

**Departamento de Ciencias Morfológicas  
(Unidad de Anatomía y Embriología)**

**Facultad de Medicina**

**Universidad Autónoma de Barcelona**

***Estudio anatómico de la microvascularización arterial  
de la corteza cerebral humana***

Memoria que presenta para optar al grado de  
Doctor en Medicina el licenciado,

**FRANCISCO REINA DE LA TORRE**

Departament de Ciències  
Morfològiques  
Unitat d'Anatomia i Embriologia

Edifici M  
08193 Bellaterra (Barcelona), Spain  
Tel.: (3) 581 19 24  
Fax: (3) 581 20 04  
Telex: 52040 EDUCI E



ALFONSO RODRIGUEZ BAEZA, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS, UNIDAD DE ANATOMIA Y EMBRIOLOGIA, DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA,

HACE CONSTAR,

que el trabajo titulado "ESTUDIO ANATOMICO DE LA MICROVASCULARIZACION ARTERIAL DE LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA", del que es autor D. Francisco Reina de la Torre, ha sido realizado bajo mi dirección en los laboratorios de nuestra Unidad y reúne los requisitos para ser presentado como Tesis para optar al Grado de Doctor. Por lo tanto considero que dicho trabajo debe ser aceptado para proceder a su lectura y defensa.

Y para que surta los efectos oportunos, firmo el presente informe en Bellaterra a once de Julio de mil novecientos noventa y seis.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Alfonso Rodríguez Baeza', written over a horizontal line.

Fdo. Alfonso Rodríguez Baeza  
Profesor Titular de Universidad

A tí, Isabel.

A mis padres, José Antonio e Isabel,  
que me lo han dado todo  
y han sido ejemplo constante.



## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por la Beca de la Fundación para la Investigación de la Ciudad Sanitaria y Universitaria Valle de Hebrón (PR/TR 112/95) y por la Beca del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 96/1783).

Quiero expresar mi agradecimiento más sincero al Dr. Alfonso Rodríguez Baeza, director de esta tesis. Sin su sabia orientación científica y humana, y su valiosa colaboración en todos los aspectos de la elaboración de una tesis doctoral, ésta probablemente nunca hubiera visto la luz. Quiero darte las gracias por mantener tu confianza, a pesar de mis errores y despropósitos. Y, sobre todo, gracias por no tener nunca "cerrado al público". Espero que el camino que se inicia con este primer eslabón sea largo y fructífero.

Quisiera agradecer al Departamento de Ciencias Morfológicas (Unidad de Anatomía y Embriología) el haber dispuesto a mi alcance muchos de los medios necesarios para la elaboración de esta tesis doctoral, y en especial al Prof. Dr. J.M. Doménech Mateu, por su ejemplo constante de dedicación a la enseñanza y a la investigación anatómicas. Quiero agradecer también la colaboración del resto de miembros del Departamento que me han ayudado. Gracias Manel, porque siempre que lo he necesitado has estado ahí.

Gracias a todo el personal del Servicio de Microscopia Electrónica de la Universidad Autónoma de Barcelona, que me han ayudado siempre que lo he necesitado. Gracias especiales a Mercè, por su apoyo técnico y humano.

Quiero hacer una especial mención de agradecimiento hacia el Instituto Anatómico Forense de Barcelona, y hacia la persona del Dr. F.J. González Oliván. Su ayuda y colaboración fueron capitales para la elaboración de muchos trabajos que precedieron a éste, lo han sido para la realización del presente estudio, y espero seguir contando con su colaboración en futuras investigaciones.

Gracias a los compañeros de Veterinaria (Jesús, Ana, Xavi y Marc). Vuestra ayuda ha sido clave en muchos momentos.

Muchas gracias a las personas que habéis estado cerca. A Marisa, por tu encomiable ayuda en el laboratorio y en la edición de esta tesis, a pesar del calor y el papel fotográfico. A Chesco, por tus estupendos chistes y ánimos, que nunca me faltaron.

Y gracias muy especiales a tí, Isabel, la persona que más cerca ha estado en todo momento. Gracias por tu cariño y tu comprensión, que nunca me faltaron durante estos últimos meses, a pesar de mi mal humor en muchas ocasiones. Por supuesto, gracias por tu gran ayuda, sin la cual hubiera sido muy difícil cumplir el objetivo. Gracias por prolongar hasta cuando hiciera falta tu jornada laboral y amanecer juntos en un lugar poco romántico.

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
1. Recensión histórica sobre los estudios de la vascularización del encéfalo.....	5
2. La vascularización arterial del cerebro.....	10
2.1. El polígono arterial de Willis.....	11
2.2. Las arterias cerebrales.....	12
2.2.1. Arteria cerebral anterior.....	13
2.2.2. Arteria cerebral media.....	16
2.2.3. Arteria cerebral posterior.....	20
2.2.4. Arteria coroidea anterior.....	23
2.3. Circulación colateral de la corteza cerebral.....	24
2.4. Distribución intracerebral de las arterias superficiales.....	27
2.5. Red capilar cortical.....	33
2.6. Estructura histológica de los vasos de superficie y de las arterias intracerebrales.....	37
2.6.1. Arterias cerebrales.....	37
2.6.2. Inervación de las arterias cerebrales.....	40
2.6.3. Arteriolas corticales.....	42
2.6.4. Capilares corticales.....	43
2.7. Vascularización de la sustancia blanca.....	51
3. Regulación del flujo sanguíneo cerebral.....	53
3.1. Factores estructurales de la autorregulación cerebral.....	54
3.2. Factores nerviosos de la autorregulación cerebral.....	57
3.3. Factores humorales de la autorregulación cerebral.....	59
3.4. Teorías sobre la autorregulación.....	60
3.5. Límites de la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral.....	62
3.6. Alteraciones de la autorregulación.....	63
4. La técnica de los moldes de corrosión vascular.....	65
<b>OBJETIVOS</b> .....	70
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	72
1. Material.....	73
2. Técnica de extracción de las muestras.....	74
3. Técnicas empleadas en el procesamiento de las muestras.....	75
3.1. Técnica de inyección intravascular de resinas polimerizables y posterior corrosión.....	76
3.1.1. Disección y canulación de los vasos.....	76
3.1.2. Inyección.....	77
3.1.3. Corrosión.....	78
3.1.4. Montaje de las muestras.....	79
3.1.5. Metalizado y observación.....	80
3.1.6. Valoración de la calidad de los moldes.....	

de corrosión vascular.....	82
3.1.7. Identificación de los diferentes segmentos vasculares .....	82
3.1.8. Artefactos de los moldes de corrosión vascular.....	84
3.2. Técnica de inyección intravascular de látex natural y observación mesoscópica .....	84
3.3. Técnica de inyección intravascular de Mercox® con naranja de acridina, y estudio mediante microscopio láser confocal .....	86
3.4. Tinción inmunocitoquímica del endotelio vascular, y observación mediante microscopio láser confocal .....	90
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>97</b>
1. Vasos arteriales de superficie de la corteza cerebral .....	98
1.1. Arterias cerebrales.....	98
1.1.1. Arteria cerebral anterior.....	98
1.1.2. Arteria cerebral media.....	100
1.1.3. Arteria cerebral posterior.....	100
2. Red arterial pial.....	109
2.1. Situación, trayecto y calibre de los vasos arteriales de la red pial. ...	109
2.2. Patrones de división de las arterias de la red pial.....	110
2.3. Imágenes de constricciones y anillos plásticos en los moldes de las arterias piales.....	112
2.4. Relaciones de los vasos arteriales superficiales con las venas de superficie.....	128
2.5. Características regionales de la red arterial pial .....	129
2.5.1. Territorio de la arteria cerebral anterior.....	129
2.5.2. Territorio de la arteria cerebral media.....	130
2.5.3. Territorio de la arteria cerebral posterior.....	131
3. Vasos arteriales corticales o perforantes .....	145
3.1. Origen de las arterias corticales .....	145
3.2. Trayecto inicial de las arterias corticales .....	147
3.3. Diferencias regionales en el trayecto inicial de las arterias corticales.....	150
3.4. Modo de penetración de las arterias corticales en la corteza cerebral .....	151
3.5. Clasificación de las arterias corticales.....	154
3.6. Características morfológicas y de distribución de las arterias corticales.....	155
3.6.1. Arterias corticales cortas (A1).....	155
3.6.2. Arterias corticales medias (A2).....	156
3.6.3. Arterias corticales largas (A3) .....	158
3.6.4. Divisiones dicotómicas y trifurcaciones .....	161
3.6.5. Arterias transcorticales .....	162
3.7. Relación de las arterias corticales con las venas colectoras de la corteza cerebral .....	163
3.8. Imágenes de constricciones en los moldes de las arterias corticales.....	163
3.9. Descripción de la red capilar cortical .....	173

3.10. Características regionales de la red capilar .....	177
4. Descripción de estructuras anexas al molde de la luz vascular e imágenes de superficie .....	187
4.1. Imágenes relacionadas con las células endoteliales .....	187
4.1.1. Impresiones provocadas por los núcleos de las células endoteliales .....	187
4.1.2. Impresiones de las uniones entre células endoteliales. ....	191
4.2. Anillos plásticos anexas al molde vascular .....	198
4.3. Estructuras plásticas anexas que asemejan pericitos .....	217
4.4. Imágenes de constricciones en los moldes vasculares.....	224
4.5. Imágenes de terminaciones ciegas .....	225
4.6. Superficie coarrugada del molde vascular.....	227
4.7. Vasa vasorum.....	227
4.8. Disposición enroscada de moldes vasculares .....	228
4.9. Anastomosis.....	228
 <b>DISCUSIÓN</b> .....	 237
1. Discusión del material y métodos.....	238
1.1. Material .....	238
1.2. Discusión del método .....	241
1.2.1. Técnica de inyección intravascular y estudio mediante microscopio electrónico de barrido .....	241
1.2.2. Técnica de inyección intravascular y estudio mediante microscopio láser confocal.....	251
1.2.3. Técnica histológica inmunohistoquímica.....	252
2. Discusión sobre el origen y distribución de las arterias cerebrales.....	256
3. Discusión sobre la red arterial pial.....	258
4. Discusión sobre la red arterial cortical.....	263
5. Discusión sobre la red vascular arterial de la sustancia blanca .....	269
6. Discusión sobre imágenes de superficie del molde de la luz vascular.....	271
6.1. Improntas determinadas por las células endoteliales.....	271
6.2. Anillos plásticos .....	272
6.3. Estructuras anexas similares a pericitos .....	277
7. Discusión sobre las constricciones del molde vascular.....	282
8. Discusión sobre las terminaciones ciegas del molde vascular .....	286
9. Discusión sobre otros hallazgos o artefactos de los moldes vasculares.....	290
10. Discusión sobre la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral: el papel de los moldes de corrosión vascular en su estudio.....	292
 <b>CONCLUSIONES</b> .....	 297
 <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	 302

## *Introducción*

El conocimiento de la vascularización de los diferentes órganos y sistemas del cuerpo humano es de gran interés, tanto para la investigación básica anatómica, como para el clínico. Este interés es aún mayor cuando se considera como objeto de estudio el sistema nervioso central, cuya vascularización en el hombre difiere de forma importante de la circulación cerebral de otros mamíferos.

El sistema vascular juega un papel importante en numerosos procesos proliferativos, inflamatorios y neoplásicos, así como en diversas enfermedades degenerativas. La importancia del sistema vascular como diana, como mediador y como liberador en numerosos procesos fisiológicos y patológicos, reclama la necesidad de estudios detallados de las características del sistema vascular en condiciones normales y patológicas.

Las investigaciones morfológicas y fisiológicas sobre la vascularización y circulación cerebrales se han incrementado enormemente en los últimos años, coincidiendo con el renovado interés que existe sobre la patología cerebrovascular, en la que pequeñas alteraciones circulatorias pueden ser capaces de engendrar situaciones patológicas graves y definitivas en la vida del ser humano. En este sentido, es de gran interés el conocimiento profundo de las características estructurales de la microcirculación encefálica, es especial de la corteza cerebral, que sin duda alguna debe ayudar a mejorar la comprensión de su fisiología y de la fisiopatología de diferentes alteraciones cerebrovasculares, tanto degenerativas como traumáticas.

Los avances en el conocimiento de la microcirculación cerebral han evolucionado de forma paralela al desarrollo de técnicas para su estudio, entre

ellas el estudio de los moldes de corrosión vascular mediante microscopía electrónica de barrido. Esta técnica ha sido muy utilizada en estudios experimentales durante los últimos veinte años. Sin embargo, su empleo en el estudio de la microcirculación cerebral en el hombre ha sido escasa. La mejora de las técnicas de imagen, el desarrollo de las técnicas de reconstrucción tridimensional y las técnicas de tinción histológica inmunocitoquímica, así como los estudios de fisiología experimental, pueden ayudar a una mejor comprensión de los moldes de corrosión vascular, y a su aplicación en el estudio de la anatomía y la fisiología de la microcirculación del cerebro humano y de otros órganos.

## *Revisión bibliográfica*



## **1.- RECENSIÓN HISTÓRICA SOBRE LOS ESTUDIOS DE LA VASCULARIZACIÓN DEL ENCÉFALO.**

El conocimiento acerca de la vascularización del cerebro humano fue superficial durante muchos siglos, hecho que se debió en gran parte a las dificultades que encontraron los primeros anatomistas para llevar a cabo disecciones sobre cadáveres humanos.

Los procesos de embalsamamiento realizados por la civilización egipcia pudieron haber permitido el desarrollo de los conocimientos anatómicos acerca de la vascularización encefálica. Sin embargo, la consideración únicamente del corazón y del riñón como órganos nobles restó importancia al estudio minucioso de otros órganos.

Con el nacimiento de la Medicina Hipocrática se inician los primeros estudios anatómicos. Parece muy probable que Alcmeón de Crotona (500 a.C.) practicó la disección anatómica de cadáveres de animales y la vivisección para el estudio de la función de los centros nerviosos (Laín Entralgo, 1982), dejando entrever en sus escritos el importante papel de la sangre en la función del cerebro. Hipócrates (460-370 a.C.), fundador de la Medicina Hipocrática, desarrolló en su obra *Corpus Hippocraticum* una primera descripción de los vasos superficiales del cerebro, aunque confundía de forma frecuente las venas y las arterias (Salamon, 1971).

Con la decadencia del mundo griego, a finales del siglo IV, y durante el siglo III a.C., la ciudad de Alejandría se convierte en el centro del mundo cultural de la época (Cid, 1990). La Escuela de Alejandría inicia el estudio

sistemático de la anatomía del cerebro. Herófilo de Calcedonia (1<sup>a</sup> mitad del siglo III a.C.), considerado uno de los fundadores de la anatomía, ya que fue el primero en efectuar disecciones públicas sobre cadáveres humanos, diferencia claramente las arterias de las venas cerebrales. En sus trabajos se encuentra la primera descripción detallada del cerebro: descripción de las meninges, del IV ventrículo, de la confluencia de los senos venosos (prensa de Herófilo) y de los plexos coroideos (Salamon, 1971).

La Escuela de Alejandría pierde su importancia cultural con la incorporación de Egipto al Imperio Romano, en el año 50 a.C. A pesar de que los romanos fueron importantes higienistas, la medicina en Roma encontró condiciones desfavorables para su desarrollo. Los esclavos griegos, depositarios de los conocimientos de la Grecia Antigua y de la Escuela de Alejandría, fueron menospreciados (Cid, 1990).

La morfología griega del cuerpo humano alcanza su definitiva cima sistemática en la obra de Galeno de Pérgamo (siglo II d.C.), que sitúa en su descripción a las venas, arterias y nervios en sexto lugar, asignándoles un papel en la sustentación de las diferentes partes del cuerpo y en la comunicación entre ellas (Laín Entralgo, 1982). Galeno fue un autor muy prolífico. Escribió casi cuatrocientas obras, en las que se puede encontrar una síntesis del saber médico antiguo, y en las que realizó importantes aportaciones originales, tanto en el campo de la anatomía y fisiología básicas, como en el estudio de las enfermedades y su tratamiento (López Piñero, 1986). No obstante, el carácter sacro del cadáver humano hizo que Galeno basara sus estudios anatómicos en la disección de animales, motivo que lo condujo a errores como la afirmación de la existencia en el hombre de la *rete mirabile*, formada en la base del cerebro por

la ramificación arborescente de las arterias carótidas (Lazorthes y cols, 1976).

Durante toda la Edad Media y prácticamente hasta el siglo XVI, la medicina se basó en la morfología griega de la obra de Galeno. Fue un periodo muy pobre en descubrimientos acerca de la anatomía del cerebro humano. Únicamente destacaron los trabajos de Mondino de Luzzi, que en el siglo XIV pudo realizar disecciones públicas bajo la bendición papal (Cid, 1990). En su libro *Anatomia*, aunque manteniendo un esquema galénico, realiza una descripción de los plexos coroideos. Durante la Edad Media el mundo árabe fue el escenario en el que se cultivó la medicina y la ciencia en general (López Piñero, 1986).

El siglo XVI es el siglo de la Anatomía. Los trabajos de Berengario de Carpi (1460-1530), Leonardo da Vinci (1452-1519), Ambroise Paré (1510-1590) y, sobre todo, el libro de Andreas Vesalio *De Humani Corporis Fabrica* (1543), consolidan la anatomía como ciencia médica. Vesalio se opone abiertamente a los estudios de Galeno por haberlos extrapolado a la especie humana desde los animales, señalando que la disección de cadáveres humanos es el fundamento de la enseñanza y la investigación anatómicas (López Piñero, 1986). Niega definitivamente la existencia de la *rete mirabile* en el hombre, y realiza una descripción más detallada de los vasos cerebrales de la que se ha escrito hasta entonces (Salamon, 1971). Destacan también en este siglo los trabajos de Silvio (1478-1555), Falopio (1523-1562) y Varolio (1543-1575).

En el siglo XVII se multiplican los trabajos sobre la vascularización cerebral, gracias al descubrimiento de la circulación de la sangre y a la inyección intravascular de sustancias coloreadas. En 1658 Wepfer lleva a cabo un estudio

sobre la apoplejía, y T. Willis (1622-1675), en su obra *Cerebri Anatome*, realiza un estudio sistemático de los vasos cerebrales en el hombre; agrupa las arterias de la base del cerebro en el llamado polígono de Willis, y mediante inyecciones intravasculares estudia la circulación colateral constatando la presencia de vasos en toda la sustancia cerebral (Salamon, 1971). También utilizando inyecciones coloreadas, F. Ruysch (1638-1731) realizó espléndidas planchas anatómicas de la vascularización cerebral, y puso en evidencia la existencia de los vasos capilares. Este autor se opuso a Vieussens y Malpighi, al afirmar que un gran número de vasos penetran en el parénquima cerebral (Lazorthes y cols., 1976).

En el siglo XVIII destacan los trabajos de Monro (1697-1770) mediante inyecciones intravasculares de diferentes sustancias (grasa, cera, aceites de oliva, trementina o bermellón), y de Vic d'Azyr (1748-1794), que describe las anastomosis entre ramas de la arteria cerebral posterior y de la arteria cerebelosa superior. Su trabajo sobre el papel funcional de las arterias comunicantes, así como los del joven Monro (1733-1817), abren el capítulo de la fisiología de la circulación cerebral (Salamon, 1971).

En el siglo XIX se inician los estudios sistemáticos de la vascularización cerebral, destacando los trabajos de Breschet (1784-1840), Malgaigne (1806-1865) y Weber (1795-1875), así como los estudios de la circulación venosa del cerebro realizados por Rosenthal (1780-1829).

Finalmente, con el desarrollo de la anatomía patológica, a partir de los trabajos de Charcot en el siglo XIX, y de Duret ya en nuestro siglo, el estudio detallado de la circulación cerebral adquiere una gran importancia. Duret, en su trabajo de 1874 publicado en los "Archives de Physiologie", destacó el gran

interés que tiene para los patólogos el conocimiento detallado de la vascularización del encéfalo (Lazorthes y cols., 1976).

## 2.- LA VASCULARIZACIÓN ARTERIAL DEL CEREBRO.

La vascularización arterial del encéfalo no es tributaria de un único pedículo arterial, sino que su irrigación depende de cuatro arterias: las dos arterias carótidas internas (*a. carotis communis*), que forman el sistema carotídeo o anterior, y las dos arterias vertebrales (*a. vertebralis*), que se anastomosan por convergencia en la cara ventral del tronco cerebral para formar la arteria basilar (sistema vértebrobasilar o posterior).

Las arterias carótidas internas y las arterias vertebrales poseen un origen y un desarrollo embriológico distintos, que fueron estudiados a principios de siglo por Streeter (1918) y Congdon (1922). Posteriormente estos estudios fueron desarrollados ampliamente por Padget (1948), el cuál estudió la morfogénesis de los vasos del encéfalo sobre una serie de 22 embriones de la colección de la Carnegie, desde el estadio 11 (2,5 - 4,5 mm de longitud corona-rabadilla -LCR-, 24 días) hasta el estadio 22 (23 - 28 mm de longitud LCR, 54 días), estableciendo seis estadios (estadios de Padget) en dicha morfogénesis.

El sistema carotídeo, originado a partir de las primitivas arterias aortas dorsales, y el sistema vértebrobasilar, originado a partir de las arterias neurales longitudinales posteriores, están interconectados en la base del encéfalo a través de un círculo arterial anastomótico denominado polígono de Willis (*circulus arteriosus cerebri*). A partir de este círculo arterial se originan las diferentes arterias responsables de la irrigación del cerebro.

## **2.1.- EL POLÍGONO ARTERIAL DE WILLIS**

El polígono de Willis tiene una forma heptagonal, cuyos lados están representados por las dos arterias cerebrales anteriores, en su segmento precomunicante, la arteria comunicante anterior, que une en la cisura interhemisférica las dos arterias cerebrales anteriores, las dos arterias comunicantes posteriores, que unen la arteria carótida interna con la arteria cerebral posterior homolateral, y el segmento precomunicante de las dos arterias cerebrales posteriores.

Las variaciones del polígono de Willis son muy frecuentes y han sido estudiadas desde finales del siglo XIX por numerosos autores. Riggs (1937), en un estudio realizado sobre 1647 autopsias, clasifica en ocho grupos los diferentes tipos de polígonos que observa. En su clasificación, la disposición considerada como normal (grupo I de Riggs) representaba únicamente el 18% (Hodes y cols., 1953). Alpers y cols. (1959) encontraron que la disposición normal era del 52,3%; sin embargo, en los trabajos de Riggs y Rupp (1963) y Puchades-Orts y cols. (1976) el porcentaje de esta disposición fue del 21% y del 13% respectivamente. Lazorthes y Gouazé (1968) describen 22 tipos de polígonos arteriales en la base del encéfalo. Lippert y Pabst (1985) describen el mismo número de tipologías del polígono, y señalan que la frecuencia de la disposición normal de dicho polígono es del 60% en el segmento anterior y del 55% en el segmento posterior.

Las variaciones más usuales que se describen a nivel del polígono de Willis son la hipoplasia de una o ambas arterias comunicantes posteriores, el origen de la arteria cerebral posterior en la arteria carótida interna acompañado

de una hipoplasia del segmento precomunicante de dicha arteria, y la duplicación de la arteria comunicante anterior (Alpers y cols., 1959; Gillilan, 1959; Stephens y Stillwell, 1969; Lipper y Pabst, 1985). Según Lazorthes y cols. (1976) estas variaciones aparecen después del nacimiento, y tienen su base en la fisiología de cada una de estas arterias y en las diferentes modalidades de compresión de las mismas a nivel cervical. Orlandini y cols. (1985) señalan que las arterias que forman los segmentos izquierdos del polígono son de mayor diámetro, lo que estaría en relación con la dominancia funcional del hemisferio izquierdo.

El papel funcional del polígono de Willis consiste esencialmente en el reequilibrio de las presiones entre las distintas vías arteriales de aporte sanguíneo al encéfalo, cuando se producen compresiones de las mismas durante los movimientos de la columna cervical y de la cabeza, así como el asegurar, mediante las vías de anastomosis, la correcta perfusión de las arterias cerebrales en caso de oclusión de una de estas vías de aporte (Lazorthes y cols., 1976; Dudley, 1982).

## **2.2.- LAS ARTERIAS CEREBRALES**

A partir del polígono de Willis se originan las arterias cerebrales anterior (*a. cerebri anterior*), media (*a. cerebri media*) y posterior (*a. cerebri posterior*), que junto con la arteria coroidea anterior (*a. choroidea anterior*) son las responsables de la irrigación del manto o corteza de los hemisferios cerebrales. Las arterias cerebrales tienen una serie de ramas colaterales de distribución central o profunda, destinadas a los núcleos de la base, y unas ramas de distribución periférica o superficial (arterias corticales) que tienen como objeto



la vascularización de la corteza cerebral (Lazorthes y cols., 1976; Stephens y Stilwell, 1969). En el trabajo de revisión de las ramas de las arterias cerebrales realizado por Gloger y cols. (1994a), las arterias colaterales de distribución periférica se denominan arterias terminales, ya que no únicamente tienen como función la irrigación arterial de la corteza cerebral, sino también la de la sustancia blanca inmediatamente subyacente. Estas arterias forman una red vascular en el espacio subaracnoideo (red arterial superficial o pial) antes de introducirse en la corteza cerebral (Stephens y Stilwell, 1969).

### **2.2.1.- Arteria cerebral anterior**

La arteria cerebral anterior resulta de la división de la arteria carótida interna en dos ramas terminales: una medial, la arteria cerebral anterior, y la otra lateral, la arteria cerebral media o silviana. El calibre de la arteria cerebral anterior es entre 2-3mm, según Lazorthes y cols. (1976), y sólo en un 3% de los casos su diámetro es superior al de la arteria cerebral media (Orts Llorca, 1986). Presenta un trayecto inicial o precomunicante en el que se dirige anterior y medialmente, por encima del fascículo óptico y por delante del quiasma óptico, hasta alcanzar la línea media en la parte más anterior e inferior de la cisura interhemisférica. A este nivel se une con la arteria cerebral anterior contralateral a través de la arteria comunicante anterior (*a. communicans anterior*). A lo largo de su trayecto precomunicante da origen a sus ramas centrales, que Lazorthes y cols. (1955) agrupan en tres categorías: a) las ramas destinadas a las formaciones ópticas; b) las ramas diencefálicas o centrales cortas, responsables de la irrigación de la pared anterior y de la porción anterior de la pared lateral del III ventrículo; y c) la arteria recurrente de Heubner, denominada también arteria de la cabeza del núcleo caudado o arteria estriada anterior.

La hipoplasia del segmento proximal de la arteria cerebral anterior ha sido observada en un 2% de los casos por Alpers y cols. (1959), y entre un 6% y un 12% por Stephens y Stilwell (1969). En estos casos la arteria cerebral anterior contralateral suple los dos segmentos postcomunicantes: el suyo propio y el contralateral a través de la arteria comunicante anterior (Lee, 1995). Gillilan (1959) no observó ningún caso de ausencia completa de este segmento de la arteria cerebral anterior.

En el 9% de los casos existen conexiones adicionales entre los segmentos distales de ambas arterias cerebrales anteriores, disposición que recuerda la forma embrionaria de estos vasos (Stephens y Stilwell, 1969).

El segmento postcomunicante (*pars postcommunicalis*) de la arteria cerebral anterior sigue un trayecto ascendente en la cara medial del lóbulo frontal correspondiente, hasta alcanzar el cuerpo caloso. Gloger y cols. (1994a) denominan arteria pericallosa (*a. pericallosa*) al segmento de la arteria cerebral anterior situado en el surco del cuerpo caloso, aunque algunos autores utilizan este término como sinónimo de todo el segmento postcomunicante (Salamon y Huang, 1976; International Anatomic Nomenclature Committee, 1989; Feneis, 1994). La arteria pericallosa sigue un trayecto alrededor del cuerpo caloso, finalizando a nivel del esplenio, donde puede anastomosarse con la arteria pericallosa posterior.

Las ramas colaterales corticales de la arteria cerebral anterior se pueden originar directamente a partir del tronco principal, o bien a partir de una rama colateral que tiene su origen por debajo del cuerpo caloso y sigue un trayecto situado en el surco del cíngulo. Según Gloger y cols. (1994a) esta rama se

denomina arteria callosomarginal si da origen a un mínimo de dos ramas corticales con diferente territorio de distribución.

