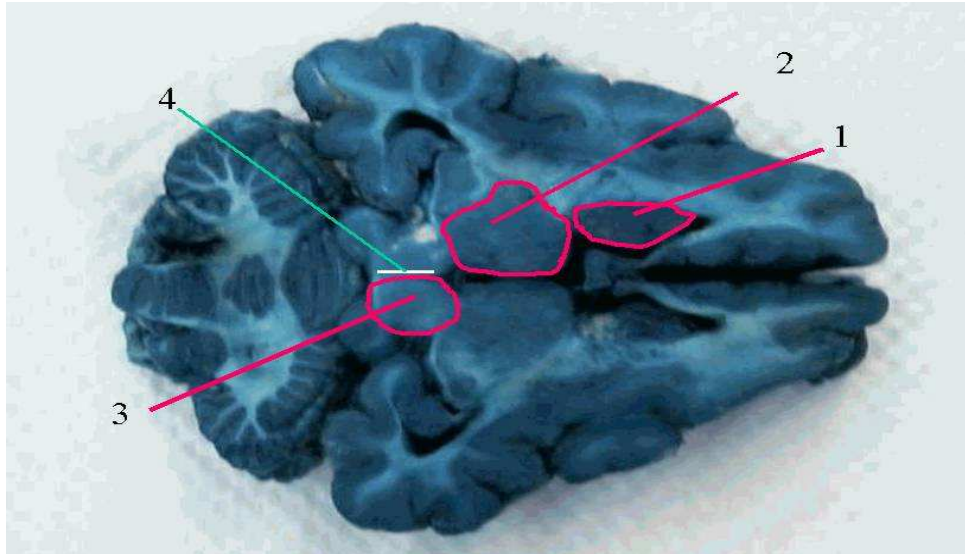


Figura 8. Vista producida por un corte dorsal en el encéfalo de un canino braquicefálico. Se muestran las estructuras que se evaluaron en esta vista. **1.** Núcleo Caudado. **2.** Tálamo. **3.** Colículos Rostrales. **4.** Acueducto Mesencefálico.

Tabla 5. Valores promedio y desviación estándar de las estructuras evaluadas en imágenes digitalizadas de la vista producida por un corte dorsal de encéfalo

Estructura	Longitud (mm)	Perímetro (mm)	Área (mm²)
Núcleo caudado	ND	26.3 ± 1.0	36.9 ± 4.5
Tálamo	ND	34.4 ± 3.7	65.7 ± 6.1
Colículos rostrales	ND	16.5 ± 2.4	18.6 ± 5.4
Acueducto mesencefálico	6.2 ± 0.9	ND	ND

ND: No determinado.

V. Resultados del análisis estadístico

Después de realizar el análisis estadístico se puede señalar que los valores obtenidos se encuentran dentro del área limitada por el valor crítico encontrado en las tablas de F, lo que permite señalar que no existe una diferencia estadística significativa entre ellos.

DISCUSIÓN

Al realizar estudios morfométricos del encéfalo es importante considerar el estado de salud, edad, sexo y raza de los individuos en estudio (Elias y Schwartz 1969, Eggers y col. 1983, Bolender y col. 1991) ya que estas variables se relacionan directamente con ciertas características morfológicas.

Para realizar este estudio sólo se tomó en consideración el tipo de cráneo (perros braquicéfalos) y el peso corporal. Los caninos utilizados en este trabajo presentaban, en mayor o menor grado, el fenotipo de algunas razas como; boxer, rottweiler, bull-terrier, sharpei y mastín napolitano, y tuvieron un peso promedio de 21 kgs.

Debido a que estos perros provenían del antirrábico no fue posible determinar de manera confiable su edad y por este motivo decidimos no considerar esta variable. En lo que respecta al factor sexo no se tuvo la precaución de conservar la relación donde se señalaba la correspondencia de cada uno de los encéfalos con el sexo del animal al cual pertenecieron. En estudios posteriores, se recomienda considerar los factores señalados previamente (edad y sexo) con el fin de determinar la influencia de cada uno de ellos en las características morfológicas del encéfalo (Eggers et al. 1983, Mayhew y col. 1990, Rosales-González 2001).

De las mediciones realizadas inicialmente (Tabla 1) sólo el peso mostró una desviación estándar importante. Sin embargo, al someter estos valores iniciales a un análisis de varianza se obtuvo que la diferencia estadística obtenida no es significativa. Esto indicó que la recolección de encéfalos (selección, extracción y fijación) fue adecuada para la realización de este trabajo.