En el estudio de Gloger y cols. (1994a) mediante técnicas de reconstrucción tridimensional de la arteria cerebral anterior y de sus ramas de distribución periférica se sistematizaron las ramas colaterales corticales. Estas son:

- a. frontobasal media (*a. frontobasalis medialis*): rama que se distribuye en la cara inferior del lóbulo frontal. Esta arteria puede originarse ocasionalmente en el segmento precomunicante de la arteria cerebral anterior.
- a. frontopolar : se origina por debajo del rostro o de la rodilla del cuerpo calloso y se dirige hacia delante para irrigar el polo frontal.
- a. frontal anteromedial (*ramus frontalis anteromedialis*): nace a nivel del rostro del cuerpo calloso o cercana a la porción rostral de la circunvolución del cíngulo. Se distribuye en la porción anterior y media de la cara medial del lóbulo frontal, incluyendo una pequeña banda en la convexidad.
- a. frontal mediomedial (*ramus frontalis mediomedialis*): esta arteria ocupa el área superior al territorio de la arteria frontal anteromedial, extendiéndose desde la cara medial del lóbulo frontal hasta su superficie superolateral.
- a. frontal posteromedial (*ramus frontalis posteromedialis*): esta arteria se origina cerca de la unión entre la porción ascendente y horizontal de la rodilla del cuerpo calloso. Su territorio de distribución incluye la porción posterior del lóbulo frontal y el borde anterior del lóbulo

paracentral, en la cara medial, así como el tercio posterior de la circunvolución frontal superior y la porción craneal de la circunvolución precentral en la cara convexa.

- a. paracentral (*a. paracentralis*): en la cara medial irriga el lóbulo paracentral y la superficie situada por debajo suyo; en la cara convexa irriga la parte superior de las circunvoluciones precentral y postcentral.
- a. precuneal superior (*a. precunealis*): esta arteria irriga las porciones anterior y superior del precuneus, extendiéndose hacia la convexidad donde irriga la parte superior del lóbulo parietal. Esta rama no alcanza el surco parietooccipital.
- a. precuneal inferior (*a. parieto-occipitalis*): rama que se distribuye en la porción inferior del precuneus. Puede alcanzar el borde superior del hemisferio e incluso irrigar una pequeña parte del cuneus.

### 2.2.2.- Arteria cerebral media

La arteria cerebral media, o arteria silviana, nace como rama de división mayor de la arteria carótida interna. Según Lazorthes y cols. (1976) su calibre medio es de 4,5 mm. Tras su origen se dirige lateralmente por la cisura de Silvio. Su trayecto puede ser dividido en cuatro segmentos (Gloger y cols., 1994b):

- porción esfenoidal (*pars sphenoidalis*) en la que la arteria sigue un trayecto casi paralelo al ala menor del esfenoides.
- porción insular (*pars insularis*), situada sobre la superficie del lóbulo de la ínsula.

- porción opercular (*pars opercularis*), formada por aquellos segmentos situados en la superficie del opérculo frontal o temporal.
- porción terminal o cortical (*pars terminalis*), formada por la porción de las ramas terminales de la arteria cerebral media que emergen de la cisura de Silvio, y se extienden por la cara convexa de los hemisferios cerebrales.

El tronco principal de la arteria cerebral media se divide generalmente en dos o tres troncos secundarios, que permiten considerar en el segmento esfenoidal una porción prebifurcación y una porción postbifurcación. Los troncos secundarios dan origen a numerosas pequeñas ramas corticales que irrigan el lóbulo de la ínsula (arterias insulares), así como ramas terminales que emergen de la cisura de Silvio hacia la cara convexa de los hemisferios cerebrales. Siguiendo la sistematización de Gloger y cols. (1994b) estas ramas son:

- a. frontobasal lateral (*a. frontobasalis lateralis* o *ramus orbitofrontalis lateralis*): su territorio de distribución incluye la parte lateral de la cara inferior del lóbulo frontal.
- a. prefrontal: bajo este nombre se agrupan aquellas ramas colaterales que, a modo de candelabro (arteria en candelabro de Foix), se distribuyen por la porción opercular y triangular, parte de la porción orbital de la circunvolución frontal inferior, la circunvolución frontal media y la parte inferior de la circunvolución frontal superior.
- a. del surco precentral (*a. sulci precentralis*): emerge de la cisura de Silvio por la parte posterior del opérculo frontal, y sigue una dirección ascendente en el surco precentral. Su territorio incluye la

parte posterior de las circunvoluciones frontales media e inferior, la parte inferior o los dos tercios inferiores de la circunvolución precentral y la parte posterior del opérculo frontal o la anterior del opérculo parietal.

- a. del surco central (*a. sulci centralis*): se trata de una o dos arterias que se dirigen en dirección ascendente situándose en el surco central de Rolando. Su territorio incluye el tercio medio de la circunvolución precentral, el tercio o la mitad inferior de la circunvolución postcentral, parte de los opérculos y la profundidad del surco central.
- a. parietal anterior (*a. parietalis anterior*): en su recorrido sigue el surco postcentral, e irriga la mitad o los dos tercios superiores de la circunvolución postcentral y la parte anterior del lóbulo parietal. Únicamente en la Nómina Anatómica (International Anatomic Nomenclature Committee, 1989) se hace referencia a una arteria independiente del surco postcentral (*a. sulci postcentralis*).
- a. parietal posterior (*a. parietalis posterior*): emerge a nivel del límite posterior del surco lateral de Sylvio. Sigue un curso superficial en dirección posterosuperior sobre la circunvolución parietal inferior. Su territorio comprende la circunvolución supramarginal y la parte posterior y superior del lóbulo parietal.
- a. de la circunvolución angular (*a. gyri angularis*): debe ser considerada la rama terminal de la arteria cerebral media. Su territorio incluye la parte superior del lóbulo temporal, la circunvolución angular, parte de la circunvolución supramarginal y la parte posterior de la circunvolución temporal superior.
- a. temporopolar: esta arteria ha sido considerada una rama constante e

independiente de la arteria cerebral media (Lasjaunias y Berenstein, 1990). Se extiende en el polo temporal, irrigando el uncus de la circunvolución del hipocampo conjuntamente con ramas de la arteria cerebral posterior.

- a. temporal anterior (*a. temporalis anterior*): cruza la parte anterolateral de las circunvoluciones superior, media e inferior a las cuales da irrigación arterial.
- a. temporal media (*a. temporalis media*): sigue un trayecto paralelo a la anterior e irriga la parte media de la cara convexa del lóbulo temporal.
- a. temporal posterior (*a. temporalis posterior*): cruza las circunvoluciones temporales superior y media, irrigando la parte posterior de las mismas. Es la denominada arteria principal de la afasia de Wernicke (Rouvière y Delmas, 1991).
- a. temporo-occipital: irriga la parte más posterior de la circunvolución temporal superior y la mayor parte de la superficie convexa del lóbulo occipital.

Las ramas centrales de la arteria cerebral media son las principales responsables de la vascularización de las formaciones grises telencefálicas. En conjunto se les denomina arterias estriadas (*rami centrales sive striati*). Están constituídas por 10-12 pequeñas ramas que nacen en la porción basal o esfenoidal de la arteria silviana, y que no se anastomosan entre sí. Se introducen en el parénquima cerebral, a través del espacio perforado anterior, e irrigan el putamen y la parte externa del pálido, así como la cápsula externa, el antemuro y el cuerpo del núcleo caudado. La arteria cerebral media contribuye a la vascularización de la cabeza del núcleo caudado, junto con la arteria recurrente

de Heubner, y a la irrigación de la parte interna del pálido, junto con ramas de la arteria coroidea anterior (Orts Llorca, 1986). La mayor parte de la cápsula interna es también territorio dependiente de la arteria cerebral media, pero con algunas excepciones: una porción del brazo anterior de la cápsula interna, que está irrigada por la arteria cerebral anterior a través de la arteria recurrente de Heubner, y la parte basal del brazo posterior de la cápsula interna, que es tributario de la arteria coroidea anterior, aunque en muchas ocasiones esta arteria es rama de la arteria silviana (Orts Llorca, 1986). La porción más basal de la rodilla de la cápsula interna, recibe con frecuencia ramas directas de la arteria carótida interna.

La sistematización de las ramas centrales de la arteria cerebral media es variable. Duret (1874) y Foix y Levy (1927) distinguen un grupo externo y un grupo interno. Las arterias estriadas externas penetran por la parte externa del espacio perforado anterior, atraviesan el putamen en dirección caudo-craneal, al que irrigan, alcanzando la cápsula interna y el núcleo caudado. Alguna de estas ramas, por su vulnerabilidad ha merecido el nombre de arteria de la hemorragia cerebral de Charcot. Las arterias estriadas internas atraviesan el pálido externo, al que irrigan, para llegar a la cápsula interna.

### **2.2.3.- Arteria cerebral posterior**

La arteria cerebral posterior nace como rama de bifurcación terminal de la arteria basilar, en la cara anterior del mesencéfalo, uniéndose a la arteria carótida interna a través de la arteria comunicante posterior. Esta arteria es la más variable de todas las arterias del cerebro por su origen, calibre y distribución



cortical (Orts Llorca, 1986).

Embriológicamente la arteria cerebral posterior es continuación de la arteria comunicante posterior y, por tanto, es una rama de la arteria carótida interna. Reflejo de su origen en la arteria carótida interna es el hecho de que las fibras simpáticas del plexo carotídeo continúan a través de la arteria comunicante posterior para inervar la porción distal de la arteria cerebral posterior (Stephens y Stilwell, 1969). En algunos casos (14,6%), el origen de la arteria cerebral posterior en la arteria carótida interna persiste en el individuo adulto, siendo en estos casos mayor el diámetro de la arteria comunicante posterior que el del segmento proximal de esta arteria o porción precomunicante (Lee, 1995). Según Gillilan (1959) la incidencia de este tipo de variación puede ser del 30%, y señala que en estos casos se debe dar el nombre de arteria comunicante posterior al segmento arterial que une la arteria basilar con la arteria cerebral posterior.

La arteria cerebral posterior, tras su origen se dirige hacia atrás rodeando la parte más craneal de los pedúnculos cerebrales, hasta la altura de los tubérculos cuadrigéminos anteriores (porción mesencefálica). Llegada a este nivel se incurva en dirección lateral para ganar la cara medial del lóbulo temporal, hacia su parte media. Sus ramas de división terminal se originan generalmente sobre el borde libre de la tienda del cerebelo, en forma de una bifurcación de la que nacen la arteria occipital medial (*a. occipitalis medialis*) y la arteria occipital lateral (*a. occipitalis lateralis*).

La arteria occipital medial se divide en dos ramas principales, la arteria calcarina (*ramus calcarinus*) y la arteria parietooccipital (*ramus parieto-occipitalis*). Además, la arteria occipital medial da origen a numerosas pequeñas

ramas que irrigan la circunvolución lingual (Gloger y cols., 1994c).

La arteria calcarina sigue un trayecto en la profundidad del surco calcarino irrigando la mayor parte del córtex visual, parte de la circunvolución lingual y el polo occipital, incluyendo su convexidad. En algunas ocasiones pueden encontrarse dos arterias calcarinas (Lasjaunias y Berenstein, 1990). La arteria parietooccipital sigue un trayecto ascendente, en el surco parietooccipital, pudiendo alcanzar la cara convexa del hemisferio. Su territorio se extiende alrededor del surco parietooccipital, el cuneus y parte del precuneus, así como en la circunvolución lingual. En un 50% de los casos contribuye a la irrigación del córtex visual (Margolis y cols., 1971).

La arteria pericallosa posterior es una rama colateral inconstante que está presente en el 40% de los casos (Lang, 1983). Se origina de la arteria occipital medial o de la arteria parietooccipital, y tras un trayecto ascendente alcanza el esplenio del cuerpo calloso.

La arteria occipital lateral da origen a las arterias temporales inferiores anterior, media y posterior (*rami temporales anteriores*, *rami temporales mediales* y *rami temporales posteriores*) que se distribuyen por la cara inferior del lóbulo temporal. Sus ramas terminales se distribuyen por la cara inferior del lóbulo occipital, hasta el polo occipital, y son denominadas ocasionalmente arterias temporales posteriores (Gloger y cols., 1994c).

Las ramas centrales de la arteria cerebral posterior nacen de la porción mesencefálica, y se clasifican en cuatro grupos: las arterias interpedunculares, las arterias cuadrigéminas, las arterias talámicas posteriores y laterales, y las arterias

coroideas posteriores (Lazorthes y cols., 1976). El territorio central de la arteria cerebral posterior es muy importante. En el mesencéfalo, participa en la vascularización de los pedúnculos cerebrales, los núcleos óculo-motores del III par craneal, y formaciones mesencefálicas como el locus niger, los cuerpos geniculados y los tubérculos cuadrigéminos. A nivel del diencéfalo, su territorio corresponde a la parte posterior del hipotálamo, la parte posterior e inferior del tálamo, así como formaciones de la unión mesodiencefálica. La arteria coroidea posterior, que tras su origen forma un delgado anillo arterial al mesencéfalo, da importantes ramas al tálamo, que irrigan el pulvinar, el cuerpo geniculado lateral y los núcleos ventrales posterolaterales. La arteria cerebral posterior es la arteria principal del tálamo, ya que a él no llegan ramas de la arteria silviana, y sólo pequeñas ramas de la comunicante posterior alcanzan la parte más anterior del tálamo (Orts llorca, 1986). A través de las ramas coroideas posteriores, la arteria cerebral posterior también irriga la tela coroidea del tercer ventrículo, parte de los plexos coroideos de los ventrículos laterales y el núcleo caudado.

#### **2.2.4.- Arteria coroidea anterior**

De las ramas terminales de la arteria carótida interna, la arteria coroidea anterior es la de menor calibre (0,5 mm según Lazorthes y cols., 1976). Se origina de la cara posterior de la arteria carótida interna a su salida del seno cavernoso, por encima de la arteria comunicante posterior y por debajo del origen de la arteria cerebral anterior, aunque con relativa frecuencia se origina a partir del segmento inicial de la arteria cerebral media (Orts Llorca, 1986)

En su trayecto se pueden diferenciar dos segmentos: una porción basal en

la cisterna quiasmática, y una porción ventricular que alcanza el plexo coroideo a nivel del cuerno temporal del ventrículo lateral

En la porción basal la arteria acompaña a la cintilla óptica hasta alcanzar el cuerpo geniculado lateral, y a través de la hendidura cerebral de Bichat llega a los plexos coroideos laterales. A pesar de su pequeño calibre, da importantes ramas que irrigan el uncus del hipocampo y el núcleo amigdalino, así como la cintilla óptica y el cuerpo geniculado lateral. Algunas de estas ramas son perforantes e irrigan la parte más inferior del brazo posterior de la cápsula interna, por donde discurren las fibras del fascículo piramidal, así como una pequeña área del campo de Wernicke, tributario en su mayor parte de la arteria cerebral posterior (Orts Llorca, 1986).

En la porción ventricular la arteria coroidea anterior se divide en múltiples ramas que constituyen la red vascular de los plexos coroideos del cuerno lateral del ventrículo lateral.

### **2.3.-CIRCULACIÓN COLATERAL DE LA CORTEZA CEREBRAL**

Las principales arterias responsables de la irrigación de la corteza cerebral se anastomosan entre ellas en la superficie cortical, a nivel de sus ramas terminales en las regiones limítrofes de sus territorios. Estas anastomosis son del tipo término-terminal. Su diámetro oscila entre las 200 y las 500  $\mu$ , y son denominadas anastomosis de primer orden (Lazorthes y cols., 1976). En cambio, las anastomosis entre ramas de una misma arteria cerebral son excepcionales (Stephens y Stilwell, 1969).

Las anastomosis juegan un papel importante en la circulación cerebral y en la fisiopatología cerebrovascular. Su objetivo es mantener la presión elevada, y prácticamente igual en todos los puntos de las dos arterias que las forman, así como el reequilibrio de las presiones entre ambas (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976).

Duret (1874) fue uno de los primeros autores que estudiaron la presencia de vías anastomóticas de conexión entre las tres grandes arterias superficiales que irrigan el córtex cerebral. Fay (1925), mediante inyecciones intravasculares con mercurio metálico en las arterias cerebrales, constató la riqueza de anastomosis de la circulación cerebral, mencionando la existencia de zonas de unión "en los confines de las arterias cerebrales". Foix y Levy (1927) señalaron que las zonas menos afectadas, tras una obstrucción de las arterias cerebrales, eran sus territorios distales.

La mayor frecuencia y tamaño de las anastomosis entre las arterias cerebrales corresponde a las anastomosis entre las arterias cerebral anterior y media, seguidas por aquéllas que se establecen entre las arterias cerebral media y posterior. La menor frecuencia corresponde a las anastomosis entre las arterias cerebrales anterior y posterior (Vander Eecken y Adams, 1953).

Cuando se produce una oclusión en uno de estos vasos, sus ramas distales pueden rellenarse en sentido retrógrado gracias a este tipo de anastomosis corticales, resultando un área de infarto menor de la que sería esperable o incluso una ausencia total de territorio infartado (Stephens y Stilwell, 1969). La eficacia de estas anastomosis depende de la edad del sujeto, del tiempo que tarda en establecerse la oclusión y de la presión arterial en las arterias no ocluídas (Lee,

1995).

Las anastomosis entre las distintas arterias cerebrales, sean únicas o múltiples, son numéricamente y topográficamente idénticas en la superficie cerebral lisa de los primeros estadios fetales, y en la superficie girencéfala del adulto (Lazorthes y cols., 1976).

Gillilan (1974) estudió más de 1000 encéfalos humanos mediante técnicas de inyección intravascular con látex, metil-metacrilato y gelatina, estableciendo las diferentes zonas de anastomosis entre las arterias cerebrales anterior, media y posterior.

Las zonas de anastomosis entre las arterias cerebrales anterior y media se encuentran en la cara convexa de los hemisferios cerebrales, a tres niveles: entre ramas orbitarias de ambas arterias; entre ramas de la arteria callosomarginal de la cerebral anterior y ramas ascendentes de la cerebral media; y finalmente, entre la arteria del surco central y la arteria paracentral.

Las zonas de anastomosis entre las arterias cerebrales media y posterior también se encuentran en la cara convexa, sobre el borde inferior del lóbulo temporal, y se establecen a cuatro niveles: entre las arterias parietales anterior y posterior de la cerebral media y la arteria parietooccipital de la cerebral posterior; entre las ramas temporales posteriores de la cerebral media y la arteria calcarina; entre las ramas temporales posteriores de ambas arterias; y por último, entre sus ramas temporales anteriores.

Las áreas de anastomosis entre las arterias cerebrales anterior y posterior

están presentes a nivel de la cara medial de los hemisferios, en la región occipital, y se establecen a dos niveles: entre la arteria pericallosa de la cerebral anterior y la arteria pericallosa posterior cuando ésta existe; y entre la arteria precuneal inferior de la cerebral anterior y la arteria parietooccipital de la cerebral posterior.

#### **2.4.- DISTRIBUCIÓN INTRACEREBRAL DE LAS ARTERIAS SUPERFICIALES**

A partir de la red arterial pial, formada en la superficie de los hemisferios por las ramas de distribución periférica o superficial de las arterias cerebrales, se originan pequeñas arterias que se introducen en el parénquima cerebral a lo largo y ancho de toda su superficie (Dudley, 1982). Estos vasos, o arterias intracerebrales (Stephens y Stilwell, 1969), penetran en la corteza cerebral tras incurvarse en superficie en ángulo recto. Siguen un trayecto vertical independiente al de las venas intracerebrales, y se ramifican abundantemente formando una densa red capilar (Stephens y Stilwell, 1969; Nolte, 1994).

La vascularización del parénquima cerebral no es uniforme. La densidad vascular de la sustancia gris, con gran abundancia de somas neuronales, es mucho mayor que la de la sustancia blanca, existiendo entre ambas una proporción en cuanto a su vascularización de 5:1 (Pfeifer, 1928; Cobb, 1931; Kety, 1972; Lazorthes y cols., 1976; Weiss y Edelman, 1976). El flujo sanguíneo de la sustancia gris ha sido calculado en  $85 \pm 5$  ml/100g/min (Espagno y Lazorthes, 1967). Además, mientras el flujo sanguíneo de la sustancia blanca es uniforme en todas las regiones y a todos los niveles, entre

diferentes áreas de la corteza cerebral existen variaciones en cuanto a su densidad vascular (Lazorthes y cols., 1976; Duvernoy y cols., 1981; Lasjaunias y Berenstein, 1990).

La mayor parte de los autores clasifican los vasos arteriales intracerebrales en dos grupos: las arterias corticales y las arterias medulares, largas, o de la sustancia blanca (Lazorthes, 1961; Williams y Warwick, 1985). Los vasos corticales son arteriolas de diámetro inferior a las  $50\mu$  (entre  $50$  y  $100\mu$  según Lazorthes y cols., 1976), que tras dibujar un ángulo recto en la superficie se introducen en el córtex para irrigar sus diferentes capas celulares y la sustancia blanca subyacente (Kennady y Taplin, 1967, Duvernoy y cols., 1981; Dudley, 1982). Las arterias corticales quedan confinadas a la corteza cerebral, donde forman una red vascular densa en la zona media de la sustancia gris. Las arterias largas atraviesan la sustancia gris sin intercomunicarse entre ellas (Williams y Warwick, 1985), y penetran en la sustancia blanca subyacente, hasta una profundidad de 3-4 cm (Lewis, 1957).

La disposición de los vasos a nivel de la corteza cerebral, o angioarquitectonía, ha sido estudiada por diferentes autores (Pfeifer, 1930; Lazorthes, 1961; Lazorthes y cols., 1976). El desarrollo de las técnicas de inyección vascular y de las técnicas de imagen durante los últimos 20 años ha permitido realizar estudios más detallados de la vascularización cortical encefálica y su estructura angioarquitectónica. Destacan en este sentido los trabajos de Wollschlaeger y Wollschlaeger (1978) y de Duvernoy y cols. (1981).

Duret (1874), a pesar de las dificultades técnicas, realizó una primera sistematización de la vascularización de la corteza cerebral. En su estudio dividió



las arterias intracerebrales en dos grandes grupos: las arterias largas o medulares, que tras un trayecto de 3-4 cm se dividen para formar la red capilar de la sustancia blanca; y las arterias cortas o corticales que forman la red vascular de la corteza cerebral.

Charpy (1901) describió la distribución intracerebral de las arterias superficiales. Según este autor, los vasos intracerebrales (arterias nutricias) son finas arteriolas que se originan en ángulo recto a partir de la red arterial pial. Tras su origen se introducen en la corteza cerebral, distribuyéndose en los diferentes estratos celulares, cada una de forma aislada e independiente del resto, formando una red vascular terminal.

La tipificación de las arterias corticales como vasos terminales es un concepto fisiológico que fue enunciado por Cohnheim (1872), según el cuál las arterias corticales se convierten en capilares sin unirse a arteriolas vecinas. Sin embargo, las arterias intracerebrales no son vasos terminales en este sentido, debido a la existencia de anastomosis a nivel precapilar y a la presencia de una red capilar continua a nivel cortical (Pfeifer, 1928; Cobb, 1931; Cobb y Talbott, 1937; Orts Llorca, 1986; Lasjaunias y Berenstein, 1990), pero sí desde el punto de vista funcional (Gillilan, 1974). Cada arteriola penetrante suministra un adecuado riego sanguíneo únicamente a un área determinada del lecho capilar (Lasjaunias y Berenstein, 1990), prácticamente sin anastomosis supracapilares entre áreas abastecidas por vasos yuxtapuestos. Ante la oclusión de una de estas arterias, su plexo capilar únicamente puede recibir un flujo sanguíneo suficiente durante un periodo de 5 a 10 minutos a partir de arteriolas adyacentes, comportando a partir de este periodo la aparición de un área de infarto, a pesar de la continuidad de la red capilar cortical (Scharrer, 1940; Kennady y Taplin,

1967; Lasjaunias y Berenstein, 1990).

La clasificación de Charpy (1901) de las arterias intracerebrales, que denominó arterias nutricias, fue en dos grupos: las arterias nutricias cortas y las arterias nutricias largas o arterias medulares. Las arterias nutricias cortas son vasos muy numerosos y de poco calibre, que se distribuyen en la sustancia gris. Se trata de vasos de disposición perpendicular a la superficie, ocasionalmente oblicuos, que no sobrepasan los 2-3 mm de longitud. Las arterias medulares, casi tan numerosas como las precedentes, con las que se van alternando, tienen un diámetro mayor. Tras atravesar el espesor de la corteza, estas arterias se incurvan en la sustancia blanca para seguir una dirección paralela a la de las fibras nerviosas.

Kennady y Taplin (1967) dividen los vasos nutrientes de la corteza cerebral en cuatro órdenes: el primer orden está formado por la red capilar cortical, constituida por vasos de  $6 \mu$  de diámetro. Los vasos de segundo orden se corresponden con el segmento precapilar de las arteriolas corticales, cuyo diámetro oscila entre  $12$  y  $8 \mu$ . Para Anderson y Anderson (1978a), en un estudio realizado mediante la técnica de inyección intravascular y posterior corrosión, las características más significativas de la arteriola precapilar eran la disminución marcada de su diámetro, que le proporcionaba una apariencia cónica, así como la presencia de agrupaciones de constricciones anulares o semicirculares que denominaron área esfinteriana precapilar. El tercer orden está constituido por los segmentos arteriales de distribución de las arterias corticales. Su diámetro oscila entre las  $25$  y las  $12 \mu$ . Finalmente, el cuarto orden está formado por el tronco principal de las arteriolas nutrientes que se introduce en la corteza cerebral, y cuyo calibre oscila entre  $51$  y  $16 \mu$ .

Duvernoy y cols. (1981), mediante la utilización de inyecciones intravasculares de tinta china gelatinada y resinas plásticas de baja viscosidad, estudiaron la vascularización cortical en 25 cerebros humanos, y clasificaron las arterias intracorticales en seis grupos, según su grado de penetración en la corteza:

Grupo 1 (A1).- Compuesto por vasos de 10  $\mu$  de diámetro, que alcanzan el estrato molecular (I), pudiendo extenderse hasta el estrato granular externo (II).

Grupo 2 (A2).- Constituido por vasos que alcanzan la parte superficial del estrato piramidal (IIIa,b). Su diámetro oscila entre las 15 y las 25 $\mu$ .

Grupo 3 (A3).- Son los vasos más numerosos. Tienen un diámetro de 15 a 30 $\mu$ . Penetran hasta la región media del córtex, que parece ser la más vascularizada. Esta región está centrada en la capa granular interna (IV) y se sobrepone con los segmentos adyacentes de los estratos piramidal (IIIc) y ganglionar (Va).

Las A2 y A3 son las más numerosas seguidas de los grupos 4 y 5.

Grupo 4 (A4).- Alcanzan el estrato multiforme y el límite con la sustancia blanca subcortical. Su calibre es mayor, oscilando entre las 30 y las 40  $\mu$ .

Grupo 5 (A5).- Se trata de arteriolas que pasan a través de todo el córtex irrigándolo, así como la sustancia blanca adyacente. Tienen un diámetro de 30 a 75  $\mu$ , que permanece constante mientras atraviesan el córtex. En la zona de transición entre la sustancia gris y la sustancia blanca, las A5 tienen un trayecto sinuoso, pudiendo adoptar una disposición en ovillo.

Grupo 6 (A6).- Compuesto por un grupo especial de arterias de mayor calibre (50-240  $\mu$ ), de longitud considerable, que pasan a través de la sustancia gris sin ramificarse, y que irrigan únicamente la sustancia blanca (arterias medulares de Duret). Según Bär (1980) las arterias de mayor longitud (A6 y A5) son las primeras en aparecer durante la morfogénesis del córtex.

A partir del estudio de la distribución intracortical de una arteriola del grupo 4, considerada como vaso cortical típico, Duvernoy y cols. (1981) clasificaron en tres tipos sus ramas colaterales:

- Ramas primarias o superficiales.- Son aquéllas que se originan inmediatamente después de que el tronco principal penetre en el córtex. Se distribuyen paralelas a la superficie en los estratos I y II, aunque algunas pueden alcanzar el estrato III.
- Ramas secundarias o intermedias.- Son colaterales frecuentes que se caracterizan por un trayecto recurrente que proporciona al vaso principal un aspecto de candelabro. Se originan en la parte profunda del estrato III o IV adyacente, aunque en ocasiones pueden hacerlo en estratos más profundos; las ramas vuelven hacia la superficie para finalizar en los estratos I y II, dando a lo largo de su recorrido numerosas ramas de trayecto paralelo y rectilíneo. Además, en ocasiones dan ramas que se disponen en dirección contra-corriente al de la rama recurrente.

Es frecuente que algunas ramas que se originan en la convexidad de la curva de la arteria recurrente penetren profundamente en el córtex, donde contribuyen a la irrigación de los estratos IV y V.

- Ramas terciarias profundas.- Son también vasos colaterales frecuentes. Se originan en ángulo agudo con respecto al tronco principal, alcanzando los estratos medio (IV) y profundo (V y VI), donde se ramifican para dar sus ramas terminales.

El tronco terminal de los vasos corticales suele mantener la orientación del tronco principal, siendo generalmente de muy pequeño calibre y finalizando en los estratos V y VI del córtex.

## **2.5.- RED CAPILAR CORTICAL.**

Los vasos capilares corticales forman una red vascular ampliamente comunicada, dependiente de arteriolas terminales penetrantes en la corteza cerebral (Sahuquillo y cols., 1996; Sahuquillo y cols., en prensa -a-).

Durante el desarrollo embrionario de los vasos corticales en mamíferos se forman inicialmente arcos vasculares entre los vasos arteriales y venosos (looped system). Posteriormente el sistema de arcos se desarrolla enormemente hasta alcanzar el patrón reticular del adulto, formando una red capilar continua (Pfeifer, 1928, 1930; Craigie 1945; Lewis, 1957).

La mayor parte de los autores señalan que los capilares de la corteza cerebral son vasos de 6  $\mu$  de diámetro, el cual se mantiene constante a lo largo del territorio capilar (Kennady y Taplin, 1967; Lange y Halata, 1979; Duvernoy y cols., 1981). Sin embargo, según Anderson y Anderson (1978a,b) el diámetro de los capilares corticales oscila entre 9 y 11  $\mu$ .

A pesar de que el diámetro capilar se mantiene constante a lo largo de un territorio vascular determinado, existen diferencias entre el diámetro de capilares pertenecientes a distintos estratos vasculares de la corteza cerebral. Duvernoy y cols. (1981) señalan en este sentido que los capilares de mayor diámetro se encuentran en el segundo estrato de su clasificación.

La morfología y distribución de la red capilar parece estar en relación con la estructura histológica del sistema nervioso, siendo su riqueza vascular mayor cuanto más elevada es la situación en la escala filogenética (Craigie, 1945). La densidad capilar de la corteza cerebral depende esencialmente de su metabolismo y, por tanto, está en relación con el número de somas celulares y el tamaño de los mismos, así como con el número de contactos sinápticos que se establecen en un área determinada (Dunning y Wolff, 1937; Craigie, 1945; Kennady y Taplin, 1967; Stephens y Stilwell, 1969; Dudley, 1982; Peters y cols., 1991). Estudios funcionales han puesto de manifiesto la relación entre la densidad vascular y el metabolismo celular. Tsang (1936) señaló que la riqueza del lecho capilar cortical se incrementaba en la zona adyacente a una lesión experimental. Kety (1972) encontró que existía un incremento del flujo sanguíneo cerebral del córtex estriado cuando el individuo era estimulado mediante luces estroboscópicas. Risberg e Ingvar (1970) demostraron la existencia de cambios funcionales en el córtex suprasilviano al repetir de forma inversa series de dígitos; simultáneamente se observaba una disminución del flujo sanguíneo en el lóbulo temporal. Según Dudley (1982), los cambios del flujo sanguíneo cerebral que se producen con la actividad neuronal están en relación con los cambios en la concentración de CO<sub>2</sub> que se producen con el aumento del metabolismo celular.

Otros estudios también han relacionado la distribución y densidad de la red

capilar con la estructura histológica de la corteza cerebral. Duret (1874) estableció tres zonas vasculares diferentes en la corteza cerebral: una zona externa de 0,1 mm que contenía una red vascular cuadrangular, ancha y paralela a la superficie; por debajo se encontraba una zona de 2 mm de anchura, formada por una fina red capilar poligonal; profundamente se observaba una red transicional, de 1 mm de anchura y de malla más abierta.

Duvernoy y cols. (1981) señalan que existen cuatro estratos vasculares en el córtex dispuestos paralelamente a la superficie, que correlacionan con los estratos superficiales o citoarquitectura. Los dos primeros se encuentran en el estrato celular superficial, el tercero en el segmento medio del córtex, mientras que el cuarto está situado en la parte profunda.

- Primer estrato vascular cortical.- Situado en la capa molecular (I) y parcialmente en el estrato granular externo (II). La capa molecular se caracteriza por presentar dos zonas vasculares diferentes: una zona superficial clara (Ia), desprovista de capilares y cruzada por los troncos arteriales y venosos corticales; la zona profunda (Ib) es realmente el primer estrato vascular. Se trata de una red vascular formada por vasos principalmente dispuestos de forma paralela a la superficie. La orientación de estos vasos podría corresponder a la orientación de las fibras procedentes de las células horizontales de Cajal.
  
- Segundo estrato vascular cortical.- Situado en la parte superficial del estrato piramidal (IIIa y b). Está constituido por vasos paralelos y perpendiculares a la superficie, que proporcionan un aspecto en

empalizada a este estrato vascular.

- Tercer estrato vascular cortical.- Situado en la parte media del córtex: comprende la parte interna del estrato piramidal (IIIc), la granular interna (IV) y parte del estrato ganglionar (Va). Es el estrato de mayor densidad vascular del córtex formado por una red capilar orientada en todas direcciones (Dudley, 1982).

-Cuarto estrato vascular cortical.- Se corresponde con los estratos celulares profundos del córtex (ganglionar profundo -Vb- y multiforme -VI-). La red vascular disminuye en intensidad hasta llegar a la sustancia blanca; a pesar de la orientación multidireccional de este lecho capilar, la presencia de las ramas largas profundas de las venas principales da un aspecto de orientación horizontal a la red vascular.

Esta disposición de la red vascular cortical varía en la parte superior del gyrus y en la parte profunda del surco, de acuerdo con las variaciones de los estratos celulares (Duvernoy y cols., 1981).

Además de las bandas de diferente densidad capilar dispuestas paralelamente a la superficie, ocasionalmente se han descrito densificaciones del lecho capilar en forma de columnas perpendiculares a la superficie, que pueden corresponder a bandas de neuronas incluídas en haces de fibras nerviosas (Duvernoy y cols., 1981).

La vascularización cortical no solamente presenta variaciones



angioarquitectónicas entre los distintos estratos celulares, sino también entre áreas corticales funcionalmente diferentes (Craigie, 1921; Cobb y Talbot, 1937; Lazorthes, 1961; Lazorthes y Gouazé, 1968; Williams y Warwick, 1985; Orts Llorca, 1986; Duvernoy y cols., 1981). En este sentido, Pfeifer (1928) describió hasta una docena de disposiciones arteriales y capilares diferentes en las distintas áreas corticales. Lazorthes y Gouazé (1968) señalan que las áreas del archicórtex presentan una vascularización simple, compuesta por arterias largas, de bajo calibre y dispuestas paralelamente entre ellas. A nivel del paleocórtex, las arterias se ramifican en forma de cáliz o candelabro, estableciéndose dos estratos vasculares, uno superficial y otro profundo. En el neocórtex, las áreas de recepción y asociación presentan una densidad vascular mayor que la de las áreas motoras (Craigie, 1945).

## **2.6.- ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LOS VASOS DE SUPERFICIE Y DE LAS ARTERIAS INTRACEREBRALES.**

### **2.6.1.- Arterias cerebrales.**

Las arterias del sistema nervioso central son de tipo muscular (Lazorthes y cols., 1976). Este tipo de arterias regulan la distribución de la sangre a los diferentes tejidos y órganos, y modifican la resistencia periférica al flujo sanguíneo.

La pared de los grandes vasos intracraneales se caracteriza por una disminución del ratio pared/lumen, es decir, un adelgazamiento de su pared en

comparación con arterias de su mismo calibre situadas en otros órganos (Lazorthes y cols., 1976; Lee, 1995). El estudio histológico de estas arterias revela una disminución de la media y la adventicia, una desaparición de la membrana elástica limitante externa, y una condensación de las fibras elásticas en la lámina elástica interna, que se encuentra fuertemente desarrollada (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976; Rhodin, 1977; Dudley, 1982). La pérdida de la lámina elástica externa está aparentemente relacionada con la edad (Lee, 1995).

La composición en porcentaje de la pared de las arterias cerebrales es de un 17% para la íntima, un 52% para la capa media y un 31% para la adventicia. Las células musculares lisas ocupan el 72% de la túnica media (Walmsley y cols., 1983). El número de estratos de células musculares lisas varía de 4 a 20 para las grandes arterias, 2-3 capas a nivel de las arteriolas, y una capa única a nivel de las arteriolas terminales (Lee, 1995). A nivel de las bifurcaciones de las arterias cerebrales se encuentran con frecuencia defectos de la pared consistentes en la ausencia puntual de la capa de células musculares lisas. Estos defectos representan áreas de debilidad mecánica de la pared de la arteria y, consecuentemente, lugares para la formación de aneurismas (Lee, 1995).

A nivel de las grandes arterias cerebrales se ha señalado la presencia de vasa vasorum que participan en la nutrición de su pared, pero según Lazorthes y cols. (1976), a nivel de la red pial la nutrición de los vasos se realiza por difusión.

Dahl (1973) estudió en el mono la ultraestructura de las arterias cerebrales así como la de los vasos intracorticales. La pared de las arterias cerebrales se

caracterizaba por una capa de células endoteliales simple, un espacio subendotelial que separaba las células endoteliales de una lámina elástica interna que contenía islotes de fibras elásticas y de colágeno, y una túnica media formada por dos o tres estratos de células musculares lisas. Externamente se observaba una adventicia de 2-7  $\mu$  en la que se encontraban fibras de colágeno, fibroblastos y terminaciones nerviosas. En un trabajo previo a nivel de las arterias cerebrales en individuos jóvenes, Dahl y cols. (1965) encontraron fenestraciones a nivel de la lámina elástica interna, así como la presencia de células musculares lisas entre las células endoteliales y la lámina elástica interna. El tamaño de estas fenestraciones era de 2-8  $\mu$ , siendo mayores y más numerosas cuanto menor era el diámetro de la arteria (Hassler, 1962). A nivel de las grandes arterias cerebrales se ha descrito también la presencia de rupturas de la elástica interna de 700 a 3000  $\mu$  de longitud, cuya frecuencia es mayor en individuos de más de 30 años y en casos de hipertensión arterial (Hassler, 1961).

La mayoría de las células presentes en la media son células musculares lisas dispuestas circularmente, con forma de huso y ocasionalmente ramificadas en sus extremos. La longitud de estas células oscila entre 75 y 100  $\mu$  a nivel de las arterias cerebrales, y entre 30 y 40  $\mu$  en las arteriolas precapilares intracorticales (Shiraishi y cols., 1990, Peters y cols., 1991). La disposición de las células musculares lisas a nivel de las bifurcaciones es multidireccional y aleatoria. Los contactos entre células musculares lisas tienen un diámetro de 0,1-0,5  $\mu$ . Estudios mediante microscopía electrónica de transmisión demuestran que estos contactos son uniones estrechas (close contacts) y no uniones de tipo gap junction (Lee, 1995).

### 2.6.2.- Inervación de las arterias cerebrales.

La presencia de terminaciones nerviosas a nivel de las arterias cerebrales fue sugerida hace más de 100 años (Kolliker, 1893), aunque su demostración y tipificación data de la aparición de la microscopia electrónica y de las técnicas histoquímicas.

Actualmente es conocida la presencia de terminaciones nerviosas en la pared de los vasos cerebrales, así como el hecho de que la mayor parte de éstas son de carácter adrenérgico y tienen una función de vasoconstricción. También, y de forma minoritaria, se han encontrado algunas fibras colinérgicas (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976). Aunque esta inervación es comparable a la de los vasos arteriales de cualquier otro órgano, la vasomotricidad de las arterias cerebrales es propia, y relativamente independiente a influencias externas.

Estudios recientes han comprobado la presencia de sustancia P, neurotransmisor relacionado con la transmisión nociceptiva y potente vasodilatador (Peters y cols., 1991). Se ha descrito también la presencia de células multipolares a nivel de la adventicia de las arterias cerebrales. Se trata de células similares a las células intersticiales de Cajal que actuarían como células marcapasos (Peters y cols., 1991). Estudios *in vitro* de las arterias cerebrales han demostrado la existencia de contracciones rítmicas de estos vasos, que estarían en relación con las células multipolares de la adventicia (Lee, 1995).

Esta inervación procede de plexos nerviosos perivasculares que penetran en el interior del cráneo alrededor de las arterias carótidas internas y vertebrales.

El plexo peri-carotídeo recibe ramas del n. glossofaríngeo (Hovelacque, 1927), y del ganglio simpático cervical superior. En el interior del cráneo se continúa alrededor de la arteria oftálmica, las arterias cerebrales anterior y media, la arteria comunicante posterior y la arteria coroidea anterior (Lazorthes y cols., 1976).

El plexo vértebrobasilar presenta dos segmentos. Un primer segmento está formado por ramas procedentes del ganglio simpático intermedio que constituyen el nervio vertebral anterior, y principalmente del ganglio estrellado formando el nervio vertebral posterior (Lazorthes y cols., 1976) o nervio de François Franck (Fontaine y Drizenko, 1996), que envuelven la arteria vertebral en su porción ascendente hasta alcanzar el axis. La porción sinuosa de esta arteria, que precede a su entrada en la cavidad craneal, está inervada a partir del primer y segundo nervios cervicales. Williams (1935) señaló que el plexo vértebrobasilar finalizaba alrededor del tronco basilar, y que la arteria cerebral posterior estaba inervada a partir de ramas del plexo carotídeo, que alcanzaban dicha arteria a través de la arteria comunicante posterior. Posteriormente, Lazorthes y Reis (1942) indicaron que el plexo de las arterias vertebrales y del tronco basilar se continuaba sobre las arterias cerebrales posteriores, existiendo alrededor de la arteria comunicante posterior ramas de ambos plexos.

A nivel intracraneal, las arterias cerebrales reciben ramas nerviosas procedentes del locus caeruleus (Reis, 1979), y de los pares craneales III, V, VIII, IX y XII (Lazorthes y cols., 1976).

### **2.6.3.- Arteriolas corticales.**

Los vasos arteriales que penetran en la corteza cerebral son, desde el punto de vista histológico, arteriolas que presentan una túnica media formada por una o dos capas de células musculares lisas, orientadas aproximadamente de forma transversal con respecto al eje longitudinal del vaso. Externamente a la túnica media, las arteriolas corticales presentan una delgada túnica adventicia, e internamente se observa una gruesa lámina basal formada por colágeno y fibras elásticas. Esta lámina separa la túnica media de la íntima, formada por una capa de células endoteliales (Peters y cols., 1991). En las grandes arteriolas las fibras elásticas forman una membrana elástica interna continua; sin embargo, en las arteriolas de menor diámetro dicha membrana se encuentra muy fragmentada, pudiendo estar ausente en las arteriolas más pequeñas, en cuyo caso las células musculares lisas están directamente relacionadas con el endotelio (Lazorthes y cols., 1976).

En el lugar de entrada de las arteriolas en la corteza cerebral, estos vasos se encuentran rodeados por el denominado espacio perivascular de Virchow-Robin, continuación del espacio subaracnoideo según Millen y Woollam (1961), y del espacio subpial según estudios más recientes (Hutchings y cols., 1986; Lasjaunias y Berenstein, 1990). A medida que el vaso penetra en el córtex, el recubrimiento de las células musculares lisas se hace más delgado y el espacio de Virchow-Robin se estrecha hasta desaparecer (Peters y cols., 1991).

Dahl (1973) estudió en el mono la ultraestructura de los vasos intracerebrales, encontrando la presencia de uniones celulares mioendoteliales. Estas uniones se observaban en lugares de protusión de la célula endotelial, o

bien de la célula muscular lisa, a través de la membrana basal y la elástica interna. Este hallazgo, junto con la existencia de contactos membrana-membrana entre células musculares lisas adyacentes, llevaron a este autor a señalar que el tono de dichos vasos puede venir controlado a través de las uniones mioendoteliales.

En la zona profunda o terminal de las arteriolas intracerebrales se observa una pérdida del recubrimiento de células musculares lisas. De forma concomitante a esta pérdida aparecen otro tipo de células en la pared de los vasos: las células de Rouget o pericitos. La aparición de pericitos en la pared de estos vasos indica la llegada al territorio capilar (Jones, 1970). Esta transformación ocurre a una profundidad variable, dependiendo del tamaño de la arteriola penetrante (Peters y cols., 1991).

#### **2.6.4.- Capilares corticales.**

La estructura histológica de los capilares intracerebrales ha sido estudiada por numerosos autores (Wolff, 1963; Rhodin, 1967; Lange y Halata, 1979; Peters y cols., 1991). La pared de los capilares cerebrales está formada por una capa continua de células endoteliales, sin soluciones de continuidad o fenestraciones (Lazorthes y cols., 1976). Dicha pared se encuentra engrosada a nivel de los núcleos de las células endoteliales, mientras que es muy delgada en el resto. La presencia de fenestraciones de 200 a 1200 Å de diámetro se ha constatado a nivel de los capilares de los plexos coroideos, así como en algunas áreas del sistema nervioso como la hipófisis, la glándula pineal o el área postrema (Schlosshauer, 1993; Betz y cols., 1994; Sahuquillo y cols., en prensa -b-).

En el citoplasma de las células endoteliales se observan filamentos de 4 a 6 nm de diámetro que probablemente corresponden a filamentos de actina (Peters y cols., 1991). Por otro lado, las vesículas de pinocitosis son mucho menos abundantes que en los capilares de la mayoría de los tejidos.

Las uniones entre células endoteliales son variables en extensión. Generalmente existe una superposición entre las membranas de dos células adyacentes (Fujimoto, 1995), y es frecuente observar a nivel del extremo luminal de la unión un pliegue formado por una o sendas membranas que protuye hacia la luz. En la zona de aposición, ambas membranas están separadas por un espacio de 15 nm, excepto a nivel de las uniones tipo zónula occludens que se establecen entre las dos células endoteliales (Lazorthes y cols., 1976; Peters y cols., 1991). Connell y Mercer (1974) señalan que las zonulas occludens entre las células endoteliales del córtex cerebral son similares a tight junctions. Este tipo de uniones, junto con la ausencia de fenestraciones y el bajo grado de transporte a través de las células endoteliales mediante vesículas de pinocitosis, son factores importantes en el mantenimiento de la llamada barrera hematoencefálica, que fue puesta de manifiesto por Erlich en 1885. La inyección de soluciones hiperosmolares puede abrir estas tight junctions y producir una disrupción de la barrera hematoencefálica (Neuwelt y cols., 1980).

Externamente a las células endoteliales de los capilares cerebrales se observa una lámina basal continua de 30-40 nm de grosor. En ocasiones la membrana basal se desdobra en dos láminas que delimitan el denominado espacio perivascular, donde están situados los pericitos (Plenk, 1927; Lange y Halata, 1979). Rodeando la membrana basal de los capilares del sistema nervioso se encuentra una capa continua formada por prolongaciones citoplasmáticas de



astrocitos, que representan un segundo eslabón de la barrera hematoencefálica (Lazorthes y cols., 1976).

Los pericitos son células de origen mesodérmico localizadas en la pared de los microvasos desprovistos de células musculares lisas (capilares y vénulas postcapilares), que envuelven de forma incompleta, mediante sus prolongaciones, las células endoteliales, y que se encuentran rodeados por la membrana basal (Sims, 1986; Farrell y cols., 1987; Díaz-Flores y cols., 1991). Fueron descritos como células adventicias por Rouget en 1873, que observó la presencia de una serie de células muy ramificadas en la superficie de los capilares de una gran variedad de especies animales. Krogh (1919) introdujo el término de célula de Rouget para describir estas células, mientras que Aschoff (1924) las incluyó dentro del sistema retículoendotelial. Zimmerman (1923) introdujo el término de pericito, y mediante estudios de impregnación argéntica de Golgi y Kopsch señaló que se trataba de células musculares lisas modificadas capaces de disminuir el diámetro capilar.

Los pericitos y sus procesos citoplásmicos están presentes en la mayoría de los capilares de los diferentes tejidos, aunque el número de pericitos y el grado de cobertura de la circunferencia del capilar por parte de los mismos muestra diferencias sustanciales según la localización topográfica, el tipo de vaso y el estadio de desarrollo (Díaz-Flores y cols., 1991). En animales experimentales se ha observado que los pericitos de la corteza cerebral cubren un 5,3% de la superficie capilar, un 4,9% a nivel de la sustancia blanca, un 11% en el músculo cardíaco y un 22% en el músculo esquelético (Sims, 1986). Del mismo modo, el recubrimiento de la superficie de los capilares corticales en el adulto es menor que en los capilares corticales inmaduros durante el desarrollo

embrionario.

Morfológicamente los pericitos presentan un cuerpo celular alargado (región nuclear o pericarion), inmediatamente adyacente a la superficie no luminal del endotelio, del cual se origina un elaborado sistema de prolongaciones de disposición longitudinal (procesos primarios) o circunferencial (procesos secundarios) que envuelven parcialmente la pared del capilar (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991).

La lámina basal forma una envoltura alrededor tanto del cuerpo como de los procesos de los pericitos, excepto en aquellos puntos en los que dichos procesos están en contacto con el endotelio (Sims, 1986; Tilton, 1991). A este nivel, las células endoteliales y los procesos de los pericitos están separados por un espacio de 15-17 nm, observándose uniones de tipo gap que dejan un espacio intercelular de 20Å (Cuevas y cols., 1984; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991; Fujimoto, 1995), así como uniones tipo tight junctions de forma ocasional (Tilton, 1991). No obstante, algunos autores niegan la existencia de uniones específicas en las zonas de aposición de las membranas de los pericitos y células endoteliales (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982).

La ultraestructura de los pericitos en los capilares de la corteza cerebral fue estudiada por primera vez en 1956 por Farquhar y Hartmann (Tilton, 1991). Posteriormente destacan en este sentido los trabajos de Cancilla y cols. (1972), Lafarga y Palacios (1975) y Castejón (1984). Los pericitos presentan en su citoplasma una elaborada red de filamentos formados por microtúbulos de 25 nm de diámetro, filamentos de 10 nm y microfilamentos de 7-8 nm que, de forma individual o en haces, se extienden desde el cuerpo a los procesos citoplásmicos

(Díaz-Flores y cols., 1991). Los microfilamentos de actina están presentes en el citoplasma de estas células, con ambos tipos de isoactina, la muscular o alfa y las isoformas no musculares beta y gamma. Los pericitos contienen además cantidades significativas de GMP cíclico dependiente de proteína-kinasa y de tropomiosina (Sims, 1986).

Algunos autores hacen referencia a dos tipos de pericitos a nivel de la microcirculación cerebral: granulares y agranulares (Lafarga & Palacios, 1975; Van Deurs, 1976; Mato & Ookawara, 1981; Sumner, 1982; Jeynes, 1985). El tipo granular o pericito con lisosomas primarios y secundarios se caracteriza por contener en su citoplasma gránulos autofluorescentes, densos, pas + y fosfatasa ácida +. Después de los trabajos de Farrell y cols. (1987), mediante reconstrucciones seriadas, se cuestiona la existencia del tipo agranular.

El significado fisiológico de los pericitos no se conoce con exactitud por lo que se les ha asignado numerosas funciones. Entre las funciones atribuidas a estas células destaca en primer lugar la de ser células contráctiles capaces de regular la permeabilidad y el flujo sanguíneo a nivel capilar. Otras funciones de los pericitos serían la de ser células mesenquimales indiferenciadas que participan en los procesos de reparación e inflamación, actúan como soporte mecánico y contribuyen a la estabilidad de la pared del vaso, función de control del crecimiento y del movimiento de la célula endotelial, potencial capacidad fagocitaria, y función de síntesis y transporte de sustancias a través de la pared del vaso.

La función contráctil de los pericitos a nivel de la microcirculación ha sido la más documentada desde los trabajos iniciales de Rouget (1873), Krogh (1919)

y Zimmermann (1923). Esta hipótesis se basa en los siguientes hechos: a) las características morfológicas y topográficas de los pericitos; b) la presencia de un elaborado aparato contráctil citoplásmico con fibras de actina (Wallow y Burnside, 1980), así como de mecanismos estructurales para la transmisión de la fuerza hasta la célula endotelial; c) la expresión de proteínas típicas de células contráctiles como el  $GMP_c$  (Joyce y cols., 1984); d) la observación de la reducción del diámetro capilar y excavaciones sobre la superficie de la célula endotelial a nivel de los pericitos en respuesta a agentes vasoactivos d) finalmente, en la respuesta contráctil *in vitro* (Castejón, 1984; Díaz-Flores y cols., 1991). Mediante su capacidad contráctil los pericitos actúan en el control del flujo y la permeabilidad capilares. No obstante, otros autores atribuyen el control del flujo capilar a la contractilidad de la célula endotelial o a la acción conjunta de pericito y célula endotelial (Ragan y cols., 1988; Díaz-Flores y cols., 1991; Aharinejad y cols., 1993; Dietrich y Dacey, 1994). A pesar de estas características, no todos los autores han aceptado la hipótesis de la contractilidad de los pericitos (Clark y Clark, 1925, 1940; Maximow, 1927; Benninghoff, 1930; Michels, 1936, Zweifach, 1937, Illig, 1957).

El control de la contractilidad de los pericitos puede llevarse a cabo a través de componentes del plasma, de sustancias derivadas del endotelio, así como del propio metabolismo de células vecinas (Aharinejad y Böck, 1992). Un posible control nervioso de dichas células viene dado por la presencia de terminaciones axonales simpáticas en estrecho contacto con los pericitos (Rennels y Nelson, 1975; Forbes y cols., 1977; Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982). Wagner y Hossler (1992) han demostrado en animales de experimentación que los procesos primarios y secundarios de los pericitos forman un sincitio que tiene por objeto la respuesta contráctil coordinada de estas células frente a estímulos

hormonales o de otro tipo.

Los pericitos también han sido considerados por algunos autores como células progenitoras, una especie de células mesenquimales indiferenciadas que participan en los procesos de reparación e inflamación (Díaz-Flores y cols., 1991). Rhodin (1967) señala que una importante función de los pericitos es la de ser precursores de células musculares lisas de la pared vascular. Otros autores proponen que los pericitos cerebrales son células capaces de diferenciarse en fagocitos similares a macrófagos, en respuesta a una lesión producida por irradiación (Maxwell y Kruger, 1965).

Los pericitos actúan como soporte mecánico y elemento estabilizador de la pared del capilar mediante sus procesos y a través de su interacción entre éstos y las células endoteliales (Aharinejad y Böck, 1992; Gaudio y cols., 1992). La inclusión de los pericitos por la membrana basal del endotelio favorece su función estabilizadora (Rhodin, 1967). Una mayor densidad de pericitos proporciona a los microvasos una mayor resistencia al daño por hipertensión aguda (Farrell y cols., 1987). Por el contrario, se ha relacionado la pérdida de pericitos con la aparición de microaneurismas en la retinopatía diabética (Sims, 1986; Fryczkowski, 1992).

Los pericitos pueden actuar como reguladores negativos de neovascularización, es decir, células responsables de la inhibición de la proliferación celular del endotelio a través del contacto celular, función que probablemente está mediada por el TGF- $\beta$  activado (Díaz-Flores y cols., 1991). En cocultivos celulares de células endoteliales y pericitos se ha observado que estos últimos provocan una inhibición contacto- dependiente de la división de las

células endoteliales (Tilton, 1991). Por otro lado, existe una asociación entre la disminución del número de pericitos y el incremento de la proliferación de las células endoteliales. Numerosas situaciones patológicas asociadas a neovascularización cursan con una pérdida previa de pericitos, y durante el desarrollo embrionario existe una relación temporal entre el cese del crecimiento de los microvasos y la llegada de pericitos al capilar (Tilton, 1991). Según Fujimoto (1995), el principal papel de los pericitos durante el desarrollo prenatal del cerebro es la regulación de la proliferación endotelial.

La potencial actividad fagocitaria de los pericitos ha sido postulada por un número importante de autores (Sims, 1986; Farrell y cols., 1987; Díaz-Flores y cols., 1991; Tilton, 1991). Esta capacidad sitúa a los pericitos dentro del grupo de estructuras o células responsables de la barrera hematoencefálica (Castejón, 1984). Esta hipótesis está en concordancia con el hallazgo de que la mayor parte de los pericitos del sistema nervioso son de tipo granular, con cuerpos multivesiculares en su citoplasma. Ya desde los trabajos de Del Río-Hortega (1919, 1921) los pericitos se sitúan en el origen de las células de microglía y de los macrófagos cerebrales. Majno y Palade (1961) demostraron la desaparición gradual de depósitos de carbón en vénulas por parte de pericitos, y en muchas enfermedades de depósito como la enfermedad de Tay-Sachs o la enfermedad de Krabbe, se observan cuerpos densos en su citoplasma (Tilton, 1991). Castejón (1984) resaltó el papel de los pericitos en la resolución del edema cerebral congénito, aunque no se conoce con exactitud su papel en el edema cerebral asociado a lesiones traumáticas.

Estudios experimentales *in vitro* destacan el papel de los pericitos en la síntesis de la membrana basal de los capilares (Sims, 1986; Tilton, 1991).

Finalmente, los pericitos serían células que participarían en la modulación de la función microvascular. Los trabajos de Cuevas y cols. (1984) así como de Larson y cols. (1987) dan soporte a esta hipótesis mediante la demostración de la existencia de uniones funcionales tipo *gap junction* entre pericitos y células endoteliales.

## 2.7.- VASCULARIZACIÓN DE LA SUSTANCIA BLANCA.

La irrigación arterial de la sustancia blanca representa una quinta parte del flujo sanguíneo que recibe la corteza cerebral (Sokoloff, 1961), aproximadamente  $15 \pm 3$  ml/100g/min (Espagno y Lazorthes, 1967).