Se sabe que los cerebros fijados pueden sufrir considerables distorsiones (Mouritzen-Dam 1979) las cuales son influidas no sólo por el modo y tiempo de fijación, sino también por el tipo de fijador y la edad del animal (Sass 1982, Uylings y col 1986). Por lo tanto es recomendable determinar volúmenes del cerebro en fresco y fijados siempre que sea posible (Eggers y col. 1983, Kretschmann y col. 1986, Sass 1982, Mayhew y col. 1990). Sin embargo, Reihlen (1994) menciona que la diferencia en el peso de los cerebros antes y después de fijados no es estadísticamente significativa. Por otra parte también se señala que el procedimiento de fijación siempre se conduce de la misma manera en todos

los tejidos, por lo cual se pueden despreciar o minimizar sus efectos (Haug 1986). De acuerdo con lo anterior, se decidió estandarizar el proceso de fijación para todas las muestras estudiadas (formol 4% durante 15 días). Asimismo es importante no provocar cambios en la forma natural del encéfalo por un mal manejo o una fijación inadecuada, se recomienda que durante la fijación, los encéfalos se mantengan suspendidos dentro de la solución fijadora durante el tiempo necesario, con esto se evitan distorsiones provocadas por el propio peso de los encéfalos (Trejo-Maya 1994).

Una de las dificultades más comunes al realizar este tipo de estudios es la incapacidad para realizar cortes siempre iguales en los encéfalos estudiados, así como el hecho de controlar adecuadamente su dirección. De manera especial cabe señalar que es particularmente difícil obtener cortes dorsales adecuados en los encéfalos braquicéfalos. Con el fin de disminuir los efectos provocados por la realización de cortes imperfectos se recomienda usar una rebanadora de carnes frías lo cual permitiría eliminar este error o por lo menos disminuir su efecto en los resultados (Arroyo 1962).

Debido a la estructura y disposición de algunas estructuras (cuerpo calloso, fornix y tálamo) resultó difícil distinguir algunos de sus límites en las imágenes. Por lo que para realizar la medición correcta de estas estructuras es fundamental contar con conocimientos firmes del tema y con una amplia experiencia de trabajo con imágenes del encéfalo.

Los valores reportados en estudios morfométricos realizados con un programa de análisis de imágenes suelen ser confiables pues la calibración es un paso indispensable en este tipo de estudios. Dicha calibración permite relacionar las dimensiones reales con la imagen. Asimismo, se buscó disminuir los errores por apreciación midiendo en repetidas ocasiones cada estructura. Como resultado de la evaluación estadística de los valores obtenidos se puede señalar que no existe diferencia estadística significativa entre ellos.

Existe una gran cantidad de información morfométrica del cerebro humano, sin embargo hay relativamente pocos datos sobre el cerebro de los mamíferos domésticos, por lo que es importante que se realicen nuevos estudios en este tema y, de manera particular, en los mamíferos domésticos (Blinkov y Glezer 1968, Elias y Schwartz 1969, Mayhew y col 1990).

Los estudios morfométricos permiten una evaluación más específica y detallada de las estructuras (organelos, células y tejidos) que componen a los diferentes órganos y

sistemas de un organismo y sus resultados pueden ser la base para distinguir lo sano de lo patológico (Maiolino y col. 2002, De Vico y col. 2002, DiMario y col. 1995).

Existen varias ventajas al realizar análisis cuantitativos en computadora:

- a) Si son aplicados de acuerdo a protocolos estrictos, las mediciones son objetivas y reproducibles.
- b) Permiten detectar diferencias que no resultan obvias al ojo humano.
- c) Dado que las mediciones producen valores, con ellos se pueden realizar análisis estadísticos que podrían mejorar el nivel de probabilidad al elaborar la clasificación de diferentes padecimientos.

En conjunto, estos puntos son sumamente importantes para lograr una mejor clasificación de las enfermedades y auxiliar al clínico al momento de prescribir un tratamiento. Otra aplicación importante es la elaboración de pronósticos cada vez más certeros (Simeonov, 2008; Roels 1998).

En la actualidad se pueden encontrar diversos estudios en medicina veterinaria en los cuales, a partir de imágenes obtenidas por medio de tomografía computarizada y resonancia magnética se proponen la realización de estudios morfométricos con el fin de lograr mejores diagnósticos y pronósticos de padecimientos que anteriormente ni siquiera se podían imaginar, así se encuentran referencias con aplicaciones en cardiología, padecimientos neurológicos, oncología y ortopedia (Gilbert 2010), así como la realización de mejores angiografías con el fin de detectar diversos accidentes vasculares (Sager 2009). En la mayoría de los casos se trata de estudios experimentales ya que la aplicación de estas tecnologías (TC y RM) aún no es común por el costo que representan. Sin embargo se puede señalar que actualmente los estudios morfométricos conforman un campo dinámico que está construyendo las bases (imágenes y valores) que permitirán el uso de dichas tecnologías en la práctica clínica veterinaria.