Las arterias responsables de la vascularización de la sustancia blanca, denominadas por Duret (1874) arterias largas o medulares, son vasos de calibre ligeramente superior a las arteriolas que se distribuyen en la corteza cerebral (Lazorthes y cols., 1976). Wollschlaeger y Wollschlaeger (1978) estudiaron mediante angiografía las arterias responsables de la irrigación de la sustancia blanca que denominaron arterias transcerebrales. En su estudio señalan que estos vasos se pueden clasificar en dos tipos: las arterias cortico-cerebro-medulares o tipo 1 y las arterias pio-cerebro-medulares o tipo 2, que presentan un trayecto de mayor longitud, así como un mayor número de ramificaciones.

Las arterias medulares, procedentes de la red arterial superficial, atraviesan la corteza dando algunas finas ramas colaterales, introduciéndose a continuación en la sustancia blanca. Al alcanzar la sustancia blanca subcortical, aquellos vasos que proceden de la superficie de la circunvolución y/o del fondo

de los surcos cerebrales, penetran directamente en dicha sustancia. Sin embargo, aquellos vasos que tienen su origen en la corteza de las caras laterales de los surcos, al alcanzar la sustancia blanca se acodan bruscamente en su trayecto (Lazorthes y cols., 1976; Duvernoy y cols., 1981).

El trayecto de las arterias en la sustancia blanca es rectilíneo o sinuoso en zig-zag (Duvernoy y cols., 1981), emitiendo colaterales de forma monopódica que desembocan sin anastomosarse en la red capilar (Van der Bergh, 1961). Estas arterias convergen en su trayecto a lo largo de la sustancia blanca hacia la pared de los ventrículos laterales, a cuyo nivel finalizan en un plano subependimario mediante pequeñas ramificaciones (Lazorthes y cols., 1976; Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978). Sus ramas colaterales pueden tomar una dirección perpendicular al vaso principal, es decir, concéntrica, o bien adoptar su misma orientación radial tras un breve trayecto concéntrico. El trayecto de las arterias medulares se modifica en respuesta al envejecimiento y a procesos patológicos de diferente naturaleza, adoptando una morfología ondulada o en sacacorchos (Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978).

La red capilar de la sustancia blanca está compuesta por mallas alargadas, de aspecto rectangular u ovalado, frecuentemente en forma de U, que siguen la orientación de las fibras nerviosas. La densidad vascular de la sustancia blanca es débil, y no se observan zonas de incremento o disminución de dicha densidad (Van der Bergh, 1961; Lazorthes y cols., 1976).



### **3.- REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL**

El parénquima cerebral tiene un alto índice metabólico, el cual es extremadamente dependiente del aporte continuado de sangre oxigenada, debido a que no presenta mecanismos de reserva de oxígeno ni de glucosa, fundamentales para la actividad neuronal (Stephens y Stilwell, 1969). Tras 20 segundos de isquemia cesa la actividad eléctrica neuronal, y tan sólo algunos minutos después se inicia un daño celular irreversible (Blackwood, 1963; Nolte, 1994).

El consumo de oxígeno por parte del cerebro es de unos 46 ml/min, cifra que representa un 18% del consumo total por parte del organismo (Lazorthes y cols., 1976). La alta dependencia del aporte sanguíneo por parte de las células neuronales, junto con el hecho de que es la sustancia gris la responsable de este importante consumo (7-8 ml/100g/min, Sokoloff, 1961; Grote 1967), hacen que la regulación de la perfusión arterial cortical juegue un papel muy relevante en la función cerebral.

El control del flujo sanguíneo cerebral depende de factores extrínsecos e intrínsecos. Los factores extrínsecos incluyen la presión arterial sistémica, el gasto cardíaco y el volumen sanguíneo. No obstante, en condiciones fisiológicas, estos factores extrínsecos pueden variar en un amplio rango sin que el flujo sanguíneo cerebral se vea afectado de forma relevante (Stephens y Stilwell, 1969). La capacidad del cerebro para mantener una perfusión constante, a pesar de las variaciones en la presión arterial, venosa o intracraneal, es lo que se denomina mecanismo de autorregulación del flujo sanguíneo cerebral (Lazorthes y cols., 1976; Motti y cols., 1986; Lasjaunias y Berenstein, 1990; Sahuquillo y cols.,

1996). Gracias al mecanismo de autorregulación cerebral, ante un incremento de la presión arterial se produce una vasoconstricción, mientras que ante una disminución de la presión arterial, el mecanismo de autorregulación responde mediante una vasodilatación (Dietrich y Dacey, 1994). Estas reacciones ocurren de modo inverso a lo que se observa en la circulación general, lo que quiere decir que la circulación local cerebral escapa a la regulación vasomotora sistémica.

No todos los órganos tienen la misma capacidad de autorregulación. Así, mientras que la de la piel es nula, la autorregulación del cerebro es máxima (Lazorthes y cols., 1976; Lasjaunias y Berenstein, 1990).

La autorregulación del flujo sanguíneo cerebral en general, y cortical en particular, se basa en las variaciones de la resistencia vascular cerebral que vienen determinadas por mecanismos intrínsecos de la pared arterial, es decir, la vasomotricidad (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976). La vasomotricidad arterial depende de factores estructurales de la pared vascular, factores nerviosos y factores humorales o metabólicos (Lasjaunias y Berenstein, 1990).

### **3.1.- FACTORES ESTRUCTURALES DE LA AUTORREGULACIÓN CEREBRAL**

A nivel de la pared arterial de los vasos de diferentes órganos existen una serie de dispositivos músculo-elásticos capaces de actuar sobre el tránsito vascular, acelerándolo o relentizándolo. Se trata de fascículos musculares

formados por agrupaciones de células musculares lisas, que pueden estar situados a dos niveles. Un primer nivel está formado por aquellas agrupaciones que se sitúan entre la íntima y la limitante elástica interna o un desdoblamiento de la misma. Tienen una morfología de manguito o anillo, y forman una capa continua alrededor de la luz vascular. El segundo nivel está formado por aquellas agrupaciones de células musculares lisas que, situadas en la media, protuyen hacia la luz vascular a modo de cojinete (Lazorthes y cols., 1976).

Estas agrupaciones de células musculares son especialmente importantes a nivel de las bifurcaciones arteriales o en el origen de ramas colaterales, y se les atribuye un papel en la regulación del flujo sanguíneo local en distintos órganos (Benninghoff, 1930; Lazorthes y cols., 1976).

En las arterias cerebrales estas agrupaciones musculares están mayoritariamente situadas en los puntos de división o en su vecindad (Legait, 1948), y tienen un papel funcional de cierre o de disminución del diámetro vascular (Lazorthes y cols., 1976). En las arterias cerebrales de mamíferos, Champy y Louvel (1939) describieron la presencia de fibras musculares lisas longitudinales, dispuestas en la parte interna de la adventicia. Estas fibras tendrían un papel esencialmente vasodilatador por oposición a la acción de las fibras circulares.

Dentro de los factores estructurales de la pared arterial que participan en la regulación del flujo sanguíneo cerebral, se encuentran los tractos conjuntivos que unen dicha pared con la aracnoides. Estas bandas fibrosas participan en la producción del vasoespasmó de las arterias cerebrales, que se produce tras una hemorragia subaracnoidea (Lazorthes y cols., 1976).

A nivel de los capilares de la corteza cerebral no se observan células musculares capaces de proporcionar contractilidad a dichos vasos. Sin embargo, sí se observa la presencia de agrupaciones de células musculares lisas circulares en el origen del lecho capilar cortical, a nivel de la arteriola precapilar, formando el denominado esfínter precapilar (Lazorthes y cols., 1976) o área esfinteriana precapilar (Anderson y Anderson, 1978a). Este dispositivo muscular es para algunos autores el responsable de las modificaciones del flujo sanguíneo hacia el lecho capilar cortical (Rhodin, 1967; Nicoll, 1971; Lange y Halata, 1979).

El posible papel contráctil de las células endoteliales, y su implicación en la regulación del flujo sanguíneo capilar, fue postulado en 1865 por Stricker (Aharinejad y cols., 1993). En estudios experimentales se ha obtenido respuesta contráctil de las células endoteliales frente a estímulos mecánicos, eléctricos y drogas vasoactivas, evidenciándose protusiones de la célula endotelial hacia la luz vascular (Lazorthes y cols., 1976; Ragan y cols., 1988; Boswell y cols., 1992; Aharinejad y cols., 1993).

El papel funcional de los pericitos en el control del flujo sanguíneo capilar cortical ha sido señalado por diferentes autores (Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991), que observaron que dichas células podían provocar una protusión sobre la luz vascular, reduciéndola a un diámetro de 0,2 a 0,5 $\mu$ .

### **3.2.- FACTORES NERVIOSOS DE LA AUTORREGULACIÓN CEREBRAL.**

Actualmente no existen dudas acerca de la presencia de inervación a nivel de los vasos cerebrales (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976; Reis, 1979; Lasjaunias y Berenstein, 1990). Dicha inervación está formada por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensitivas, que se originan a partir de los ganglios estrellado y cervical superior, así como de diferentes pares craneales, especialmente de los nervios trigémino y facial (Lazorthes y cols., 1976), y de neuronas del locus caeruleus (Reis, 1979; Rennels y Nelson, 1975).

Purkinje (1845) realizó una primera descripción de las ramas nerviosas que acompañan a los vasos de la red arterial pial o de superficie. Huber (1899) describió la presencia de fibras nerviosas mielínicas y amielínicas en la adventicia de estas arterias, hallazgo que fue confirmado con posterioridad por Stöhr (1922). Tras los estudios de Clark (1934), se admite que los vasos de la superficie cortical poseen en su pared pequeñas ramas nerviosas agrupadas en fascículos o dispuestas en forma de plexo. Estas ramas contienen algunas fibras mielínicas entre numerosas fibras amielínicas. Las primeras finalizan entre células de la media, mientras que las segundas lo hacen a nivel de la adventicia o, incluso, en la propia piamadre. Peerles y Yasargil (1971), en un estudio experimental realizado mediante inmunofluorescencia, encontraron una densa inervación en los vasos corticales superficiales de 100 a 300  $\mu$  de diámetro. Asimismo, observaron la presencia de acúmulos de terminaciones nerviosas en los puntos de bifurcación de estos vasos, y en el origen de sus colaterales.

Aunque ciertos autores negaron la existencia de fibras nerviosas en el

trayecto intracerebral de las arterias corticales (Huber, 1899; Hassin, 1929, Stehbens, 1972), estudios posteriores han confirmado su presencia. Penfield (1932) encontró terminaciones nerviosas en los vasos arteriales de la corteza cerebral del hombre y de diferentes animales domésticos. Se trataba de terminaciones de carácter mielínico y amielínico que se situaban en la adventicia, y entre ésta y la media. Humphreys (1939) señaló que algunas de estas terminaciones se introducían en el espesor de la capa media de las arteriolas corticales.

Durante los últimos cuarenta años se ha confirmado la existencia de fibras nerviosas a nivel de las arterias intracerebrales (Lazorthes, 1949; Pease y Molinari, 1960; Nelson y Rennels, 1970). Estas fibras son básicamente de tipo amielínico. Se encuentran situadas a nivel de la adventicia, y entre ésta y la capa media (Lazorthes y cols., 1976), extendiéndose hasta alcanzar arteriolas de 10-20 $\mu$  de diámetro.

A diferencia de la adventicia, cuya inervación está bien establecida, la presencia de fibras nerviosas en la capa media es más discutida. Según algunos autores (Humphreys, 1939), a partir de la adventicia, algunas fibras se introducen en la capa media. Otros autores, sin embargo, no han visualizado fibras nerviosas a nivel de las células musculares de la capa media, cuyo control podría llevarse a cabo a partir de la liberación de un mediador químico (Pease y Molinari, 1960; Lazorthes y cols., 1976). La hipótesis de la liberación de un metabolito, o la difusión de un factor desde la luz vascular a la célula muscular lisa, que regule el tono vasomotor cortical, fue propuesta por Fawcett (1959). Esta hipótesis tiene su base estructural en la presencia de uniones mioendoteliales similares a tight junctions (Rhodin, 1967).

La asociación de la microscopia electrónica y técnicas histoquímicas ha permitido confirmar la existencia de esta inervación intracerebral, y reconocer la naturaleza de dichas fibras nerviosas. En este sentido, se ha demostrado la existencia de terminaciones adrenérgicas hasta arteriolas intracerebrales de 15-20 $\mu$  de diámetro. El número de estas terminaciones disminuye progresivamente a medida que desciende el calibre de la arteriola cortical y el número de estratos celulares musculares. Las fibras colinérgicas son mucho menos frecuentes en las arterias intracerebrales. Existen evidencias de que otros neurotransmisores pueden actuar en la regulación del flujo sanguíneo cerebral, como la serotonina o diferentes neuropéptidos como el péptido intestinal vasoactivo, la sustancia P o la neurotensina (Reis, 1979).

En estudios experimentales, y mediante microscopia electrónica, algunos autores han observado la existencia de terminaciones axonales, con vesículas de material electrondenso, muy próximas a los cuerpos y prolongaciones de los pericitos, o bien, contactando directamente con la célula endotelial rodeados por la membrana basal (Rennels y Nelson, 1975).

### **3.3.- FACTORES HUMORALES DE LA AUTORREGULACIÓN CEREBRAL.**

En condiciones fisiológicas, la inervación de los vasos cerebrales juega un papel menor en el control del flujo sanguíneo cortical (Reis, 1979). Forbes y Cobb (1938) señalan que los principales factores autoreguladores que modulan la vasomotricidad de las arteriolas corticales son los factores humorales o metabólicos, representados por las presiones parciales de CO<sub>2</sub> y de O<sub>2</sub>. Este

hecho explica que los mecanismos de autorregulación no sean de acción inmediata ante variaciones bruscas de la presión arterial (Lazorthes y cols., 1976), sino que exista un periodo de latencia durante el cuál se modifican las concentraciones de estos metabolitos.

Los factores humorales actúan de forma sinérgica, aunque no tienen una influencia cuantitativa similar. Así, la acción vasomotora de la concentración tisular de CO<sub>2</sub> es cuantitativamente superior a la del Q<sub>2</sub>, aunque ambas sean reflejo de la actividad metabólica neuronal en cada momento.

Estudios recientes señalan el posible papel en el control de la microcirculación cortical de otros factores humorales como las endotelinas, los aminoácidos excitadores a través del receptor NMDA, o el óxido nítrico (Bonvento y cols., 1994; Feger y cols., 1994; Huang y cols., 1994; Iadecola y Zhang, 1994; Morino y cols., 1994; Salom y cols., 1995).

### **3.4.- TEORÍAS SOBRE LA AUTORREGULACIÓN.**

Tres teorías han sido propuestas para dar explicación al mecanismo de autorregulación:

- La teoría miogénica: es la más antigua y fue enunciada en 1902 por Bayliss. Según Haggendal (1965), las modificaciones de la tensión de la pared vascular secundarias a variaciones en la presión sanguínea, influyen sobre el automatismo de las células musculares de la pared arteriolar, independientemente de los mecanismos nerviosos. Por tanto, las



fibras contráctiles de los vasos se oponen a las variaciones de la presión intravascular: un aumento de ésta provoca una vasoconstricción y viceversa. El estímulo sería una modificación de la presión transmural, que provocaría la despolarización de la célula muscular lisa, de forma directa o a través de la liberación de factores vasoactivos a partir de las células endoteliales (Harder y cols., 1989; Rosenblum y cols, 1994).

- La teoría metabólica es apoyada por numerosos autores (Rapela y Green, 1964; Fieschi, 1967; Betz y Heuser, 1967). En esta teoría juega un papel importante la  $p\text{CO}_2$  y accesoriamente la  $p\text{O}_2$ , tanto a nivel tisular como circulatorio (Hodes y cols., 1953). A favor de esta teoría está el hecho de que la respuesta vascular no es inmediata, sino que tiene lugar tras un tiempo de latencia que oscila entre 30 segundos y 2 minutos (Yoshida y cols, 1966). Según esta teoría las variaciones de la presión de perfusión aceleran o frenan la eliminación de los agentes vasoactivos liberados por el tejido, modificando el flujo sanguíneo cerebral. Así, un aumento de la presión arterial determina un incremento transitorio del flujo, provocando una reducción local de  $\text{CO}_2$ , un aumento del pH perivascular y, en consecuencia, una vasoconstricción.

- La teoría neurogénica se basa en la participación de los centros barosensibles situados hipotéticamente en el tronco cerebral (Lazorthes y cols., 1976).

Actualmente se acepta una intervención complementaria de todos los factores.

### **3.5.- LÍMITES DE LA AUTORREGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL.**

La capacidad de autorregulación del flujo sanguíneo cerebral tiene un límite superior y uno inferior, sobrepasados los cuales el flujo cerebral es directamente proporcional a la presión arterial.

El límite inferior de la autorregulación corresponde a aquél por debajo del cual el flujo sanguíneo cerebral desciende proporcionalmente a la bajada de la tensión arterial. Por tanto, el límite inferior se corresponde con el punto en que la dilatación arterial cerebral es máxima. En el hombre esto corresponde a una presión arterial media de 60-70 mmHg. Por debajo de esta cifra, y hasta los 30 mmHg, el descenso del flujo sanguíneo cerebral se compensa con un aumento en la extracción del oxígeno arterial. Por debajo de los 30 mmHg aparece la descompensación metabólica y la anoxia por caída del flujo sanguíneo cerebral (Lazorthes y cols., 1976).

No todos los vasos responden de la misma manera a la caída de la presión arterial. Las arterias piales de diámetro superior a las 200  $\mu$ , comienzan a dilatarse cuando la presión arterial desciende por debajo de los 90 mmHg, mientras que los vasos de menos de 70  $\mu$  de diámetro no comienzan a dilatarse hasta que la presión arterial desciende por debajo de los 40-50 mmHg (Lasjaunias y Berenstein, 1990).

El límite superior de la autorregulación es menos conocido. Se corresponde con aquella presión arterial a partir de la cual el flujo sanguíneo cerebral crece pasiva y proporcionalmente a la elevación de la tensión arterial.

Este límite se corresponde con una presión arterial de 160 mmHg, a partir de la cual se produce una dilatación pasiva de las arterias cerebrales (Meyer y cols., 1975).

El mecanismo de la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral no es instantáneo, por lo que si la tensión arterial cae bruscamente se registra una caída transitoria del flujo sanguíneo cerebral. De esta forma se explican los eclipses vasculares cerebrales que ocurren, por ejemplo, en el síndrome de Stokes-Adams (Lazorthes y cols., 1976).

### **3.6.- ALTERACIONES DE LA AUTORREGULACIÓN.**

La pérdida de la autorregulación es debida a un fracaso del tono vasomotor o vasoparálisis. Ésto deja el flujo sanguíneo cerebral en estrecha dependencia de la tensión arterial con el consiguiente riesgo: cualquier hipotensión entraña un riesgo de isquemia, mientras que cualquier hipertensión puede provocar una hipertermia cerebral.

La autorregulación únicamente se ejerce de forma plena en estados de normoxia y normocapnia (Lassen, 1974). Del mismo modo, el mecanismo autorregulador únicamente funciona si la pared de las arterias cerebrales conserva su poder vasodilatador, que se pierde en situaciones de arteriosclerosis importante.

El aumento de la presión intracraneal disminuye las posibilidades de autorregulación de la circulación cerebral. Baldy-Moulinier y Frèrebeau (1968)

demonstraron en el animal de experimentación que el flujo sanguíneo cortical cesa cuando la presión del líquido céfalorraquídeo es igual o superior a la mitad de la tensión arterial. En este sentido se ha observado que la mayor parte de los comas postraumáticos con hipertensión endocraneal se acompañan de una pérdida de la autorregulación (Hoyer y cols., 1972).

En las lesiones cerebrovasculares isquémicas agudas los mecanismos de autorregulación están fuertemente alterados, sobre todo durante los tres primeros días (Fazio, 1971).

La pérdida de la autorregulación puede existir no únicamente alrededor de los focos isquémicos, sino también en procesos expansivos intracraneales, en las crisis migrañosas, en las crisis de epilepsia y en individuos diabéticos (Lasjaunias y Berenstein, 1990).

#### **4.- LA TÉCNICA DE LOS MOLDES DE CORROSIÓN VASCULAR.**

Los moldes de corrosión vascular son réplicas del árbol vascular, obtenidas mediante corrosión del tejido, después de haber inyectado en el torrente circulatorio una sustancia resistente al proceso de corrosión (Lametschwandtner y Lametschwandtner, 1992).

La inyección de sustancias en el árbol vascular de los diferentes tejidos es una técnica relativamente antigua, que se ha utilizado de forma habitual desde el siglo XVII, aunque ya Leonardo da Vinci (1452-1519) realizó réplicas de espacios como los ventrículos cerebrales y las cámaras del corazón (Ohtani y Murakami, 1992). En este sentido, destacan en el siglo XVII los trabajos de Willis (1622-1675), Ruysch (1638-1731), Malpighi (1628-1694) y Swammerdan (1637-1680), que es considerado como el pionero de la técnica de inyección intravascular de sustancias que se solidifican.

Las sustancias utilizadas para la replección del árbol vascular han sido múltiples, y han experimentado constantes mejoras. Desde aceites y ceras que utilizaron los anatomistas del siglo XVIII (Salamon, 1971), pasando por la gelatina, que fue introducida como medio de inyección por Voight en el siglo XIX, a la que en 1901 se le agregó tinta china como medio de contraste. La tinta china gelatinada permite el llenado de capilares muy pequeños, y su combinación con técnicas histológicas facilita la correlación entre la arquitectura vascular y la estructura histológica (Duvernoy y cols., 1981).

En los años 30, comienzan a utilizarse como material de inyección las resinas plásticas polimerizables, como el látex (Neumayer, 1931) y el plastoid

(Schummer, 1935). Al mismo tiempo en que se comienzan a utilizar los plastoids se desarrolla la microscopia electrónica de barrido. Sin embargo, no fue hasta 1970 cuando se utilizó por vez primera la microscopia electrónica para la observación de un molde de látex (Nowell y cols., 1970).

La introducción de resinas plásticas resistentes al bombardeo electrónico, como el metil-metacrilato (Murakami, 1971), ha llevado, durante los últimos 25 años, al resurgimiento de la técnica de inyección intravascular y corrosión. Durante este periodo se han producido importantes avances en esta técnica, como por ejemplo, la obtención de resinas plásticas de baja viscosidad y moderado poder de retracción, como el Mercocox® o el Batson n° 17 (Levesque y cols., 1979; Konerding, 1991). No obstante, la utilización de estas técnicas para el estudio del árbol vascular ha sido mucho más importante en animales de experimentación, que no en el hombre. Konerding (1991) señala que, de las 549 publicaciones científicas relacionadas con el uso de moldes de corrosión vascular registradas entre 1966 y 1990, sólo un 25% tuvieron relación total o parcial con material humano. Factores que pueden explicar este hecho son la mayor facilidad para la manipulación experimental de pequeños animales, y la posibilidad de realizar la inyección intravascular en condiciones fisiológicas utilizando el bombeo cardíaco.

La técnica de los moldes de corrosión vascular visualizados mediante microscopia electrónica de barrido tiene numerosas ventajas e importantes aplicaciones, tal y como ha sido expuesto por numerosos autores (Anderson y Anderson, 1978a,b; Levesque y cols., 1979; Castenholz y cols., 1982; Burger y cols, 1983; Christofferson y Nilsson, 1988, 1992; Konerding, 1991; Aharinejad y cols., 1994):

- Es una técnica relativamente fácil en comparación con otros métodos.
- Presenta una buena relación coste/efectividad.
- Permite la rápida identificación de arterias y venas por las improntas endoteliales.
- Permite la observación tridimensional de la red vascular, especialmente útil en el estudio de las relaciones vásculo-anatómicas complejas.
- Permite la observación de amplias áreas vasculares, desde vasos de 500  $\mu$  hasta capilares.
- Contribuye a la interpretación de la disposición tridimensional, y la especialización funcional y estructural del sistema celular periendotelial a nivel de los pequeños vasos.
- La dirección del flujo sanguíneo puede ser determinada indirectamente a partir de la relación longitud/anchura de las impresiones nucleares.
- Permite el estudio de los brotes angiogénicos.
- Permite el estudio morfológico del endotelio, tanto en condiciones normales, como en condiciones patológicas.
- Permite la realización de estudios cualitativos y cuantitativos, como la caracterización de los diferentes niveles o estratos vasculares de un órgano, el estudio de la presencia y tipos de anastomosis, el estudio de la disposición de los vasos, el estudio del diámetro de los vasos y el estudio de la densidad vascular. Los avances en las técnicas de estereología y de análisis de imagen han facilitado este tipo de estudios.
- Aunque la preparación de los moldes de corrosión no es un proceso fisiológico, a través de este tipo de estudios puede obtenerse información sobre la fisiología de la microcirculación: estructuras esfinterianas arteriales, alteraciones en la distribución de la perfusión, diámetros vasculares y visualización de cambios morfológicos rápidos como es la contracción muscular

o el edema tisular.

Estas ventajas propias de la técnica de inyección intravascular se unen a la constante mejora de la resolución de las técnicas de microscopia electrónica (Murakami, 1971; Christofferson y Nilsson, 1988, 1992).

No obstante, la técnica de inyección intravascular y corrosión presenta también aspectos negativos, algunos de ellos controvertidos, que han sido señalados por diferentes autores.

Uno de los aspectos negativos más evocados, a la hora de la aplicación de esta técnica a estudios morfométricos, ha sido la retracción inevitable que se produce durante el proceso de polimerización de la resina.

Otro de los aspectos más controvertidos es la presencia de terminaciones ciegas en los moldes de corrosión, fenómeno que podría invalidar los estudios morfométricos de densidad vascular. Aunque dichas terminaciones han sido consideradas por algunos autores como signo de pobre llenado (Schraufnagel, 1987), éstas no son siempre reflejo de una falta de replección. Christofferson y Nilsson (1988) realizaron una clasificación morfológica de estas terminaciones, diferenciando claramente aquéllas que eran reflejo de una falta de replección, de aquéllas que estaban causadas por alteraciones fisiopatológicas de la propia pared vascular (vasoespasma, lesiones del endotelio).

Aunque algunos autores han señalado que otro de los aspectos negativos de esta técnica es que únicamente permite el estudio de los vasos que se encuentran funcionalmente abiertos, Konerding (1991) señala que este hecho debe



interpretarse de forma positiva, ya que estos vasos serían los que realmente juegan un papel nutritivo en el tejido que estamos estudiando en un momento determinado. No obstante, la apertura de canales vasculares causada por la presión de inyección puede dificultar esta interpretación fisiológica.

La técnica de moldes de corrosión vascular aplicada al estudio de la vascularización del encéfalo ha sido empleada fundamentalmente en animales de experimentación (Anderson y Anderson, 1978a; Motti y cols., 1986, 1987). Únicamente un 7,8% del total de artículos que aplican esta técnica al estudio de material humano se centran en la vascularización del encéfalo (Konerding, 1991). Destacan en este sentido los trabajos de Zimmer y cols., 1966; Duvernoy y cols., 1981, 1983; Stroinska-Kusiowa, 1981 y Maccotta y cols., 1989.

***Objetivos***

Los objetivos que nos hemos planteado a la hora de la realización del presente estudio han sido:

- 1.- Optimizar la técnica de los moldes de corrosión vascular y posterior estudio mediante microscopia electrónica de barrido, y la técnica de tinción histológica inmunocitoquímica del endotelio vascular, para su aplicación en el estudio de la vascularización del sistema nervioso central humano. Asimismo, introducir la técnica de inyección intravascular de resinas polimerizables mezcladas con fluorocromos y su estudio mediante microscopio láser confocal.
- 2.- Sistematizar la irrigación arterial de la corteza cerebral humana en los diferentes territorios corticales dependientes de las arterias cerebrales anterior, media y posterior.
- 3.- Objetivar la presencia de estructuras anatómicas adyacentes a la superficie de los moldes vasculares que pueden estar relacionadas con el mecanismo de autorregulación del flujo sanguíneo cerebral. Asimismo, correlacionar las imágenes de microscopia electrónica de barrido de estas estructuras con las imágenes que se obtienen al microscopio láser confocal, mediante la tinción histológica del endotelio vascular y la inyección de fluorocromos en el lecho vascular.

## *Material y métodos*

## **1.- MATERIAL.**

Para la realización del presente estudio se han utilizado un total de veinte encéfalos pertenecientes a sujetos adultos, de edades comprendidas entre los 25 y los 75 años, procedentes del Instituto Anatómico Forense de Barcelona, gracias a la colaboración del Médico Forense Titular, Dr. F. Javier González Oliván.

En todos los sujetos se valoró la causa de muerte y el periodo de tiempo postmortem (Konerding, 1991). Los casos en que se conocía o se detectaba algún tipo de patología cerebrovascular que pudiera interferir en la aplicación de las técnicas de estudio, así como los sujetos con periodo de tiempo postmortem superior a 18 horas, fueron excluidos del estudio.

## **2.- TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS.**

El primer paso fue la extracción del encéfalo, que se efectuó en la sala de necropsias del Instituto Anatómico Forense de Barcelona, con la tutela del médico-forense titular Dr. F.J. González Oliván, y siguiendo el protocolo médico-legal tanatológico habitual.

En posición de decúbito supino se procedía a la apertura de la cavidad craneal mediante craniotomía transversal y separación de la calota. A continuación, previa sección de la duramadre, se realizaba la extracción completa del encéfalo, mediante sección de los diferentes pares craneales a nivel de su origen aparente, sección del tronco del encéfalo, a nivel bulbo-espinal, y sección de las arterias carótidas internas y vertebrales.

### **3.- TÉCNICAS EMPLEADAS EN EL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.**

En la Unidad de Anatomía y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, las muestras obtenidas eran procesadas según uno de los siguientes procedimientos:

- Técnica de inyección intravascular de resinas polimerizables, corrosión y observación mediante microscopia electrónica de barrido.
- Técnica de inyección intravascular de látex natural, y observación mesoscópica mediante microscopio quirúrgico.
- Técnica de inyección intravascular de Mercocox® y naranja de acridina, y observación mediante microscopio láser confocal.
- Tinción inmunocitoquímica del endotelio vascular, y observación mediante microscopio láser confocal.

En algunos casos, sobre un mismo espécimen se empleó más de una de las metodologías señaladas anteriormente, con el objeto de rentabilizar al máximo las muestras obtenidas, y poder corroborar resultados con dos técnicas diferentes. El número de especímenes utilizados, y el tipo de procesamiento que se realizó en cada caso se exponen en la Tabla 1.

Técnica de estudio	I + SEM	I +OM	I +MLC	ICQ + MLC
Nº casos	12	5	3	2

Tabla 1.- Número de encéfalos procesados total o parcialmente en cada una de las técnicas. I: inyección intravascular; SEM: microscopio electrónico de barrido; MLC: microscopio láser confocal; ICQ: tinción inmunocitoquímica; OM: observación mesoscópica.

### 3.1.- TÉCNICA DE INYECCIÓN INTRAVASCULAR DE RESINAS POLIMERIZABLES Y POSTERIOR CORROSIÓN.

Doce encéfalos fueron procesados según la técnica de inyección intravascular, corrosión y posterior estudio del árbol vascular mediante microscopio electrónico de barrido. El procedimiento técnico fue siempre el mismo, independientemente del territorio vascular escogido o de la sustancia inyectada.

#### 3.1.1.- Disección y canulación de los vasos.

Mediante la ayuda de un microscopio quirúrgico (OPMI-1, Zeiss) se procedía, bien a la disección de los troncos principales de las arterias cerebrales, o bien a la microdisección de dos o tres colaterales de cada una de dichas arterias en ambos hemisferios cerebrales.

Una vez liberados de la piamadre, se procedía a su canulación mediante angiocatéteres (Abbocath-T), cuyo calibre dependía del diámetro del vaso. Con la ayuda de unas pinzas no traumáticas y unas tijeras de microdisección, se practicaba



una pequeña incisión en la pared del vaso, a través de la cuál se deslizaba la cánula en su luz. A continuación se fijaba la cánula mediante ligadura mecánica con seda 3/0.

### **3.1.2.- Inyección.**

Una vez fijadas las diferentes cánulas se procedía a la inyección intravascular de la resina polimerizable, Mercocox<sup>®</sup> Cl-2B, mediante jeringas de 10 o 20 cc y bajo presión manual constante.

Mercocox<sup>®</sup> Cl-2B es una resina plástica polimerizable distribuída por Vilene Company (Japón) e importada de los Estados Unidos a través de Ladd Research Industries Inc. (Burlington, U.S.A.). Esta resina es la más utilizada en los estudios de moldes de corrosión vascular. Tiene un porcentaje de retracción inferior al 5% (Hodde, 1984), y aproximadamente del 8% según Weiger y cols. (1986). Este bajo poder de retracción se combina con una viscosidad de 27 cp, lo que representa una viscosidad 30 veces superior a la del agua y 10 veces superior a la de la sangre (Schraufnagel, 1987).

En la mayoría de los casos se utilizó su presentación comercial (Resina Mercocox Blue Cl-2B) sin diluir. Sólo en un caso fue diluida previamente en un 25% con metilmetacrilato (Tabla 2), dilución que algunos autores señalan que disminuye su viscosidad (Weiger y cols., 1984). Como endurecedor se utilizó benzoyl-peróxido al 1,5%.

Con la resina Mercocox<sup>®</sup> Cl-2B disponemos de un tiempo de trabajo de 6

minutos a temperatura ambiente, antes de que se inicie el proceso de polimerización.

En uno de los casos se realizó la inyección de Araldit® (Ciba-Geigy, Barcelona)<sup>1</sup>. La araldita ha sido también utilizada como medio de inyección en estudios de vascularización, mediante corrosión y observación del molde con microscopia electrónica (Van der Zwan y Hillen, 1990; Rodríguez-Baeza y cols., 1995). La viscosidad de la araldita es de 1,5 veces la de la sangre, y su poder de retracción del 4%.

El epóxido Araldit (CY 223) se preparó sobre platina caliente, mezclándolo con colorante (DW 0135), no superando éste último la proporción del 10% de la composición final. Como endurecedor se utilizó la poliamina HY 2967 en una proporción del 45%.

En ambos casos, la inyección se consideraba finalizada cuando el territorio vascular dependiente de la arteria canulada adquiría la coloración de la resina, y sus finas ramificaciones quedaban inyectadas desde el punto de vista macroscópico. Por término medio se inyectaban 10 cc en cada una de las arterias canuladas. En ningún caso se realizaron lavados del lecho vascular o fijaciones previos a la inyección, con objeto de evitar posibles lesiones vasculares del territorio seleccionado.

### **3.1.3.- Corrosión.**

Finalizada la polimerización de la resina inyectada (2 horas después de la

---

<sup>1</sup>Resinas donadas por Ciba-Geigy.

inyección a temperatura ambiente), los hemisferios cerebrales eran introducidos en un baño de agua destilada a 40°C, donde se mantenían durante toda la noche. Al día siguiente se fragmentaban para extraer aquellas áreas con una mejor replección del árbol vascular. El nivel de llenado vascular era valorado por la coloración que mostraba desde el punto de vista macroscópico, así como por su endurecimiento.

Las muestras eran introducidas en una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 5% y a una temperatura de 40°C, donde se mantenían por un periodo de tiempo no superior a las 8 horas, con objeto de evitar la formación de productos insolubles o de difícil corrosión (Sims y Albrecht, 1993).

Tras este primer paso, las muestras pasaban a un baño de KOH al 1% que se renovaba cada 24 horas. El proceso de corrosión se completaba en un periodo de 15 a 30 días, en función del tamaño de la muestra y de la calidad del llenado vascular.

#### **3.1.4.- Montaje de las muestras.**

Una vez finalizado el proceso de corrosión se realizaban varios lavados de las muestras con agua destilada, introduciéndose posteriormente en solución acuosa de hipoclorito sódico al 20% durante 24 horas, con objeto de eliminar todo resto orgánico (Gaudio y cols., 1973). Finalmente, previamente al montaje de las muestras se realizaban varios baños en agua destilada.

Bajo microscopio quirúrgico (OPMI-1, Zeiss), y con la ayuda de pinzas y tijeras de microdisección, se extraían muestras de las diferentes áreas inyectadas.

Estos moldes vasculares de corrosión eran puestos a desecar durante 24 horas en campana de vidrio con gel de sílice.

El montaje de los moldes se realizaba sobre soportes metálicos utilizando cinta adhesiva conductora.

### **3.1.5.- Metalizado y observación.**

Una vez montadas, las muestras eran metalizadas mediante baño de oro (6-7 kv a 10-12 mA durante 7-10 minutos) con objeto de hacer conductores los moldes.

Finalizado el proceso de metalización se procedía a la observación de las muestras en el Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad Autónoma de Barcelona, mediante microscopio electrónico de barrido (Hitachi S-570) y trabajando a una aceleración de voltaje de 5 a 10kv.

En la Tabla 2 se exponen los casos que fueron procesados mediante inyección intravascular, corrosión y estudio con microscopio electrónico de barrido.

Ref.	Material inyectado	MTMC al 25%	Arteria	Ref. soportes	Nº muestras
1	Araldit®	No	ACA AB	1 -10 11 - 20	10 10
2	Mercox®	Si	IT	1 - 12	12
3	Mercox®	No	ACP ACP (h) ACM (nb) ACA	1 - 12 25 - 28 13 - 24 29 - 40	12 4 12 12
4	Mercox®	No	ACA (I) ACP (I) ACM (I) ACA (D)	31 - 38 1 - 15 16 - 30 39 - 50	8 15 15 12
5	Mercox®	No	ACA (D) ACM (D)	1 - 15 16 - 24	15 9
6	M/NA 9:1 M/NA 1:1 M/NA 5:1	No No No	ACA ACM ACP	1 - 4 5 - 8 9 - 12	4 4 4
7	M/NA 9:1	No	ACA ACP	1 - 22 23 - 24	22 2
11	M/NA 0,1%	No	ACA ACP	9 - 14 1 - 8	6 8
12	Mercox®	No	ACA (D) ACP (D) ACA (I) ACM (I)	1 - 6 7 - 8 9 - 12 13 - 16	6 2 4 4
13	Mercox®	No	ACA (D) ACM (D) ACP (D) ACA (I) ACM (I) ACP (I)	1 - 4 5 - 8 9 - 12 13 - 18 19 - 20 21 - 24	4 4 4 6 2 4
14	Mercox®	No	ACA (D) ACP (D) ACM (I)	1 - 4 5 - 8 9 - 12	4 4 4
16	Mercox®	No	ACA (D) ACP (D)	1 - 6 7 - 12	6 6

Tabla 2.- Relación de los casos que fueron procesados según la técnica de inyección de resinas polimerizables, corrosión y observación mediante microscopio electrónico de barrido. En los casos 6, 7 y 11 se inyectó una mezcla de Mercocox® con naranja de acridina (M/NA). AB: arteria basilar; ACA: arteria cerebral anterior; ACM: arteria cerebral media; ACP: arteria cerebral posterior; D: hemisferio derecho; I: hemisferio izquierdo; IT: inyección total; h: hipocampo; nb: núcleos de la base.

### **3.1.6.- Valoración de la calidad de los moldes de corrosión vascular.**

Siguiendo los criterios de Christofferson y Nilsson (1988), la valoración de la calidad de los moldes de corrosión se realizó en función de dos parámetros: el grado de llenado vascular, y la presencia de impresiones sobre la superficie del molde, producidas por los núcleos de las células endoteliales. La replección vascular incompleta se caracteriza por una abundancia de terminaciones ciegas de morfología característica, con ausencia de impresiones nucleares en su superficie.

### **3.1.7.- Identificación de los diferentes segmentos vasculares.**

Los moldes de corrosión vascular de vasos arteriales y venosos presentan en su superficie impresiones nucleares y patrones de división característicos que permiten diferenciarlos.

Las impresiones nucleares que se observan en los moldes correspondientes a vasos arteriales son de forma ovoide o elíptica alargadas, estando su eje mayor dispuesto de forma paralela al eje longitudinal del vaso. Ocasionalmente se puede observar una polaridad en estas impresiones nucleares: el extremo agudo del ovoide es distal, mientras que la zona redondeada es proximal (Ohtani y Murakami, 1992). El patrón de división arterial puede ser simétrico y asimétrico.

A nivel capilar, la superficie de los moldes muestra impresiones nucleares ovoidales, así como impresiones lineales que se corresponden con los límites de las células endoteliales. En el extremo arterial de los capilares las impresiones nucleares son alargadas, mientras que en los capilares venosos son redondeadas.

La superficie de los moldes correspondientes a venas muestra impresiones nucleares poco profundas, redondeadas y distribuidas aleatoriamente con respecto al eje del vaso. El patrón de ramificación de las venas es casi siempre asimétrico (Ohtani y Murakami, 1992).

La relación existente entre el diámetro mayor (D) y el diámetro menor (d) de las impresiones nucleares es también característica a nivel arterial y venoso. En los moldes de arterias esta relación es superior a 2.9, mientras que a nivel venoso la relación es inferior a 2.0 (Christofferson y Nilsson, 1988; Lametschwandtner y Lametschwandtner, 1992).

De acuerdo con los trabajos de microscopia óptica y electrónica realizados por Rhodin (1967), los diferentes segmentos del lecho microvascular arterial se definen como sigue:

- Arteriolas: pequeñas arterias cuyo diámetro interno oscila entre 50 y 100 $\mu$ . En su pared presentan una media con más de una capa de células musculares lisas.
- Arteriola terminal: vaso de calibre interno inferior a las 50 $\mu$ , que presenta en su pared una única capa de células musculares lisas.
- Capilares: vasos de diámetro uniforme formados por una capa simple de células endoteliales y pericitos. Su diámetro oscila entre las 4 y las 10 $\mu$ .

### **3.1.8.- Artefactos de los moldes de corrosión vascular.**

Los artefactos que con más frecuencia se observan en los moldes de corrosión vascular son la corrosión incompleta del tejido, el llenado vascular incompleto que se manifiesta en forma de terminaciones ciegas de morfología característica (Christofferson y Nilsson, 1988), y las extravasaciones de la resina, que presentan formas irregulares sin impresiones nucleares en su superficie (Ohtani y Murakami, 1992).

### **3.2.- TÉCNICA DE INYECCIÓN INTRAVASCULAR DE LÁTEX NATURAL Y OBSERVACIÓN MESOSCÓPICA.**

Con el objetivo de estudiar la distribución de las arterias cerebrales en la superficie de los hemisferios, cuatro encéfalos fueron procesados según la técnica de inyección intravascular de látex natural y estudio mesoscópico mediante microscopio quirúrgico (OPMI-1, Zeiss). Además, en un caso se llevó a cabo la técnica de inyección de Araldit® y corrosión del tejido, para su posterior observación mesoscópica (Tabla 3).

El proceso de disección y canulación de las arterias cerebrales fue el mismo que el empleado para la técnica de inyección intravascular y observación mediante microscopio electrónico de barrido.

Una vez canulados los vasos, se procedía a la inyección de látex natural bajo presión manual constante. El látex natural es un líquido de color blanco opaco, que



presenta una concentración de caucho (cis 1-4 polisopreno) del 32 al 40%, una densidad de 0,973 y una viscosidad de 40 a 120 cp. Las partículas de caucho tienen un tamaño medio de 1-2 $\mu$ , lo que les da una buena capacidad de penetración en el lecho vascular, aunque menor que la que se obtiene con Mercocox®.

Referencia	Material inyectado	Territorio vascular
15	Látex	Inyección total
16	Látex	Hemisferio izquierdo
17	Látex	Inyección total
18	Araldit®	Inyección total
19	Látex	Inyección total
20	Látex	Inyección total

Tabla 3.- Relación de los casos que fueron procesados según la técnica de inyección intravascular y estudio mesoscópico.

Para evitar la fermentación del látex natural, se mezcla con una solución de hidróxido de amonio (NH<sub>3</sub>OH) al 0,7-1,5%. En estas condiciones el pH del látex natural oscila entre 10,3 y 10,4. Previamente a la inyección se coloreaba la mezcla con colorante verde de la gama Unispers (Ciba-Geigy S.A.)<sup>2</sup>.

Tras la inyección, el encéfalo se introducía en solución fijadora de formaldehído al 10%. La fijación mediante formaldehído no sólo preserva el tejido, sino que además facilita la precipitación de la suspensión coloidal látex natural-hidróxido de amonio y su polimerización. La fijación se llevó a cabo durante un

<sup>2</sup>Donado por Ciba-Geigy.

periodo de 15 días, realizándose posteriormente la disección con ayuda del microscopio quirúrgico.

En un caso (18) se utilizó como resina el Araldit®. En este caso, tras la inyección, el encéfalo se introdujo en solución de KOH para iniciar el proceso de corrosión (ver apartado 3.1.3). El epóxido Araldit CY 223 se preparó sobre platina caliente, mezclándolo con colorante rojo (DW0133). Como endurecedor se utilizó la poliamina HY 2967.

### **3.3.- TÉCNICA DE INYECCIÓN INTRAVASCULAR DE MERCOX® CON NARANJA DE ACRIDINA, Y ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIO LÁSER CONFOCAL.**

Tres encéfalos (Referencias 6, 7 y 8) fueron procesados con objeto de visualizar el lecho vascular capilar mediante microscopio láser confocal. Al igual que en los ejemplares del grupo anterior se procedió a la disección de los troncos principales de las cerebrales anterior, media y posterior, o de ramas colaterales de las mismas. Una vez canuladas, se inyectó bajo presión manual constante una mezcla de la resina Mercox® en su presentación comercial con naranja de acridina base (Sigma) al 0,1%, o bien en solución acuosa al 0,1% mezclados en las proporciones que se muestran en la Tabla 2 (Castenholz, 1995).

El naranja de acridina es un colorante vital metacromático y fluorescente. La fluorescencia de una sustancia es un fenómeno óptico por el cual una sustancia (fluorocromo) es capaz de absorber luz ultravioleta, o luz visible de corta longitud

de onda, y rápidamente emitirla en forma de luz visible de longitud de onda mayor (Kasten, 1981). Algunos fluorocromos tienen la capacidad de emitir en dos longitudes de onda diferentes, debido a su cambio de configuración química cuando interaccionan con diferentes estructuras celulares (fluorocromasia). La longitud de onda de excitación del naranja de acridina es de 490 nm, mientras que su longitud de onda de emisión es de 520 nm (color verde).

Debido a su capacidad de unirse de forma importante a los ácidos nucleicos, es un colorante con alto potencial mutágeno. Esta capacidad de unión, junto con su fluorocromasia, le han proporcionado la característica de ser un colorante vital, utilizado en algunas tinciones para diferenciar muerte celular (Kasten, 1981). La muerte celular conlleva la rotura de la membrana nuclear, lo que facilita la unión del naranja de acridina al ADN. Esta unión comporta la fluorocromasia del naranja de acridina, que pasa a emitir a una longitud de onda de 650 nm (rojo). Esta característica se mantiene también en el tejido fijado (Schümmelfeder y cols., 1957).

Finalizada la polimerización de la resina, se obtenían muestras de córtex cerebral de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, de aquellas áreas que presentaban una mejor replección del lecho vascular, valorado desde el punto de vista macroscópico. Las muestras se introducían en solución fijadora de formol neutro tamponado a 4°C.

Una vez fijada la muestra, se procedía a la obtención de cortes histológicos de 100 $\mu$  y montaje sobre portaobjetos excavado, utilizando un medio de montaje provisto de N-propil-galeato. Este componente tiene por objeto retrasar la extinción de la fluorescencia de la muestra.

En algunos cortes se realizó una contratinción histológica mediante eosina o azul de Evans. La eosina es un colorante fluorescente que tiene una longitud de onda de excitación de 565 nm, y una longitud de onda de emisión de 590 nm (color rojo). El azul de Evans es también un colorante fluorescente, cuya longitud de onda de excitación es de 490 nm, y emite a una longitud de onda de 590 nm.

El estudio de las muestras se realizó mediante el microscopio láser confocal (Leyca TCS 4D), perteneciente al Servicio de Microscopia Electrónica de la Universidad Autónoma de Barcelona.

La pauta de preparación de las soluciones y reactivos para el estudio mediante microscopio láser confocal fue la siguiente:

Solución fijadora: formol neutro tamponado

- Formaldehído 40 %	100 cc
- Fosfato bisódico anhidro	6,5 g
- Fosfato monosódico monohidrato	4 g
- Agua destilada	900 cc
- pH 7,2 - 7,4	

Naranja de acridina (según Yiu, 1985)

Solución A

Naranja de acridina (Sigma®)	0,5 g
Agua destilada	500 ml

Solución B

Ácido acético	5 ml
Agua destilada	500 ml

Mezclar ambas soluciones en proporción 1:1 para obtener una solución de pH 2,9-3,0.

Eosina

Eosina Y (Taab®)	1g
Agua destilada	100ml
Ácido acético	2-3 gotas

Azul de Evans

Azul de Evans (Sigma®) 0,5% en PBS*	1 ml
PBS*	4 ml

\* Tampón fosfato salino

Medio de montaje

Glicina	0,42 g
Hidróxido sódico	0,021 g
Cloruro sódico	0,51 g
Azida sódica	0,03 g
N-propil-galeato	5 g

Disolver las anteriores cantidades en 30 ml de agua destilada y añadir 70 ml de glicerol.

### **3.4.- TINCIÓN INMUNOCITOQUÍMICA DEL ENDOTELIO VASCULAR, Y OBSERVACIÓN MEDIANTE MICROSCOPIO LÁSER CONFOCAL.**

Dos encéfalos (referencias 9 y 10) fueron procesados con el objeto de estudiar mediante tinción inmunocitoquímica las células endoteliales del lecho capilar cortical. Con este objetivo se utilizaron cadáveres con un periodo de tiempo postmortem inferior a las 10 horas. Una vez extraído el encéfalo, se obtenían muestras de unos 2 cm<sup>3</sup> de diferentes regiones corticales tributarias de las arterias cerebrales anterior, media y posterior.

Las muestras se introducían en solución fijadora (PLP), que constaba de paraformaldehído al 2%, lisina 0,075 M y peryodato 0,1 M, en tampón fosfato 0,04 M y a un pH de 7,2. La muestra permanecía en esta solución durante 2 horas, a 4°C.

Una vez fijadas, las muestras eran introducidas en solución de sacarosa durante 2 horas a 4°C, realizándose dos cambios. Inmediatamente después se procedía a la congelación de las muestras por inmersión en nitrógeno líquido.

A continuación, se obtenían mediante criostato (Leitz Kryostat 1720) cortes histológicos entre 25 y 40  $\mu$ . Los cortes se montaban sobre portaobjetos tratados previamente con gelatina.

La pauta de preparación de las soluciones para la obtención de cortes destinados al estudio inmunocitoquímico, fue la siguiente:

Solución fijadora

\* Tampón fosfato 0,08 M

Solución A:

Hidrógenofosfato sódico heptahidratado	26,82 g
Agua destilada	500 ml

Solución B:

Dihidrógenofosfato sódico monohidratado	13,8 g
Agua destilada	500 ml

Ambas soluciones se mezclaban en una proporción de 180 ml de la solución A y 70 ml de la solución B, enrasando a 625 ml con agua destilada.

\* Paraformaldehído al 2% en tampón fosfato 0,04 M

Paraformaldehído	10 g
Hidróxido de sodio 1 N	5 ml
Agua destilada	250 ml

Disolver el paraformaldehído en 250 ml de tampón fosfato 0,08 M. Añadir el hidróxido de sodio 1 N en cantidad suficiente para que la solución sea transparente. Enrasar a 500 ml con agua destilada. De esta forma se obtenía una disolución final de paraformaldehído al 2% en tampón fosfato 0,04 M. Si era necesario se ajustaba el pH a 7,2.

Esta disolución debía realizarse sobre platina caliente (65°C), para despolimerizar y disolver el paraformaldehído.

A la solución de paraformaldehído se le añadía lisina y peryodato sódico en la cantidad que a continuación se indica, para obtener unas concentraciones respectivas de 0,075 M y 0,1 M.

Lisina	6,85 g
Peryodato	10,7 g

Solución de sacarosa

Sacarosa	150 g
Azida sódica	1 g
PBS	500 ml

Medio de montaje

Glicina	0,42 g
Hidróxido sódico	0,021 g
Cloruro sódico	0,51 g
Azida sódica	0,03 g
N-propil-galeato	5 g

Disolver las anteriores cantidades en 30 ml de agua destilada y añadir 70 ml de glicerol.

Para la tinción inmunocitoquímica de las células endoteliales se empleó el anticuerpo monoclonal contra endotelio humano MAS 336, clon EN4 (Sera-Lab®). Este anticuerpo es una inmunoglobulina del tipo Ig G1 obtenida en ratón, que se



une de forma específica a la superficie de la células endoteliales de todos los tipos de vasos en el hombre, incluyendo los de la microcirculación cerebral. Como anticuerpo secundario se utilizó una inmunoglobulina de cordero contra Ig G de ratón, unida a una molécula de biotina (Boehringer Mannheim®).

El revelado de la tinción se realizó mediante extra-avidina unida a isotiocianato de fluoresceína (FITC) -Sigma®, fluorocromo que tiene una longitud de onda de excitación de 490 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm (verde).

En algunas muestras se llevó a cabo una tinción de contraste del tejido con eosina o con azul de Evans. Este tipo de tinciones tenían por objeto contrastar las preparaciones y evitar o disminuir la autofluorescencia del tejido. Entre las tinciones de contraste para inmunofluorescencia, una de las más utilizadas es el azul de Evans. Este fluorocromo, cuando se excita a una longitud de onda de 490 nm (igual que la onda de excitación de la FITC), emite una fluorescencia de color rojo, que contrasta muy bien las preparaciones teñidas con FITC.

Después de diferentes ensayos en los tiempos de incubación y en las concentraciones tanto de los anticuerpos primario y secundario, como de los fluorocromos, el protocolo que se utilizó fue el siguiente:

1. Lavado con PBS\* : 3 x 5 min., temperatura ambiente.  
\* tampón fosfato salino
2. Bloqueo de las uniones inespecíficas con BSA\* 5% en PBS: 30 min. a temperatura ambiente.  
\* albúmina de suero bovino
3. Incubación con MAS 336 (1:3) en PBS/BSA al 0,5%: 60 min., 37°C.
4. Lavado con PBS: 3 x 5 min., temperatura ambiente.
5. Incubación con anticuerpo secundario + biotina (1:250) en PBS/BSA al 0,5%: 60 min., 37°C.
6. Lavado con PBS: 3x 5 min., temperatura ambiente.
7. Incubación con extra-avidina + FITC (1:25) en PBS/BSA al 0,5% : 60 min., 37°C.

### Controles

Aunque la utilización de anticuerpos monoclonales elimina potencialmente los problemas de inespecificidad, se utilizaron tres tipos de controles:

**Control negativo:** Control de la unión inespecífica del anticuerpo secundario y de la avidina-FITC. El protocolo utilizado fue el siguiente:

1. Incubación con anticuerpo secundario + biotina (1:250) en PBS/BSA al 0,5%: 60 min., 37°C.
2. Lavado con PBS: 3x 5 min., temperatura ambiente.
3. Incubación con extra-avidina + FITC (1:25) en PBS/BSA al 0,5% : 60 min., 37°C.

**Doble control negativo:** comprobación de la autofluorescencia de tejido.

La utilización de aldehídos en la fijación de tejidos para estudio inmunohistoquímico conlleva dos tipos de problemas. Por un lado son fijadores fuertes, en especial el glutaraldehído, que destruyen los lugares de unión de los anticuerpos. Por otro lado, provocan autofluorescencia en el tejido. La autofluorescencia del tejido puede disminuirse si se tratan las muestras con borohidrato sódico.

El protocolo utilizado para el la comprobación de la autofluorescencia del tejido fue el siguiente:

1. Lavados con PBS: 3 x 5 min., temperatura ambiente.
2. Montaje en medio con N-propil-galeato.

Paralelamente algunas muestras fueron tratadas, inmediatamente después de la fijación, con borohidrato sódico ( $\text{NaBH}_4$ ), con objeto de disminuir la autofluorescencia del tejido (Bacallao y cols., 1995).

$\text{NaBH}_4$ (Sigma)	1 mg
Tampón fosfato salino	1 ml

## ***Resultados***

## **1.- VASOS ARTERIALES DE SUPERFICIE DE LA CORTEZA CEREBRAL.**

El sistema arterial cortical procede de vasos que se encuentran habitualmente situados en el fondo de los surcos del cerebro, y que se ramifican en la superficie de las circunvoluciones de los hemisferios cerebrales. Estos vasos son ramas colaterales de las arterias cerebrales, las cuales se originan en el polígono de Willis (*circulus arteriosus cerebri*) (Fig.1). En todos los casos este círculo arterial estaba constituido por la arteria comunicante anterior, el segmento precomunicante de las arterias cerebrales anteriores, las arterias comunicantes posteriores y el segmento precomunicante de las arterias cerebrales posteriores. En un caso observamos una asimetría de calibre entre las arterias comunicantes posteriores, con un predominio del lado izquierdo (Fig.1).

### **1.1.- ARTERIAS CEREBRALES.**

#### **1.1.1.- Arteria cerebral anterior.**

La arteria cerebral anterior se originaba en todos los casos como rama de división terminal de la arteria carótida interna. Tras su origen se dirigía hacia delante y medialmente, situándose en la cisura interhemisférica, a cuyo nivel se unía con la arteria cerebral anterior contralateral, a través de la arteria comunicante anterior (Fig.1). El diámetro medio de la arteria cerebral anterior era de 2,5 mm, oscilando entre 2,2 mm y 2,8 mm.

En todos los casos, el segmento postcomunicante de la arteria cerebral anterior seguía un trayecto inicial ascendente y luego posterior, a lo largo del surco del cuerpo calloso como arteria pericallosa (Fig.2). A partir de este segmento se originaba la arteria callosomarginal, que estaba presente en dos casos (16I, 18). En ambos casos, de la arteria callosomarginal se desprendían las arterias frontales internas anteromedial, mediomedial y posteromedial, así como la arteria paracentral.