CONCLUSIONES

1. De acuerdo con los valores obtenidos en las mediciones iniciales (tabla 2) podemos señalar que los encéfalos colectados eran lo suficientemente homogéneos para los fines del presente trabajo.
2. La aplicación de la computación en la morfometría es una herramienta adecuada para medir con suficiente precisión la longitud, el perímetro y el área de las principales estructuras del encéfalo.
3. La vista mediana y las vistas transversales de encéfalo canino son las que aportan la mayor cantidad de datos, por lo que se recomienda considerarlas siempre para este tipo de estudios.
4. Los valores presentados en este trabajo corresponden a las estructuras más representativas del encéfalo de caninos braquicefálicos de aproximadamente 21 kgs de peso.
5. Para la realización de estudios morfométricos del encéfalo es fundamental contar con conocimientos sólidos de anatomía y experiencia en el manejo de imágenes digitales.

BIBLIOGRAFÍA

- Aja GS. Tinción general del cerebro (Mulligan). Curso taller sobre técnicas anatómicas e histológicas; 1987; México (DF); FMVZ, UNAM.
- Aluja A de. Necropsia en animales domésticos. 1ª edición, México: Editorial CECOSA 1980.
- Andersen H, Gadeber PC, Brock B, Jacobsen J. Muscular atrophy in diabetic neuropathy: a stereological magnetic resonance imaging study. *Diabetologia* 1997 40:1062-1069.
- Arroyo M. Manual de técnicas anatómicas; 1962; Venezuela (Aragua); Facultad de Medicina y Veterinaria de Maracay.
- Ashburner J, Hutton C, Frackowiack R, Johnsrude I, Price C, Friston K. Identifying global anatomical differences: Deformation-based morphometry. *Hum Brain Mapp* 1998 6: 348-357.
- Assheuer J, Sager M. MRI and CT atlas of the dog. 1st ed. USA (Cambridge): Blackwell Science 1997.
- Blinkov SM, Glezer II. The human brain in figures and tables. A quantitative handbook. 1st ed. New York: Plenum press 1968.
- Bolender RP. Quantitative morphology for biologist and computer scientist: I. Computer-aided tutorial for biological stereology (version 1.0). *Micros Res Tech* 1992 21: 338-346.
- Bolender RP, Charleston J, Mottet K, McCabe JT. Quantitative morphology of the nervous system: Expanding horizons. *Anat Rec* 1991 231: 407-415.
- Buchsbaum MS, Yang S, Hazlett E, Siegel BV Jr., Germans M, Haznedar M, O'Flaithbheartaigh S, Wei T, Silverman J, Siever LJ. Ventricular volume and asymmetry in schizotypal personality disorder and schizophrenia assessed with magnetic resonance imaging. *Schizophren Res* 1997 27: 45-53.
- De Vico G, Sfacteria A, Maiolino P, Mazullo G. Comparison of nuclear morphometric parameters in cytologic smears and histologic sections of spontaneous canine tumors. *Vet Clin Pathol* 2002 31: 16-18.
- DiMario FJ, Ramsby GR, Burluson JA, Greensheids IR. Brain morphometric analysis in achondroplasia. *Neurology* 1995 45: 519-524.

- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJ. Anatomia veterinaria. 3^a ed. Mèxico: El Manual Moderno 2007 293-315.
- Eggers R, Haug H, Fischer D. Preliminary report on macroscopic age changes in the human prosencephalon. A stereological investigation. *J Hirnforsch* 1983; 25: 129-139.
- Elias H, Schwartz D. Surface areas of the cerebral cortex of mammals determined by stereological methods. *Science* 1969 166: 111-113.
- Feeney DA, Fletcher TF, Hardy RM. Atlas of correlative imaging anatomy of the normal dog. Ultrasound and computed tomography. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders 1991.
- Fike JR, Cann CE, Turowski K. Differentiation of neoplastic from non-neoplastic lesions in dog brain using quantitative CT. *Vet Radiol* 1986 27: 121-128.
- Gaser C, Nenadic I, Buchsbaum BR, Hazlett EA, Buchsbaum MS. Deformation-Based Morphometry and its relation to conventional volumetry of brain lateral ventricles in MRI. *Neuroimage* 2001 13: 1140-1145.
- Getty R. Anatomía de los animales domésticos de Sisson y Grossman, Vol. II. 5^a edición. Barcelona: Editorial Salvat 1982.
- Gilbert SH, MacConnell FJ, Holden AV, Sivananthan MU, Dukes-McEwan J. The potential role of MRI in veterinary clinical cardiology. *The Veterinary Journal* 2010 183: 124-134.
- Haug H. History of the neuromorphometry. *J Neurosci Methods* 1986 18: 1-17.
- Herrera P, Barrientos T, Fuentes R, Alva M. Anatomía Integral. México: Editorial Trillas 2008 401-507.
- TL, Belugi U Anomalous brain morphology on magnetic resonance images in Williams syndrome and Down syndrome. *Arch Neurol* 1990 47:529-533.
- Johnson RR. Estadística elemental. 2^a edición. México, DF: Editorial Trillas 1991 247-281.
- Keally JK, McAllister H. Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders 2000; 372.
- Kretschmann HJ, Kammradt G, Krathausen I, Sauer B, Wingert F. Brain growth in man. *Bibl Anat* 1986 28: 1-26.