La arteria frontobasal media y la arteria frontopolar se originaban a partir de un tronco común en tres casos (15I, 16I, 18) (Fig. 2). Dicho tronco nacía del segmento postcomunicante de la arteria cerebral anterior, a una distancia media de 12 mm distal al origen de la arteria comunicante anterior. A partir de este tronco común, cuando estaba presente, o bien a partir del segmento de la arteria pericallosa previo al origen de la arteria frontobasal media, se originaban perpendicularmente dos o tres colaterales que se distribuían en la parte posterior de la cara orbitaria del lóbulo frontal (Fig.3).

En dos casos (15I, 18) las arterias frontales internas anteromedial y mediomedial se originaban como ramas de división de un tronco común, que en uno de los casos (15I) nacía de la arteria pericallosa por delante de la rodilla del cuerpo calloso, y en otro (18) a partir de la arteria callosomarginal (Fig.2).

En un caso (15D), las arterias frontal interna posteromedial y paracentral se originaban a partir de un tronco común, procedente de la arteria pericallosa.

En todos los casos estudiados, las arterias precuneales superior e inferior se originaban a partir de la arteria pericallosa. La presencia de una arteria pericallosa

posterior se observó en un solo caso (15I) (Fig.2).

### **1.1.2.- Arteria cerebral media.**

La arteria cerebral media se originaba en todos los casos como rama de división terminal de la arteria carótida interna (Figs.1 y 3). Su diámetro fue siempre superior al de la arteria cerebral anterior, con un calibre medio de 2,9 mm.

Tras su origen, la arteria cerebral media se dirigía lateralmente hacia la cisura lateral de Silvio (Fig.3). Se dividía en la superficie del lóbulo de la ínsula en dos o tres troncos secundarios (Fig.4), a partir de los cuales se originaban sus ramas colaterales corticales que se distribuyen en la cara convexa de los hemisferios cerebrales (Fig.5). Estas ramas se originaban a partir de troncos comunes situados en el opérculo frontal o temporal, o bien de forma independiente como ramas colaterales o terminales de los troncos secundarios. La presencia de estos troncos comunes operculares fue observada en los casos 15I y 15D, en forma de un tronco superior o frontal, y dos inferiores o temporales (Fig. 4). Del superior se originaba en un caso la arteria frontobasal lateral y la arteria prefrontal (15I), y en otro caso (15D) la arteria prefrontal, la arteria del surco precentral y la arteria del surco central. De los troncos inferiores se originaban las arterias temporooccipital y temporal posterior por un lado, y las arterias temporopolar y temporal anterior el otro.

### **1.1.3.- Arteria cerebral posterior.**

La arteria cerebral posterior se originaba en todos los casos como rama de

división terminal de la arteria basilar. Su calibre medio era de 2,65 mm, oscilando entre 2,5 y 2,8 mm. Tras su origen seguía un trayecto en dirección posterior alrededor de los pedúnculos cerebrales (Fig.1).

Después de un trayecto de 2 cm, la arteria cerebral posterior se bifurcaba de forma simétrica dando origen a sus dos ramas terminales: la arteria occipital medial y la arteria occipital lateral (Fig. 6). En el caso 16I, y a nivel de la división terminal de la arteria cerebral posterior, se originaba una colateral, de diámetro marcadamente inferior al de las arterias occipitales medial y lateral, que se dirigía hacia el polo occipital siguiendo el borde inferior de dicho lóbulo.

La arteria occipital medial seguía un trayecto posterior situándose en la cara medial del lóbulo occipital. En todos los casos, esta arteria se dividía en dos ramas terminales, la arteria parietooccipital y la arteria calcarina, que en el caso 15 I no alcanzaba la cara convexa del lóbulo occipital. Además, de la arteria parietooccipital se podía apreciar el origen de una arteria pericallosa posterior (Fig. 8) que compensaría el territorio de distribución de la arteria pericallosa procedente de la arteria cerebral anterior.

La arteria occipital lateral presentaba una mayor variabilidad. En el caso 15I, las arterias temporales inferiores anterior, media y posterior se originaban de forma independiente a partir de la arteria occipital lateral. En el caso 15D, dichas ramas nacían a partir de la trifurcación de un tronco común, de 1,7 mm de diámetro, que se originaba en el trayecto circunpeduncular de la arteria cerebral posterior (Fig. 7).

En el caso 16I, sólo la arteria temporal inferior posterior se originaba como



rama colateral de la arteria occipital lateral, mientras que las ramas anterior y media nacían del tronco principal de la arteria cerebral posterior, poco antes de su división terminal.

Las ramas terminales de la arteria occipital lateral (arterias temporales posteriores) eran variables. En el caso 15I, dichas ramas alcanzaban ampliamente el polo posterior y la cara convexa del lóbulo occipital. En el caso 15D, la arteria occipital lateral se dividía de forma asimétrica en dos ramas terminales. Una de mayor calibre, que se distribuía en la cara inferior del lóbulo occipital, y otra de diámetro inferior que se distribuía en la cara medial del lóbulo occipital, inmediatamente por debajo de la arteria calcarina. En el caso 16I, la rama terminal de la arteria occipital lateral era única y de gran calibre, y se distribuía ampliamente en la cara inferior del lóbulo occipital. En el caso 18, no fue posible el estudio completo de la arteria cerebral posterior por un problema de extravasación.

Figura 1. Visión de la cara basal del cerebro, previa inyección arterial de látex natural coloreado. Se observa la constitución del polígono arterial de Willis. 1- Quiasma óptico. 2-Tubérculos mamilares. 3-Tracto olfatorio. 4-Nervio motor ocular común. 5-Arteria carótida interna. 6-Arteria cerebral media. 7- Arteria cerebral anterior. 8-Arteria comunicante anterior. 9- Arteria comunicante posterior. 10-Arteria cerebral posterior.

Referencia 15C.

Figura 2. Visión de la cara medial del cerebro, previa inyección arterial de látex natural coloreado. Se observa el trayecto y la distribución de la arteria cerebral anterior. 1-Cuerpo calloso. 2-Fórnix. 3-Quiasma óptico. 4-Arteria cerebral anterior. 5-Arteria pericallosa. 6-Arteria frontobasal media. 7-Arteria frontopolar. 8-Arteria frontal interna ántero-medial. 9-Arteria frontal interna medio-medial. 10-Arteria frontal interna póstero-medial. 11-Arteria paracentral. 12-Arteria pericallosa posterior.

Referencia 15C.

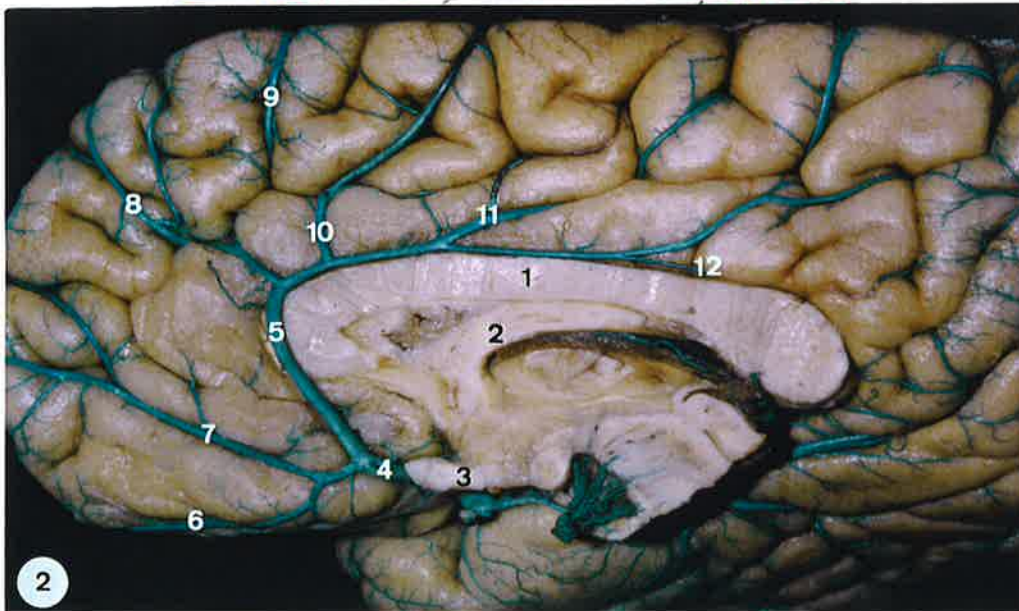
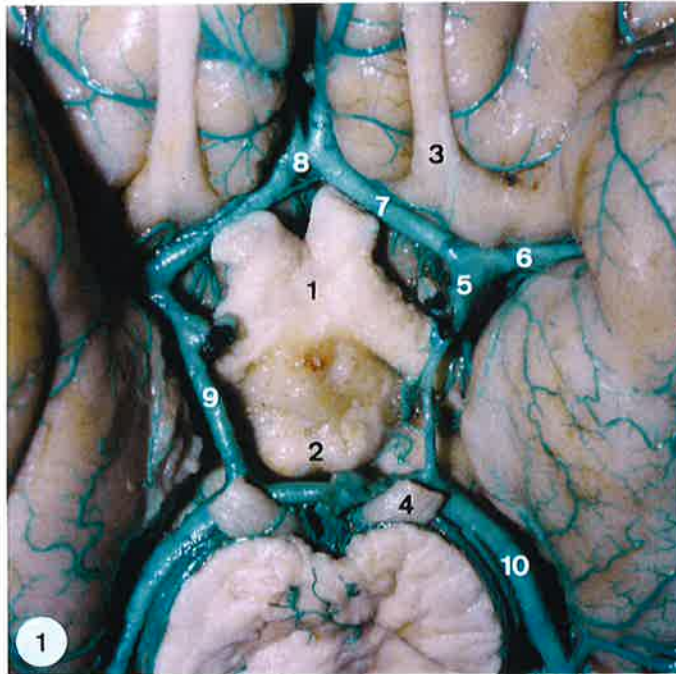


Figura 3. Visión de la cara basal de los lóbulos frontal y temporal izquierdos del cerebro, previa inyección arterial de látex coloreado. 1- Tracto olfatorio. 2-Cintilla óptica. 3-Uncus del lóbulo temporal. 4-Surcos orbitarios. 5-Nervio motor ocular común. 6-Arteria cerebral anterior (segmento precomunicante). 7-Arteria frontobasal media. 8-Ramos orbitarios de la arteria cerebral anterior. 9-Arteria cerebral media. 10-Arteria comunicante posterior. 11-Arteria cerebral posterior. \*Anastomosis superficiales entre ramas de las arterias cerebral media y posterior. Referencia 15C.

Figura 4. Visión del transfondo del lóbulo de la ínsula mediante la separación de los lóbulos frontal y temporal, para demostrar el trayecto y división de la arteria cerebral media, previa inyección arterial de látex natural coloreado. 1-Arteria carótida interna. 2-Arteria cerebral anterior (segmento precomunicante). 3-Arteria cerebral media (segmento insular). 4-Tronco de división superior o frontal. 5-Tronco de división inferior o temporal. 6-Arterias perforantes de la arteria cerebral media. Referencia 19C.

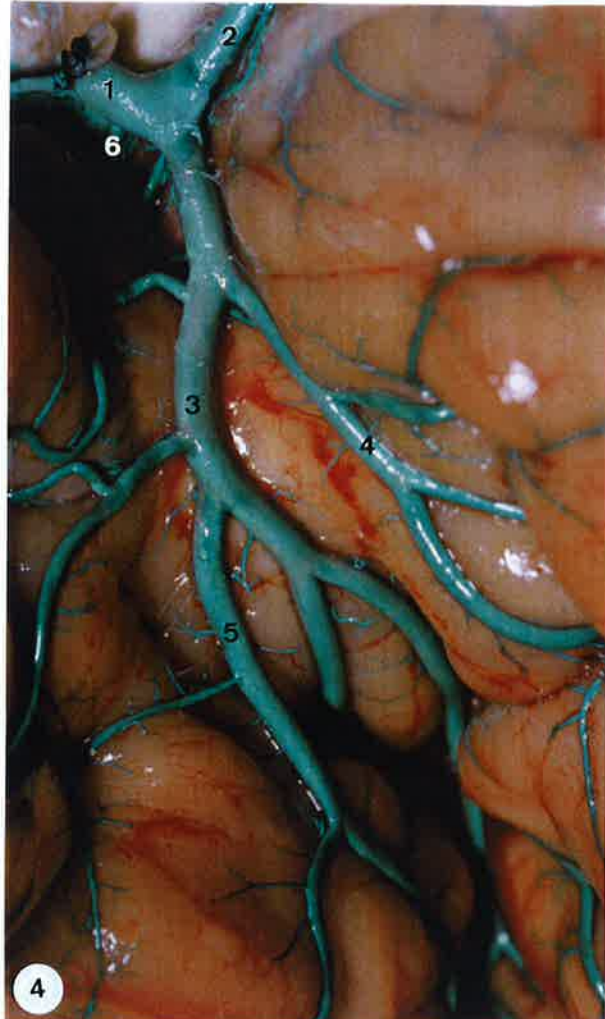
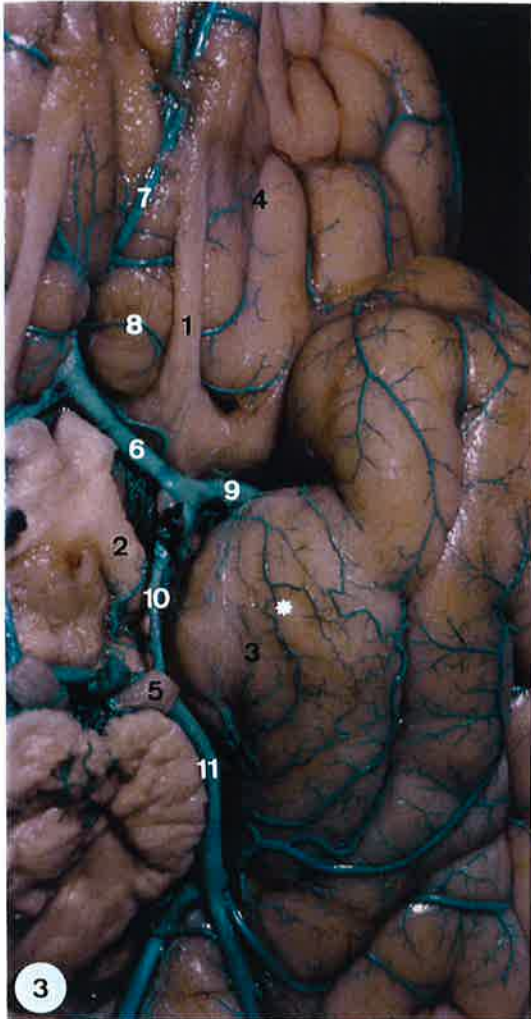


Figura 5. Visión de la cara convexa del hemisferio cerebral izquierdo para demostrar el territorio de distribución cortical de la arteria cerebral media, previa inyección arterial de látex natural coloreado. 1-Polo frontal. 2-Polo occipital. 3-Cisura lateral de Sylvio. 4-Cisura central de Rolando. 5-Arteria frontobasal lateral. 6-Arteria prefrontal. 7-Arteria del surco precentral. 8-Arteria del surco central. 9-Arteria tèmpero-occipital. 10- Arterias temporales.

Referencia 15C.

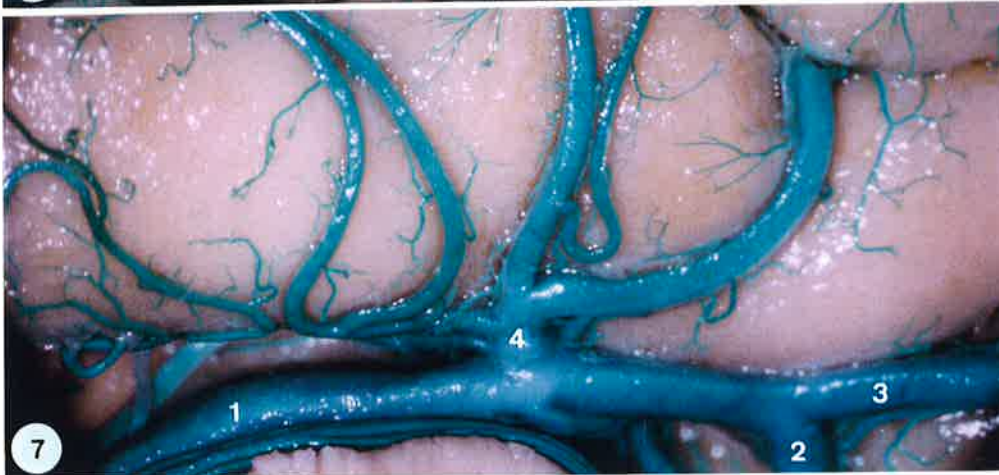
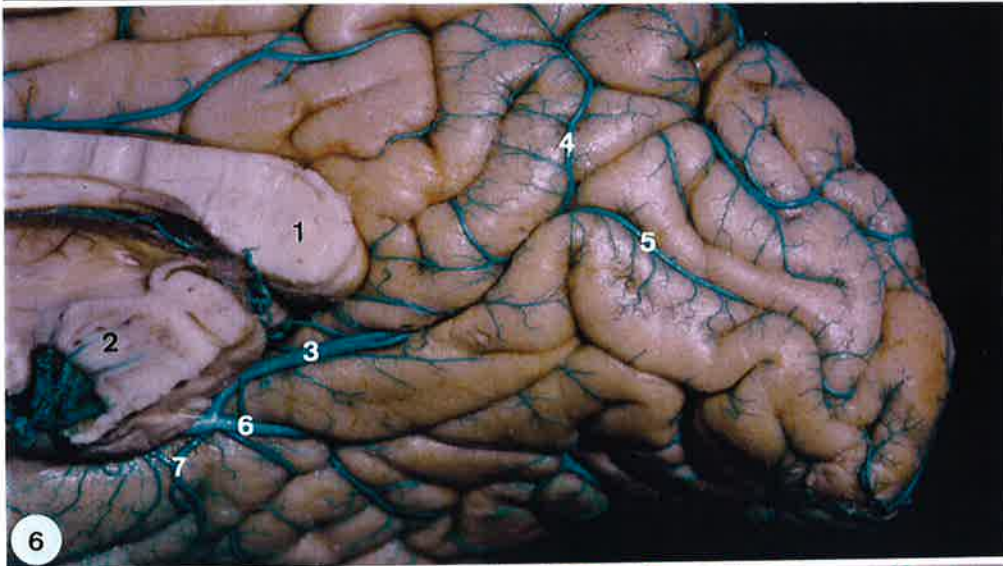
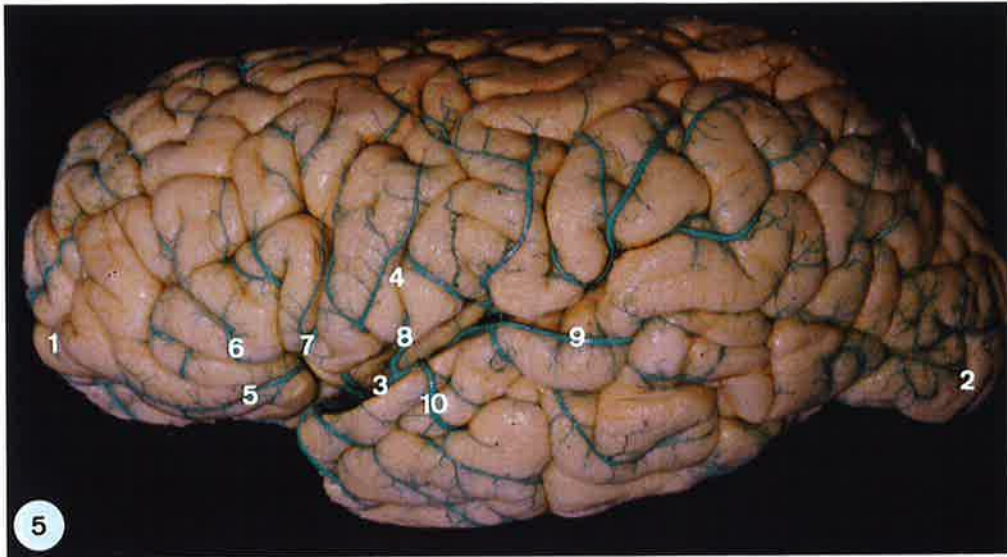
Figura 6. Visión de la cara medial de los lóbulos temporal y occipital del cerebro para demostrar la distribución de la arteria cerebral posterior, previa inyección arterial de látex natural coloreado. 1-Esplenio del cuerpo calloso. 2-Mesencéfalo. 3-Arteria occipital medial. 4-Arteria parieto-occipital. 5-Arteria calcarina. 6-Arteria occipital lateral. 7-Arterias temporales inferiores.

Referencia 15C.

Figura 7. Visión del trayecto circunpeduncular de la arteria cerebral posterior derecha, previa inyección arterial de látex natural coloreado. 1.- Arteria cerebral posterior. 2.- Arteria occipital medial. 3.- Arteria occipital lateral. 4.- Tronco común de origen de las arterias temporales inferiores.

Referencia 15C (12x).





## **2.- RED ARTERIAL PIAL.**

El tronco principal de las arterias cerebrales, así como sus ramas colaterales de distribución cortical, se encuentran situadas en el fondo de los surcos de la superficie de los hemisferios cerebrales (Fig. 8), profundamente a las venas superficiales de gran calibre. No obstante, a nivel del territorio distal de estos vasos, y de sus ramas colaterales de pequeño diámetro, hemos observado la presencia de vasos que cruzaban, de forma perpendicular u oblicua, la superficie de algunas circunvoluciones (Fig. 9). Estos vasos dan origen a ramas colaterales que forman una densa red de conducción que se extiende a lo largo del espacio subaracnoideo (red arterial pial). A partir de esta red se originan los vasos propiamente corticales, que atraviesan la piamadre y se introducen en el espesor de la corteza cerebral.

### **2.1.- SITUACIÓN, TRAYECTO Y CALIBRE DE LOS VASOS ARTERIALES DE LA RED PIAL.**

En el espacio subaracnoideo, las arterias piales de mayor calibre se encuentran situadas en el fondo de los surcos de la superficie cerebral (Fig. 10). Son ramas colaterales de las arterias cerebrales, cuyo diámetro oscila entre las 250 $\mu$  y las 500 $\mu$ , aunque hemos observado vasos de conducción que alcanzaban las 750 - 900 $\mu$ . De las caras laterales de estos vasos, o bien, de su cara inferior, en forma de origen oculto, se desprenden ramas colaterales de menor diámetro que ascienden hacia la convexidad de la superficie de las circunvoluciones. Estos vasos, cuyo calibre oscilaba entre las 150 $\mu$  y las 300 $\mu$ , ascienden por las caras laterales de las circunvoluciones hasta alcanzar su convexidad.



En la superficie de las circunvoluciones, estas arterias, que denominamos arterias centrales del gyrus, se caracterizaban por un trayecto convexo hacia la superficie y ligeramente sinuoso (Fig. 11), o bien con incurvaciones muy marcadas en ángulo recto. A lo largo de su recorrido presentaban divisiones de carácter dicotómico (Fig. 12).

En el resto de la superficie del gyrus hemos encontrado una red vascular arterial formada por vasos cuyo diámetro, que oscilaba entre las  $80\mu$  y las  $150\mu$ , disminuía progresivamente a medida que se alejaban de la arteria central del gyrus (Figs. 13, 14 y 19). Estos vasos eran colaterales de las arterias centrales de la circunvolución o de sus ramas de división dicotómica. El trayecto de estos vasos arteriales era variable, con predominio de los trayectos angulares de ángulos rectos u obtusos (Fig. 15), aunque también se observaban trayectos sinuosos o curvilíneos (Fig. 16). En ocasiones, estos vasos dibujaban arcos de convexidad superior situados en su territorio más distal, cuyas ramas colaterales y terminales acababan introduciéndose en la corteza cerebral (Fig. 17).

En la superficie de la circunvolución los vasos arteriales de mayor calibre (arteria central del gyrus) estaban situados superficialmente al resto de la red arterial pial, cuya disposición era tanto más profunda cuanto menor era su diámetro (Figs. 18 y 19).

## **2.2.- PATRONES DE DIVISIÓN DE LAS ARTERIAS DE LA RED PIAL.**

Las arterias centrales del gyrus y sus ramas colaterales, que en conjunto

denominaremos a partir de ahora arterias superficiales de primer orden, presentaban divisiones dicotómicas en ángulo agudo, con una disminución progresiva del diámetro de los vasos resultantes (Figs 12 y 14). Estas divisiones dibujaban una red vascular principal, que era la más superficial de la circunvolución (Figs. 14, 18 y 19).

A partir de la arteria central y de sus ramas de origen dicotómico salían vasos colaterales que discurrían por la superficie del gyrus, dispuestos profundamente a sus vasos de origen, y que llamaremos a partir de ahora arterias superficiales de segundo orden (Fig. 13). Estos vasos se originaban formando un ángulo agudo o un ángulo recto con el vaso principal (Fig. 20), presentando un trayecto angular o sinuoso que iba cubriendo a modo de red el resto de la superficie de la circunvolución (Fig. 21). Como se ha señalado anteriormente, el diámetro de los vasos de esta red era de 100-150 $\mu$ , siempre marcadamente inferior al del vaso de procedencia. A nivel de su origen en el vaso principal, estas ramas colaterales presentaban en ocasiones una constricción circular (Fig. 22), con una anchura de hasta 65 $\mu$ , y que podía reducir el diámetro de la luz vascular en un 25-30%.

A partir de la convexidad de sus ángulos o incurvaciones se originaban ramas colaterales (Fig.23), cuyo diámetro oscilaba entre las 60 $\mu$  y las 100 $\mu$ . Estos vasos, que denominaremos arterias superficiales de tercer orden, se disponían profundamente a los anteriores, y los hemos considerado como las ramas terminales de la red arterial pial (Fig. 24). El trayecto en superficie de estos vasos podía ser paralelo a la misma o ligeramente oblicuo hacia la profundidad, rectilíneo o bien formando arcos de convexidad superior (Fig.24).

Las ramas colaterales de las arterias superficiales de tercer orden nacían generalmente en ángulo agudo y en el mismo sentido que el vaso principal, desde sus caras laterales, o bien, en ángulo recto a partir de sus caras laterales o de su cara profunda (Fig. 24). En cualquier caso, estas colaterales finalizaban su trayecto incurvándose e introduciéndose en el espesor de la corteza cerebral, por lo que no son incluidas para su estudio dentro de este apartado de las arterias piales, sino que las hemos considerado como arterias propiamente corticales en su trayecto superficial.

### **2.3.- IMÁGENES DE CONSTRICCIONES Y ANILLOS PLÁSTICOS EN LOS MOLDES DE LAS ARTERIAS PIALES.**

En el trayecto de las arterias superficiales de segundo y tercer orden, hemos observado en ocasiones la presencia de constricciones en la superficie de los moldes vasculares. Estas constricciones se localizaban a nivel del origen de ramas colaterales, formando anillos completos o bandas de constricción (Figs. 25 y 26), y también a lo largo del trayecto de los vasos superficiales de forma aislada (Fig. 27), o bien formando agrupaciones de dos o tres constricciones separadas por sendas dilataciones del vaso, proporcionándole un aspecto arrosariado. Estas últimas imágenes eran más frecuentes en los vasos arteriales de tercer orden y en el trayecto inicial de sus colaterales, previamente a su penetración en el córtex (Fig. 28). En todos los casos en que hemos valorado como constricciones estas disminuciones del diámetro vascular, la superficie de los moldes estudiados mostraban imágenes de impresiones nucleares, como manifestación del nivel óptimo de su replección vascular.

De igual modo, en el trayecto distal de las arterias superficiales de tercer orden, y sobre todo en sus ramas colaterales y/o terminales, hemos observado ocasionalmente formaciones denominadas anillos plásticos (Fig. 28). Estas estructuras están anexas al molde de microcorrosión de la luz vascular, y se presentaban en forma de pequeñas agrupaciones, a menudo como anillos incompletos, situados en el trayecto superficial de estos vasos, poco antes de que se incurven para iniciar su recorrido intracortical. Relacionándose directamente con la presencia de estas estructuras plásticas, hemos podido observar en algunas ocasiones la presencia de constricciones del molde vascular (Fig. 28). Debemos destacar que en ningún caso observamos la presencia de este tipo de formaciones sobre los moldes vasculares correspondientes a arterias superficiales de primer orden, y solo ocasionalmente sobre los moldes correspondientes a arterias superficiales de segundo orden. El estudio detallado de estas estructuras se realiza en el apartado 4.2.

Figura 8. Visión de la cara interna de la región parietooccipital derecha, previa inyección arterial de látex natural coloreado, para mostrar la disposición de las arterias de la superficie de los hemisferios cerebrales. 1.- Esplenio del cuerpo calloso. 2.- Surco subparietal. 3.- Arteria pericallosa.

Referencia 15C (8x).

Figura 9. Visión de la cara basal del lóbulo frontal, previa inyección arterial de látex natural coloreado, para demostrar la disposición de las ramas colaterales de las arterias cerebrales en la superficie de los hemisferios cerebrales. 1.- Surcos orbitarios. 2.- Circunvoluciones orbitarias. 3.- Arteria frontobasal lateral.

Referencia 15C (12x).

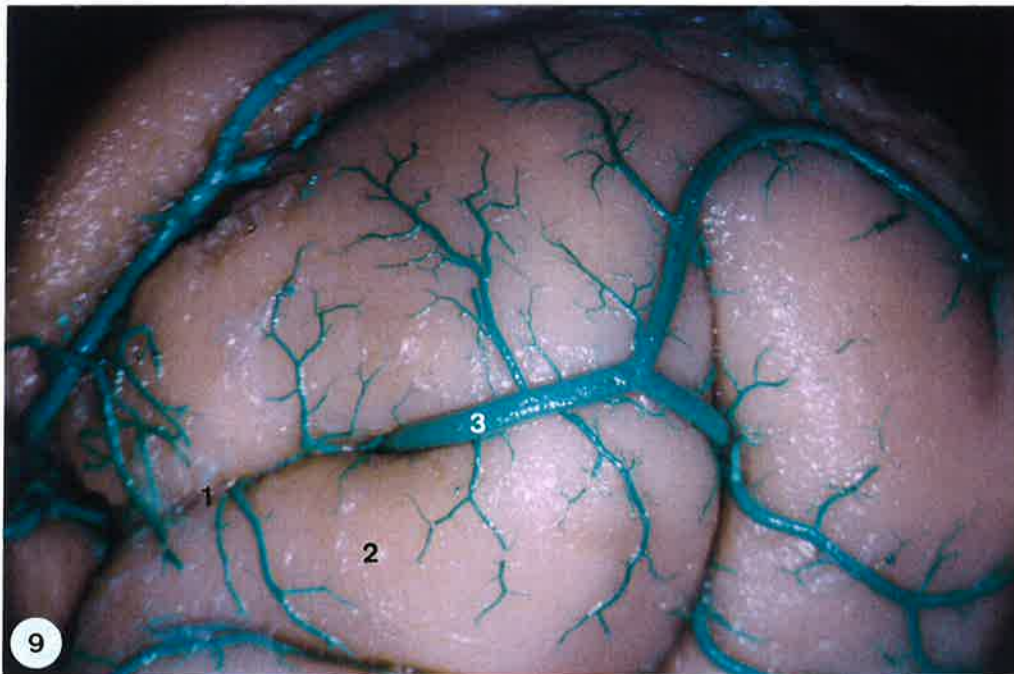


Figura 10. Molde de corrosión vascular previa inyección arterial de Mercocox®. Se demuestra la situación en la profundidad de un surco de una arteria pial de gran calibre (1).

Referencia 963192. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,75mm.

Figura 11. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se observa una arteria central del gyrus (1). El trayecto de la arteria es sinuoso en la superficie de la circunvolución.

Referencia 961214. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,6mm.

Figura 12. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa el trayecto de una arteria central del gyrus (1) y sus divisiones de carácter dicotómico (2). Estos vasos constituyen las arterias superficiales de primer orden.

Referencia 961470. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,43mm.

Figura 13. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se aprecia una arteria central del gyrus (1), que da ramas colaterales de menor diámetro que constituyen las arterias superficiales de segundo orden (2).

Referencia 961743. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,78mm.

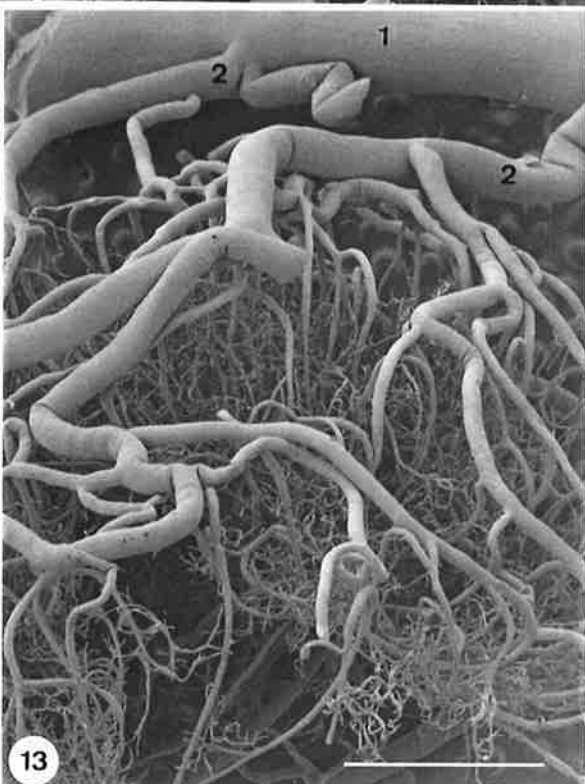
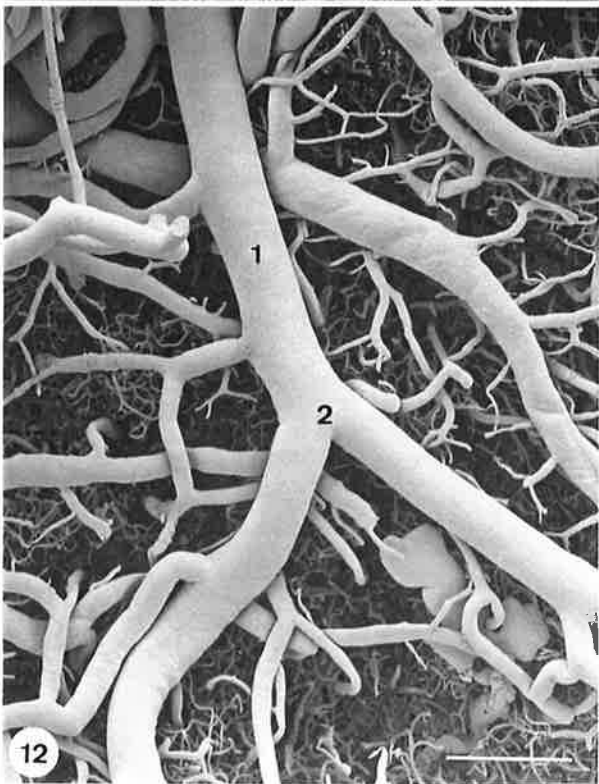
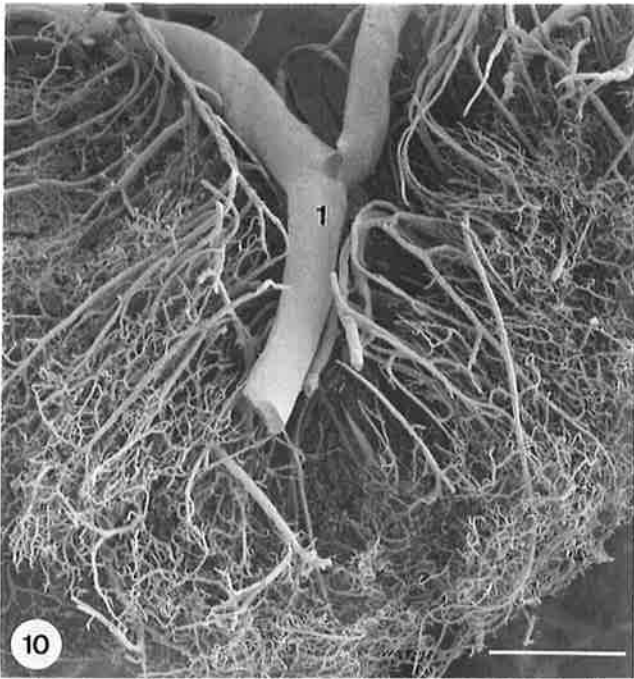




Figura 14. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, para demostrar la disposición de las arterias superficiales de primer orden (1). Estas arterias forman una red vascular principal que es la más superficial de la circunvolución.

Referencia 961175. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,9mm.

Figura 15. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se observa una arteria superficial de primer orden (1) con divisiones que adoptan trayectos angulares (2). Nótese la presencia de impresiones nucleares en la superficie del molde (3).

Referencia 960664. Región: a. cerebral posterior. Barra: 88μ.

Figura 16. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, para demostrar los trayectos sinuosos o curvilíneos de las arterias superficiales de primer orden (1).

Referencia 961401. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,6mm.

Figura 17. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se aprecian arterias superficiales de primer orden (1) que describen arcos de convexidad superior (2), de donde salen arterias perforantes (3).

Referencia 955861. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,3mm.

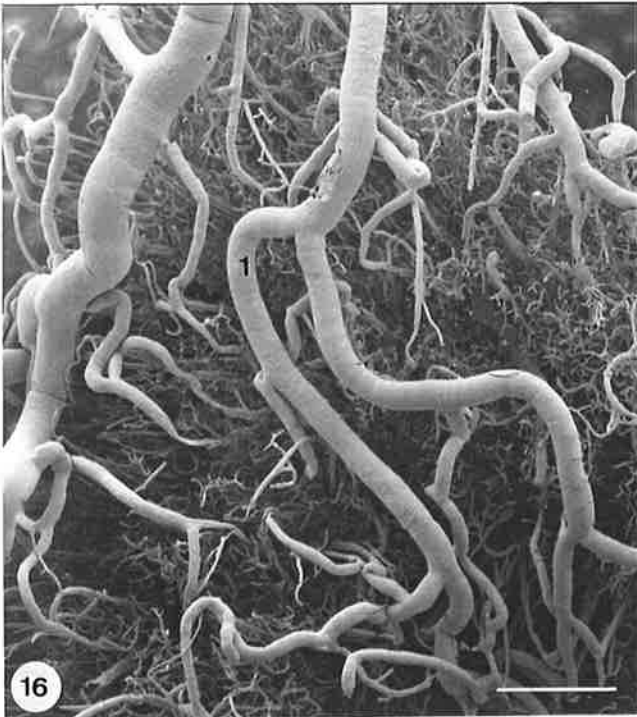
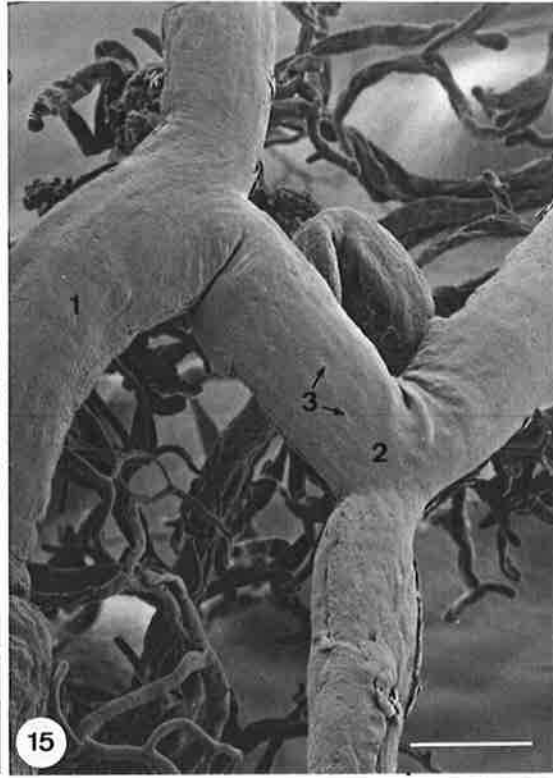


Figura 18. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Visión panorámica de la disposición de los vasos de la red pial. Se aprecia la disposición de la arteria central del gyrus (1) y de sus ramas colaterales (2), que constituyen en conjunto las arterias superficiales de primer orden.

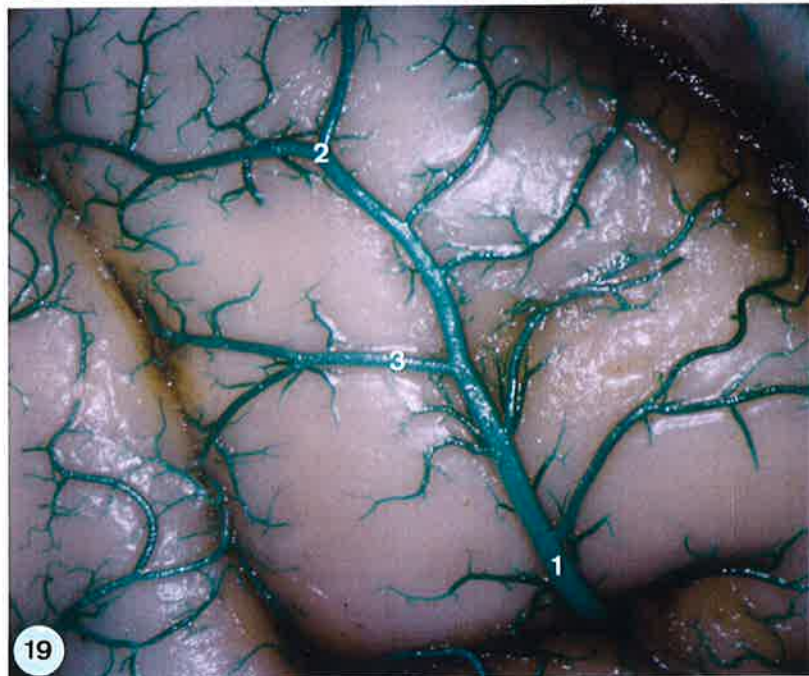
Referencia 961442. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,38mm.

Figura 19. Visión de la superficie de una circunvolución de la cara convexa del lóbulo frontal del cerebro, previa inyección arterial de látex natural coloreado. Se observa la arteria central del gyrus (1), con ramas de división dicotómica (2) y ramas colaterales (3). Esta red arterial, que constituye las arterias superficiales de primer orden, es la más superficial de la circunvolución.

Referencia 16C(12x).



18



19

Figura 20. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se aprecia el origen de una arteria superficial de segundo orden (1) a partir de una arteria superficial de primer orden (2). Se destaca el origen angular (3), así como la presencia de impresiones nucleares en la superficie del molde (4).

Referencia 950496. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,3mm.

Figura 21. Visión de una circunvolución de la cara convexa del lóbulo frontal del cerebro, previa inyección de látex natural coloreado. Se observa el origen y la distribución de las arterias superficiales de segundo orden (1). Estas arterias cubren a modo de red la superficie de la circunvolución. 2.- Arteria central del gyrus.

Referencia 16C (12x).



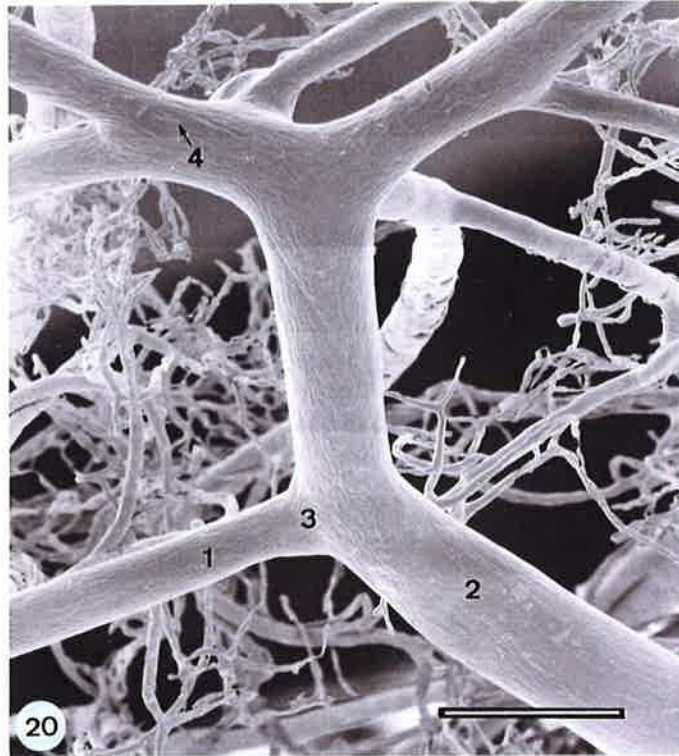


Figura 22. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Origen de una arteria superficial de segundo orden (1) a partir de una arteria superficial de primer orden (2), donde se observa una constricción circular (3). Nótese la presencia de impresiones nucleares en la superficie del molde vascular (4). Referencia 950522. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,25mm.

Figura 23. Visión de una circunvolución de la cara convexa del lóbulo temporal del cerebro, previa inyección arterial de látex natural coloreado. Se observan las arterias de la red pial, constituídas por arterias superficiales de primer orden (1), arterias superficiales de segundo orden (2) y arterias superficiales de tercer orden (3). Éstas últimas se originan de la convexidad de los ángulos o incurvaciones que describen en su trayecto las arterias de segundo orden (4).

Referencia 16C (12x).

Figura 24. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Visión panorámica de la red arterial pial, donde se observa la disposición profunda de las arterias superficiales de tercer orden (1). Se aprecia su origen a partir de arterias superficiales de segundo orden (2) y su trayecto paralelo a la superficie (3), o formando arcos de convexidad superior (4).

Referencia 961479. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,5mm.

---

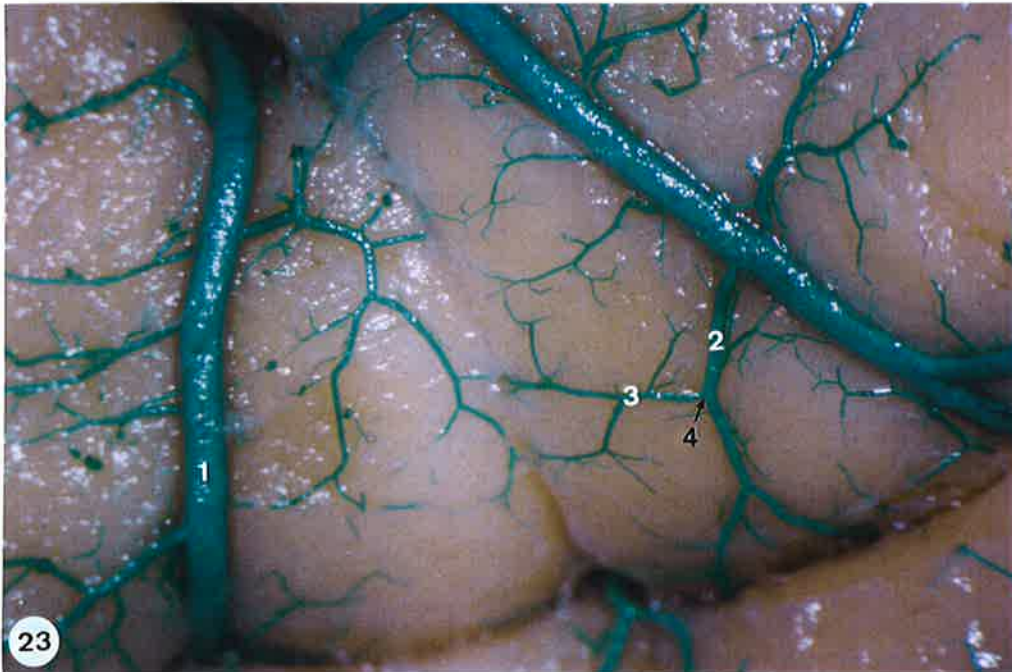
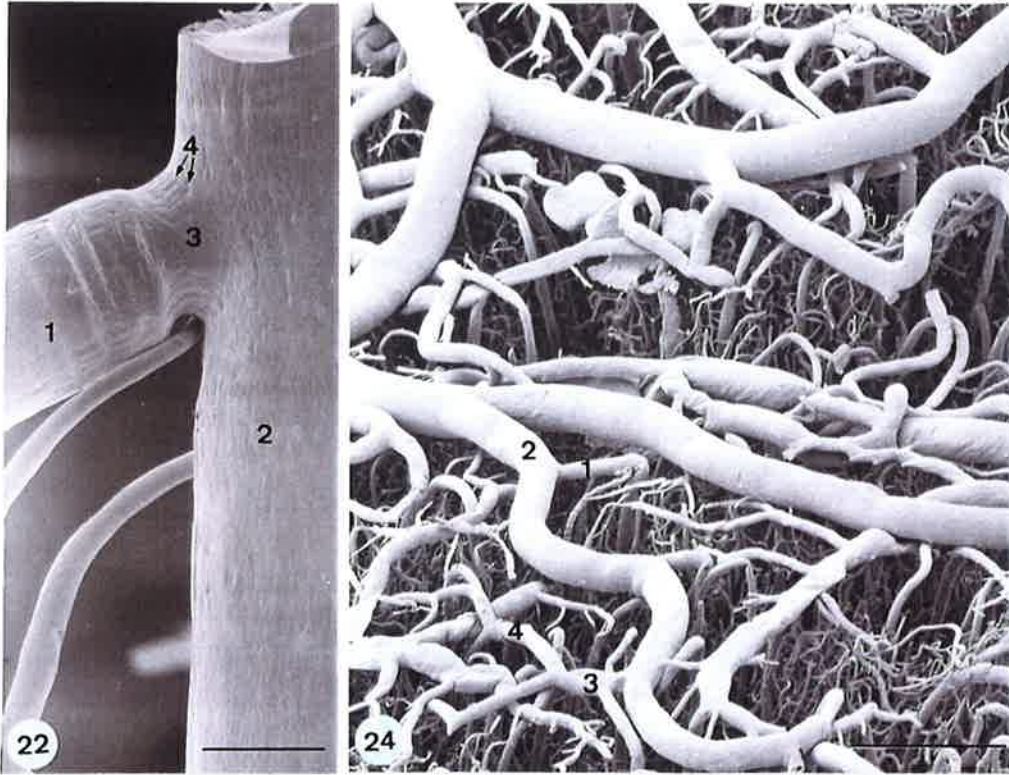




Figura 25. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se observa una banda de constricción (1) en el origen de una rama colateral de una arteria superficial de segundo orden (2). Nótese la presencia de impresiones nucleares en la superficie del molde (3).

Referencia 962056. Región: a. cerebral anterior. Barra: 50 $\mu$ .

Figura 26. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se aprecia una banda anular de constricción (1) localizada inmediatamente después del origen de una rama colateral de una arteria superficial de segundo orden (2). En el molde se marcan impresiones nucleares (3).

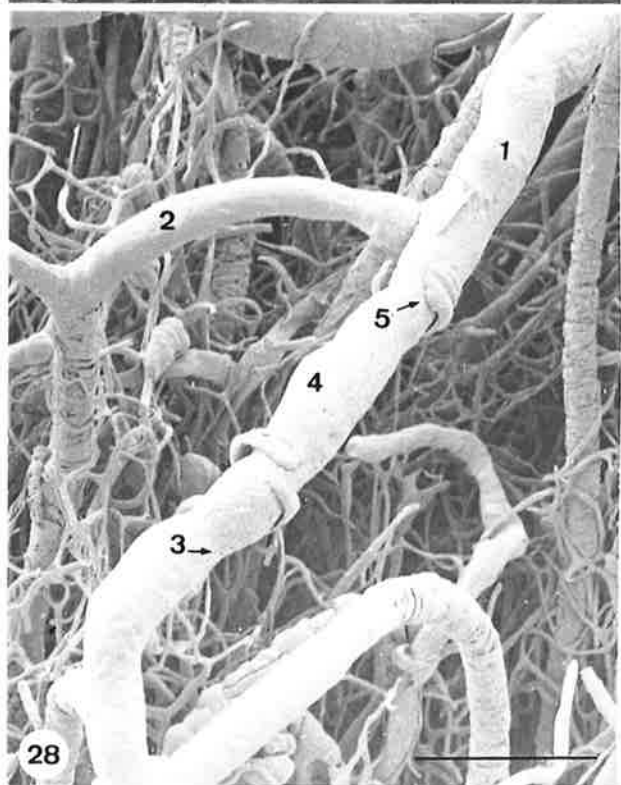
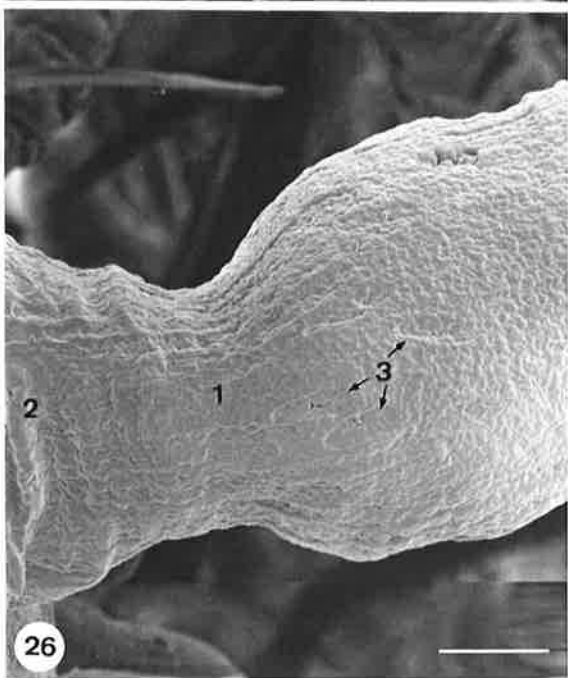
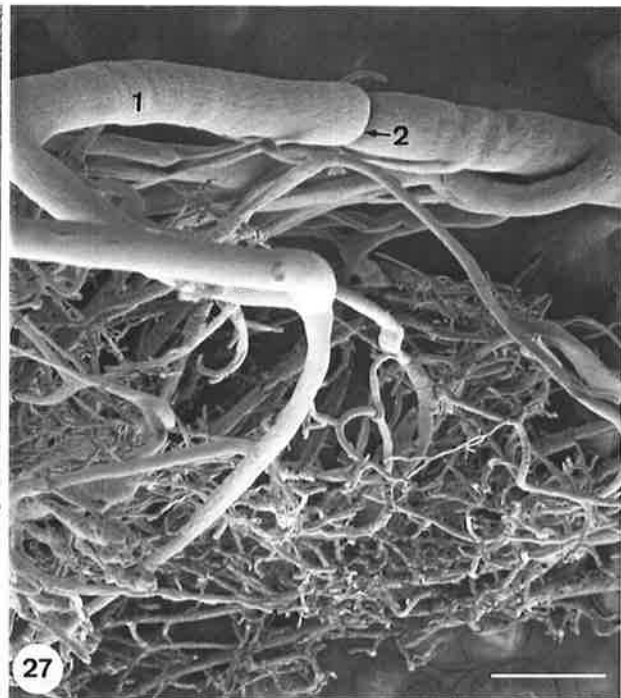
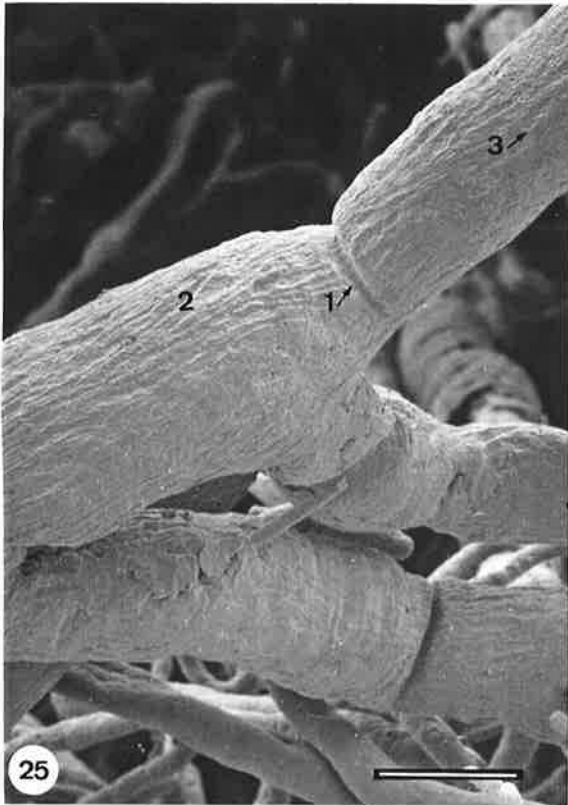
Referencia 962810. Región: a. cerebral anterior. Barra: 25 $\mu$ .

Figura 27. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox® de arterias superficiales de tercer orden (1). Se observan constricciones aisladas (2) en el trayecto de estos vasos.

Referencia 960609. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,30mm.

Figura 28. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observan arterias superficiales de tercer orden (1) que dan ramas colaterales o arterias penetrantes (2). Se destaca la presencia de constricciones (3) separadas por sendas dilataciones (4) en el trayecto de estos vasos, así como la presencia de anillos plásticos (5).

Referencia 960345. Barra: 0,15mm.



#### **2.4.- RELACIONES DE LOS VASOS ARTERIALES SUPERFICIALES CON LAS VENAS DE SUPERFICIE.**

La red venosa superficial, o pial, se encuentra situada en la superficie de las circunvoluciones y, al igual que la red arterial, a nivel del espacio subaracnoideo. Los vasos de la red venosa pial drenan en venas colectoras que están situadas en los surcos de la superficie de los hemisferios cerebrales, superficialmente a las ramas colaterales de las arterias cerebrales.

Las venas superficiales son de mayor diámetro que las arterias, aunque de aspecto aplanado de la superficie a la profundidad (Fig. 29). Siguen un trayecto angular con divisiones a nivel de sus ángulos.