- Kohlhauf M, Brand P, Selzer T, Scheuch G, Meyer T, Weber N, Schulz H, Haussinger K, Heyder J. Diagnosis of emphysema in patients with chronic bronchitis: a new approach. *Europ Resp J* 1998 12: 793-798.
- Maiolino P, Restucci B, Papparella S, De Vico G. Nuclear morphometry in squamous cell carcinomas of canine skin. *J Comp Pathol* 2002 127: 114-117.
- Mayhew TM, Mwamengele GL, Dantzer V. Comparative morphometry of the mammalian brain: estimates of cerebral volumes and cortical surface areas obtained from macroscopic slices. *J Anat* 1990 172: 191-200.
- Mouritzen-Dam A. Shrinkage of the brain during histological procedures with fixation in formaldehyde solutions of different concentration. *Journal für Hirnforschung* 1979 20: 115-119.
- Nagale RG, Bush KT, Lynch FJ, Lee HY. A morphometric and computer-assisted three-dimensional reconstruction study of neural tube formation in chick embryos. *Anat Rec* 1991 231: 425
- Nopoulos P, Flaum M, Arndt S, Andreasen N. Morphometry in schizophrenia revisited: height and its relationship to pre-morbid function. *Psychological Medicine* 1998 28: 655-663.
- Oliver JE, Greene CE. Diseases of the brain. In: Ettinger SE, editor. *Textbook of veterinary internal medicine, diseases of the dog and cat*. 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders 1983: 460-532.
- Pak CY, Ho A, Poindexter J, Peterson R, Sakhaee K. Quantitation of incident spinal fractures: comparison of visual detection with quantitative morphometry. *Bone* 1996 18: 349-353.
- Reihlen A, Weis S, Obermaier G, Dahme E. A Morphometric Study: Age-Dependent Changes in the Glial Cell Nests of the Canine Rhinencephalic Allocortex. *Anat Rec* 1994 238: 415-423.
- Roels S, van Diese P, Belien J, Ducatelle R. Computerized image analysis in diagnostic veterinary medicine - is the era of descriptive veterinary pathology coming to an end? *Europ J Vet Pathol* 1998 4: 21-27.

- Rosales-González MA. Estudio morfométrico de las principales estructuras del cerebro en perros (*canis familiaris*) mesocefálicos (tesis de licenciatura). Cuautitlán Izcalli. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM, 2001 33-35
- Sager M, Assheuer J, Trümmler H, Moormann K. Contrast-enhanced magnetic resonance angiography (CE-MRA) of intra-and-extra-cranial vessels in dogs. *The Veterinary Journal* 2009 179:92-100.
- Sass NL. The age-dependent variation of the embedding-shrinkage of neurohistological sections. *Mikroskopie* 1982 39: 278-281.
- Simeonov R and Simeonova G. Computer-Assisted Nuclear Morphometry in the Cytological Evaluation of the Canine Perianal Adenocarcinomas. *J Comp Path* 2008 139: 226-230.
- Stroux A, Martus P, Budde W, Horn F, Junemann A, Korth M, Jonas JB. Sequential classification in glaucoma diagnosis. *Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003 241: 277-283.
- Trejo-Maya BM. Técnicas de preparación y conservación de piezas anatómicas para docencia e investigación (recopilación bibliográfica) (tesis de licenciatura). Cuautitlán Izcalli. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM 1994 36-39.
- True LD. Morphometric applications in anatomic pathology. *Hum Pathol* 1996 27: 450-467.
- Uylings HB, van Eden C, Hofman M. Morphometry of size/volume variables and comparison of their bivariate relations in the nervous system under different conditions. *J Neurol Methods* 1986 18: 19-27.
- Vullo T, Koreman E, Manzano RP, Gomez DG. Diagnosis of cerebral ventriculomegaly in the normal adult's bloodhounds that quantitative MRI uses. *Vet Rad Ultra* 1997 38: 277-281.
- Weis S. Morphometry in the neurosciences. In: Weger and. Dimitrow, editors. *Digital Image Processing and Computer Graphics*. Oldenbourg, Wien, 1991.
- Wilke M, Kassubek J, Ziyeh S, Schulze-Bonhage A, Huppertz HJ. Automated detection of gray matter malformations using optimized voxel-based morphometry: a systematic approach. *Neuroimage* 2003 20: 330-343.