Las arterias de la red pial no mantienen una estrecha relación de trayectos paralelos con las venas superficiales, sino que ambas ocupan territorios diferentes en la superficie cerebral. A lo largo de sus respectivos recorridos no se encuentran pareadas una al lado de la otra, sino que sufren entrecruzamientos en los que la arteria superficial quedaba siempre situada por encima de la vena. Este hecho lo hemos observado a distintos niveles, en arterias de primer, segundo y tercer orden. En ocasiones, estos entrecruzamientos eran en ángulo recto y muy marcados, dejando una impresión en forma de canal dispuesto perpendicularmente al eje principal de la vena (Fig. 29).

Este tipo de entrecruzamientos no se producían siempre entre vasos arteriales y venosos del mismo calibre. Hemos observado en ocasiones cómo las ramas colaterales de los vasos arteriales de tercer orden, que penetran en la corteza

cerebral, cruzaban en el momento de su incurvación sobre la superficie de una vena pial de gran diámetro, dibujando sobre ella la impresión de dichos vasos (Fig. 30).

## **2.5.- CARACTERÍSTICAS REGIONALES DE LA RED ARTERIAL PIAL.**

### **2.5.1.- Territorio de la arteria cerebral anterior.**

A nivel de la red pial correspondiente al territorio de distribución superficial de la arteria cerebral anterior, hemos observado dos tipos de patrones vasculares arteriales diferentes.

Un primer patrón correspondía a arterias superficiales de primer orden, que presentaban un trayecto sinuoso con suaves incurvaciones, pudiendo llegar a ser prácticamente rectilíneo. El aspecto más destacable de este patrón era la presencia de vasos de primer orden en la zona más superficial de la circunvolución, convexos, a menudo paralelos entre ellos, y con una ausencia marcada de angulaciones en su trayecto.

En el resto de la superficie de la circunvolución se observaba una pobre red vascular de arterias superficiales de segundo y tercer órdenes, que en muchos casos se originaban formando un ángulo recto con las arterias superficiales de primer orden. Estos vasos no se extendían ampliamente por la superficie de la circunvolución, sino que tras un corto trayecto, en el que mostraban una disminución importante de su calibre, se incurvaban para introducirse en la corteza cerebral (Fig. 31).

Menos frecuente era el segundo patrón, el cual se caracterizaba por vasos superficiales de primer y segundo orden de trayecto sinuoso, paralelo y muy próximos entre ellos. Estos vasos ascendían hacia la convexidad por la cara lateral del surco, a modo de ramillete vascular (Fig. 32). Tras un escaso número de divisiones dicotómicas, en las que se producía una disminución progresiva de su diámetro, se introducían en la corteza cerebral sin que existiera una clara diferenciación entre arterias superficiales de segundo y de tercer orden (Fig. 33).

### **2.5.2.- Territorio de la arteria cerebral media.**

En el estudio de la distribución de los vasos arteriales piales correspondiente al territorio de la arteria cerebral media, hemos observado dos morfologías diferentes, cuya frecuencia de aparición era similar.

La primera de ellas se caracterizaba por la presencia de arterias superficiales de primer orden de trayecto rectilíneo y convexo hacia la superficie, cuyo diámetro oscilaba entre las  $200\mu$  y las  $250\mu$ . Ocasionalmente el trayecto de estos vasos podía presentar angulaciones en forma de ángulo recto. Estas arterias de primer orden eran vasos poco ramificados, con algunas divisiones dicotómicas (Fig. 34) y colaterales que se originaban formando un ángulo agudo con el vaso principal.

Las arterias superficiales de segundo y tercer órdenes que se observaban en esta morfología eran también vasos poco ramificados y escasamente conectados entre sí. Tenían un trayecto paralelo a la superficie, no arciforme, y ocasionalmente angular de ángulos obtusos. Estos vasos no constituían una red vascular densa en la superficie de la corteza cerebral, sino que tras una o dos divisiones se incurvaban

en ángulo recto para introducirse en el córtex (Figs. 34 y 35). En algunas ocasiones hemos observado arteriolas que penetraban directamente en la corteza tras su origen a partir de arterias superficiales de segundo orden (Fig. 35).

En algunos casos hemos observado un segundo tipo morfológico en la distribución de los vasos de la red pial correspondiente a la arteria cerebral media. Se caracterizaba por una red de vasos superficiales de segundo y tercer órdenes formada a partir de divisiones dicotómicas y en ángulo agudo cerrado. Estos vasos seguían un trayecto rectilíneo y divergente en la superficie de la circunvolución, permaneciendo muy próximos entre sí, y adoptando una disposición a modo de ramillete o abanico (Fig. 36). Tras este trayecto en superficie, las arterias de tercer orden y sus ramas terminales se introducían de forma independiente en la corteza cerebral, observándose un escaso número de arcos vasculares de conexión entre los mismos (Fig. 37).

### **2.5.3.- Territorio de la arteria cerebral posterior.**

La red arterial superficial dependiente de ramas colaterales de la arteria cerebral posterior se caracterizaba por presentar, desde un punto de vista cualitativo, una profusa red vascular con espacios intervasculares muy cerrados (Fig. 38). Asimismo, hemos observado una gran homogeneidad en cuanto a la profundidad de los vasos que la conforman, lo cual hacía que, tanto arterias superficiales de segundo orden como arterias de tercer orden, estuviesen dispuestas prácticamente al mismo nivel, destacando de forma clara y superficial a las anteriores las arterias superficiales de primer orden (Figs 39 y 40).

Las arterias superficiales de primer y segundo órdenes tenían un trayecto muy sinuoso, con colaterales que se originaban a partir de la convexidad de sus incurvaciones (Figs. 40 y 41). Las arterias de tercer orden presentaban un trayecto angular típico (Figs. 40 y 41). Estos vasos de tercer orden, conjuntamente con sus ramas colaterales y terminales, de trayectos arciformes y convexos hacia la superficie, formaban una densa red vascular homogénea en profundidad. De los pilares de estos arcos vasculares se originaban arteriolas que penetraban en la corteza cerebral (Fig. 40).

En algún caso hemos observado zonas dependientes de la arteria cerebral posterior, donde la red vascular pial tenía una menor densidad que la señalada anteriormente. En estos territorios, las arterias superficiales de segundo orden mantenían característicamente un trayecto muy sinuoso

A nivel del territorio vascular de la circunvolución del hipocampo, dependiente de la arteria cerebral posterior, hemos observado arterias superficiales de tercer orden con un trayecto angular típico de ángulos abiertos. De la convexidad de los ángulos se originaban arteriolas que se introducían verticalmente en la corteza cerebral (Fig. 42).

Figura 29. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se observa la red vascular superficial o pial donde se encuentran arterias superficiales (1) y venas superficiales (2). Las venas son de mayor diámetro y de aspecto aplanado respecto a las arterias. En la zona de entrecruzamiento vascular, las arterias quedan más superficiales y marcan en ocasiones un profundo canal en el molde de la vena (3).

Referencia 960366. Región: a. cerebral anterior. Barra: 115 $\mu$ .

Figura 30. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se demuestra la relación entre una rama colateral de una arteria superficial de tercer orden (1) con una vena superficial (2). Nótese la impronta que deja el entrecruzamiento sobre el molde venoso (3), así como la presencia de impresiones nucleares (4) y anillos plásticos (5) sobre la superficie del molde vascular arterial.

Referencia 961585. Región: a. cerebral posterior. Barra: 75 $\mu$ .



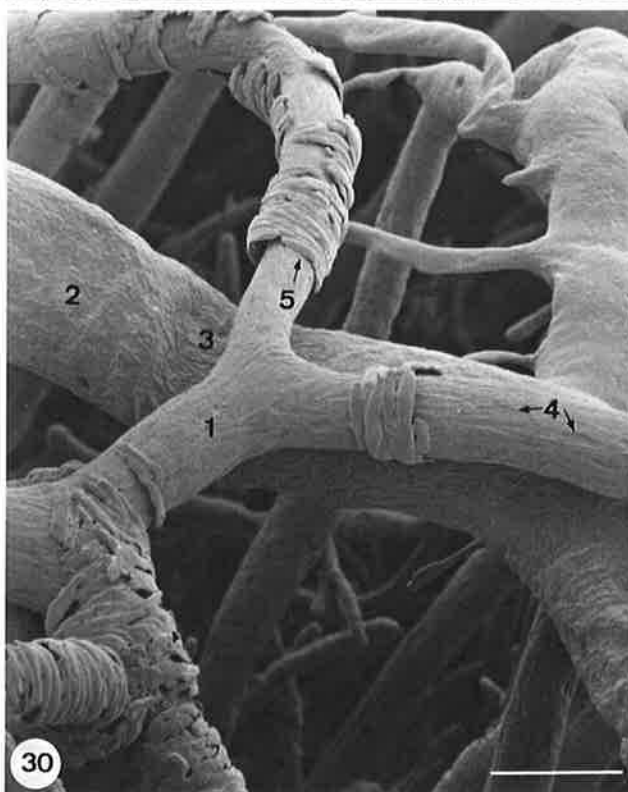
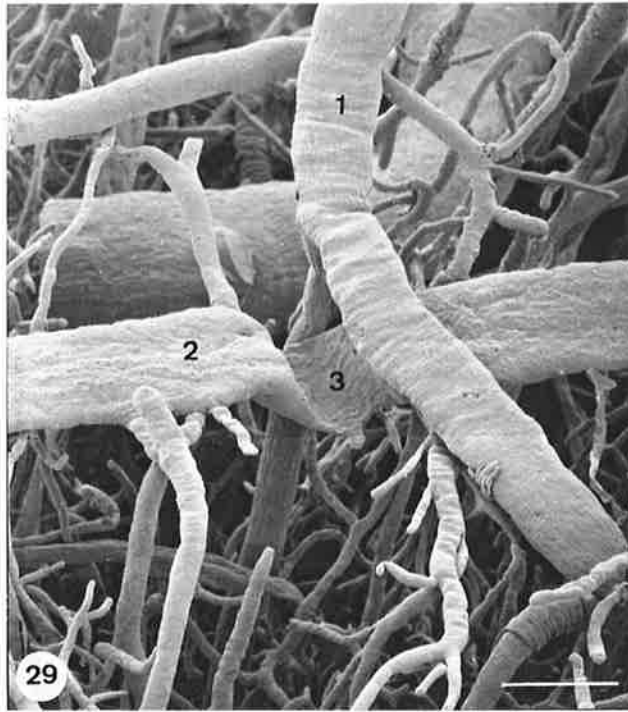


Figura 31. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se muestra la red arterial pial en el territorio de la arteria cerebral anterior. Se destaca la presencia de arterias superficiales de segundo y de tercer orden de la circunvolución (1), dispuestos paralelamente entre ellos y con una marcada ausencia de angulaciones en su trayecto. Estos vasos se originan en ángulo recto a partir de arterias superficiales de primer orden (2), y después de un corto trayecto se incurvan para introducirse en la corteza cerebral como arterias perforantes (3). Nótese la presencia de anillos plásticos en el trayecto inicial de las arterias perforantes.

Referencia 961489. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,43mm.

Figura 32. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral anterior. Se aprecian arterias superficiales de primer orden (1) y de segundo orden (2), de trayecto sinuoso y muy próximas entre sí. Estas arterias dan un aspecto de ramillete en la superficie de la circunvolución.

Referencia 961720. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,38mm.

Figura 33. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral anterior. Se observan divisiones dicotómicas de arterias superficiales (1), sin existir una clara diferenciación entre arterias superficiales de segundo y tercer orden (2) antes de introducirse en la corteza cerebral (3).

Referencia 961378. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,25mm.

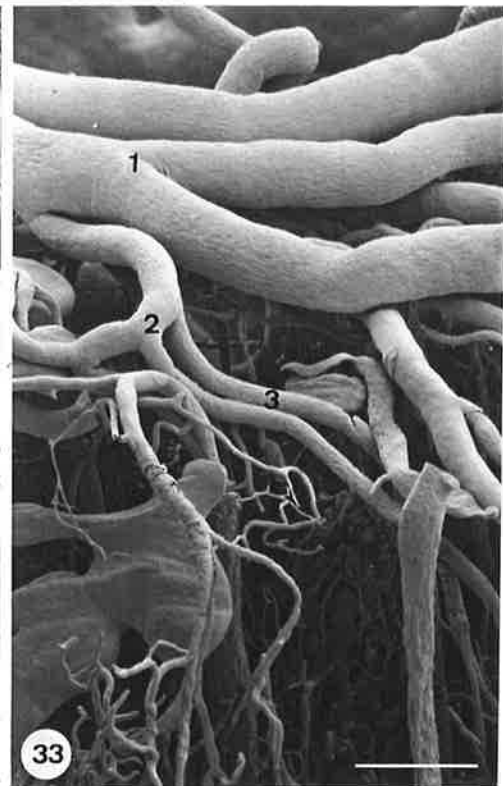
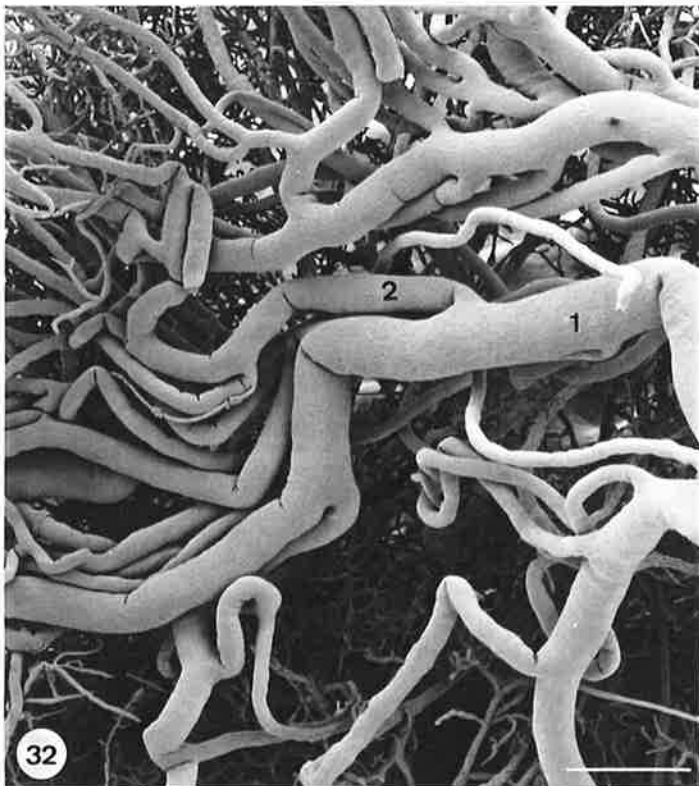
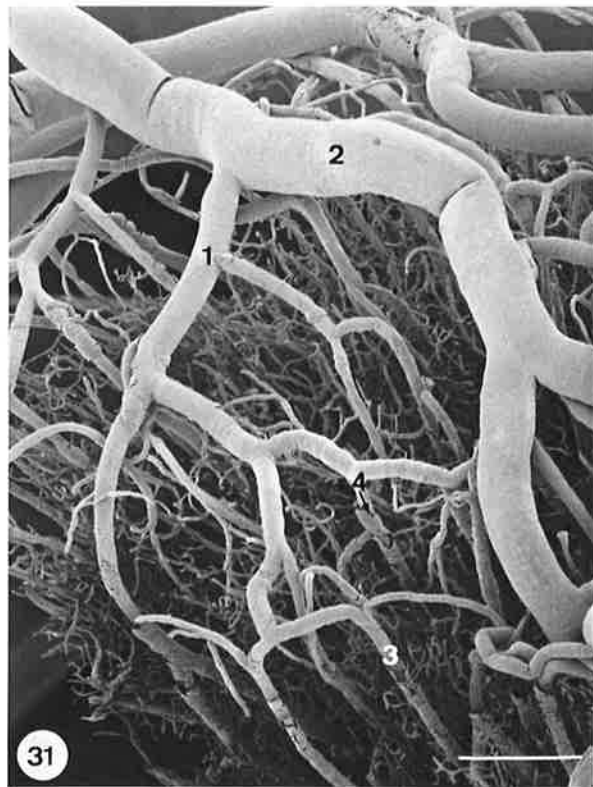


Figura 34. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral media. Se observa una arteria superficial de primer orden (1) de trayecto rectilíneo, con divisiones dicotómicas y poco ramificado. Las arterias superficiales de segundo (2) y de tercer orden (3) son también vasos poco ramificados.

Referencia 961935. Región: a. cerebral media. Barra: 0,42mm.

Figura 35. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral media. Se observa una arteria superficial de segundo orden (1) que da lugar a arterias superficiales de tercer orden (2), espaciadas y que tras una o dos divisiones se incurvan para introducirse en la corteza cerebral (3). Se destaca la presencia de arterias penetrantes originadas directamente en la arteria de segundo orden (4), así como la presencia de anillos plásticos (5).

Referencia 961673. Barra: 0,43mm.

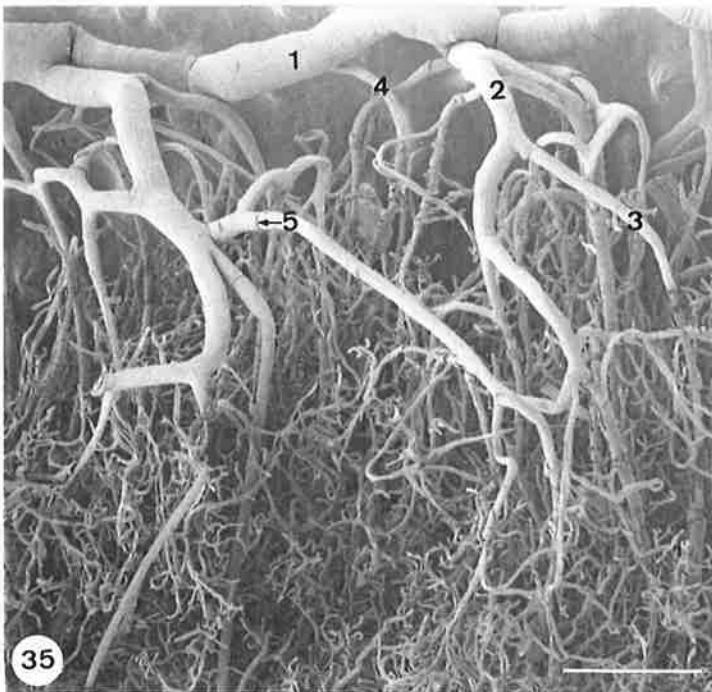
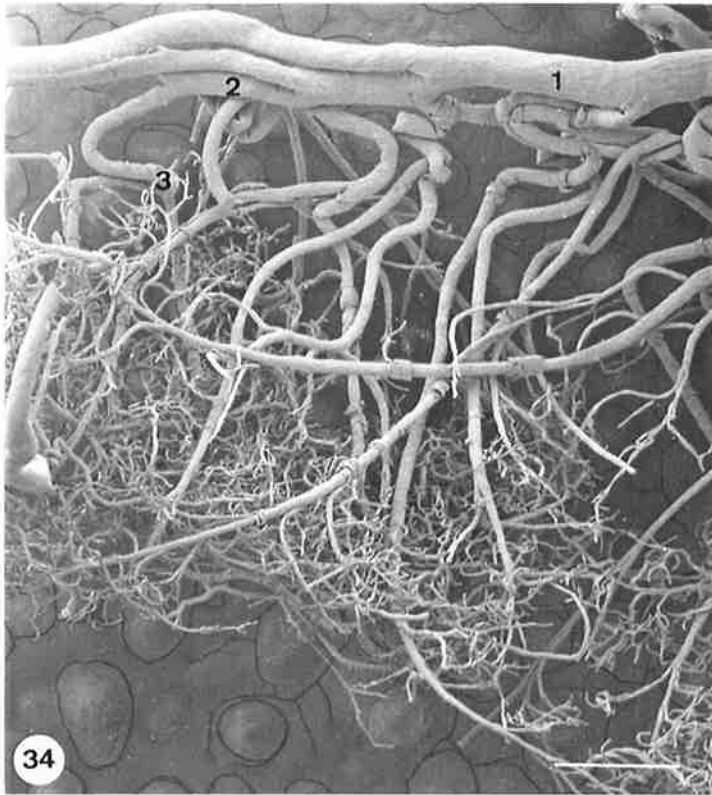


Figura 36. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral media. Se aprecia el trayecto rectilíneo y divergente, adoptando una disposición a modo de ramillete vascular, de las ramas de división de las arterias superficiales de segundo (1) y de tercer órdenes (2). Se destaca la presencia de una serie de anillos de constricción (3) situados en la parte terminal de las arterias de segundo orden y especialmente en las arterias de tercer orden.

Referencia 962281. Región: a. cerebral media. Barra: 0,5mm.

Figura 37. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el territorio de la arteria cerebral media. Nótese la presencia de arterias superficiales de tercer orden (1) y de sus ramas terminales (2) introduciéndose en la corteza cerebral, así como el escaso número de conexiones entre ellas. Se destaca la observación de anillos de constricción (3) en las arterias superficiales, y las terminaciones ciegas de algunos de estos vasos (4).

Referencia 962282. Región: a. cerebral media. Barra: 0,38mm.

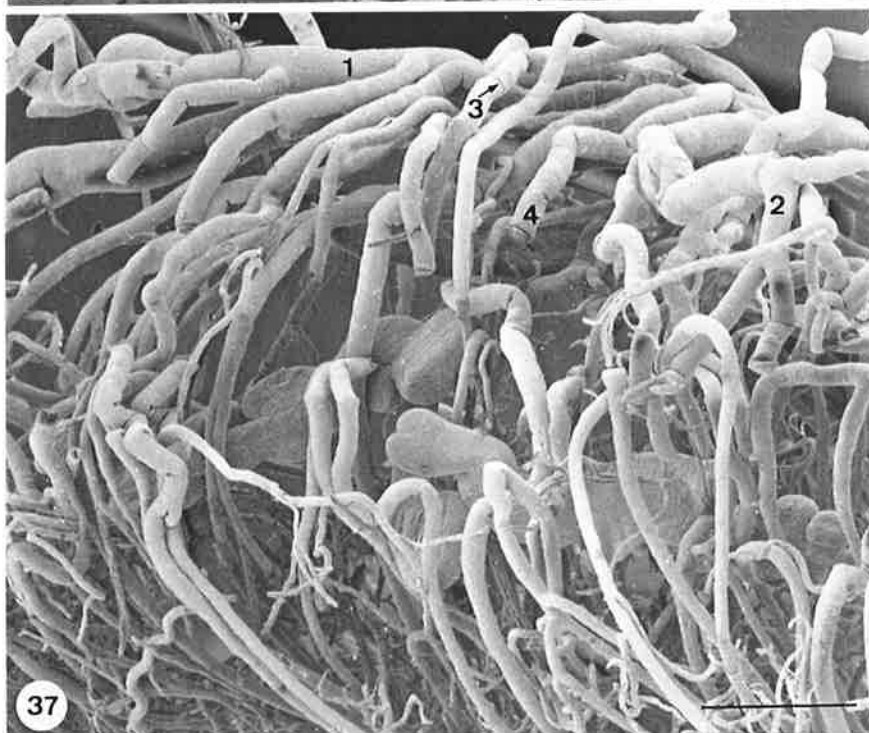
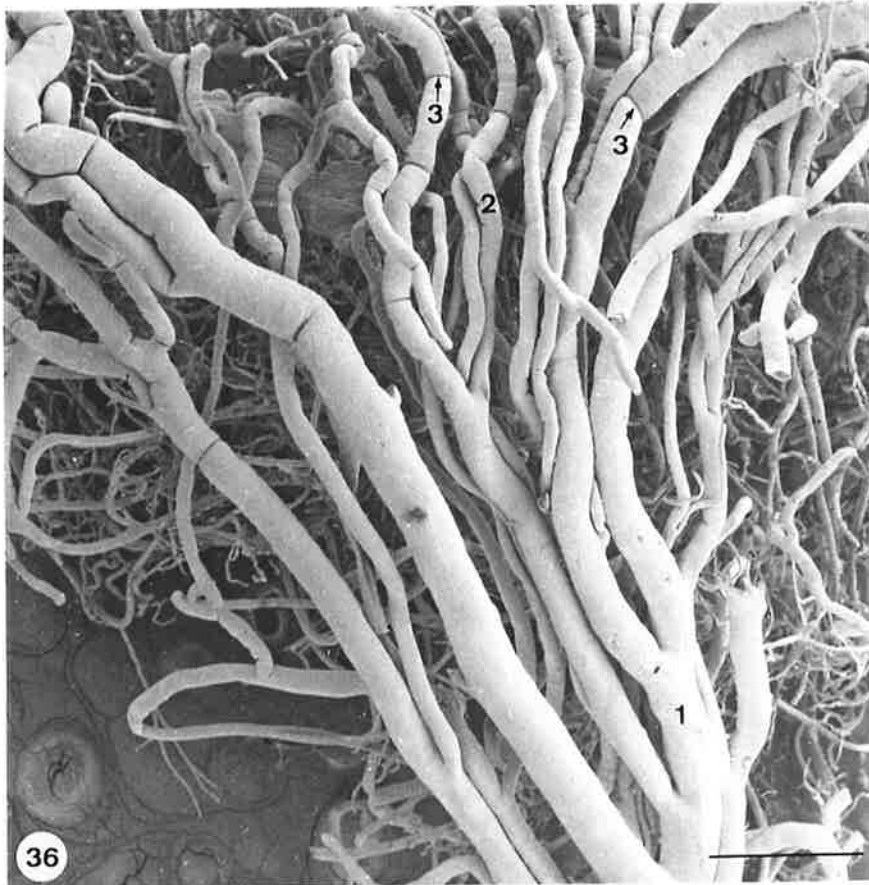


Figura 38. Visión de la cara convexa del lóbulo occipital, previa inyección arterial látex natural coloreado en el territorio de la arteria cerebral posterior. Se demuestra la profusa red vascular en la superficie de las circunvoluciones, a partir de arterias superficiales de primer orden (1) y de segundo orden (2). Nótese las anastomosis (\*) entre arterias superficiales de circunvoluciones adyacentes.

Referencia 16C (12x).

Figura 39. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercor<sup>®</sup>, en el territorio de la arteria cerebral posterior. Se observa la alta densidad vascular, disposición más superficial de las arterias de primer orden (1) y más profundo de las arterias de segundo orden (2) y de tercer orden (3). Se observa la presencia de un entrecruzamiento arteriovenoso (\*) y de anillos plásticos en el trayecto inicial de las arterias perforantes (4).

Referencia 961439. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,38mm.



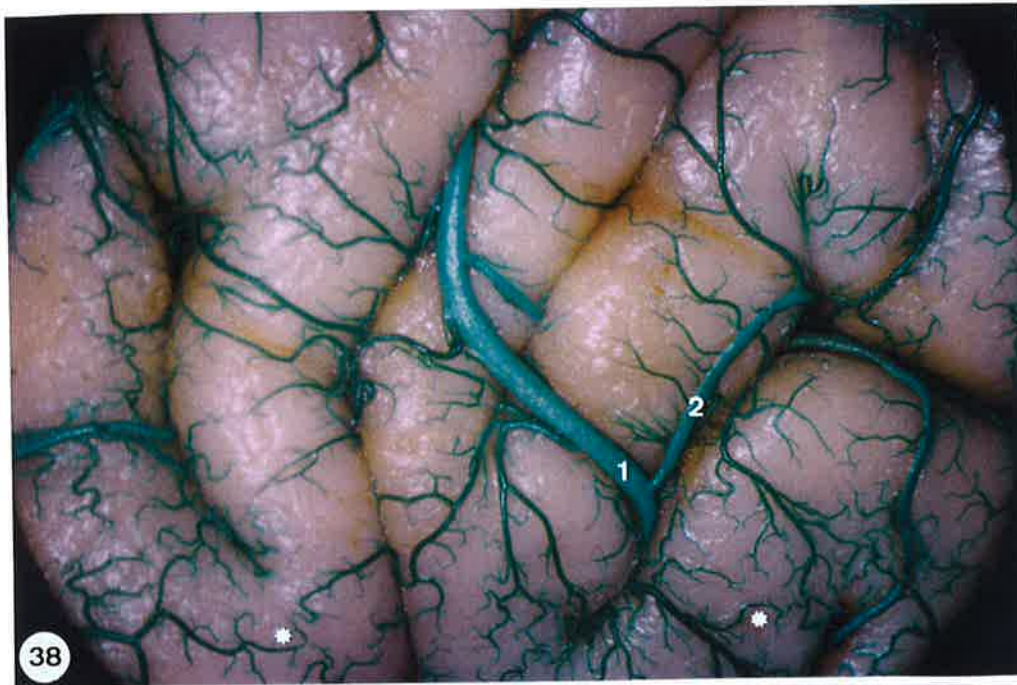


Figura 40. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®<sup>®</sup>, en el territorio de la arteria cerebral posterior. Se observa la disposición de las arterias superficiales de segundo (1) y de tercer órdenes (2), el trayecto sinuoso de las primeras y angular de las segundas. También se observan los arcos vasculares (3) que dan origen a las arterias perforantes (4). Nótese la presencia de venas superficiales (5) y de anillos plásticos (6) en las arterias perforantes de la corteza cerebral.

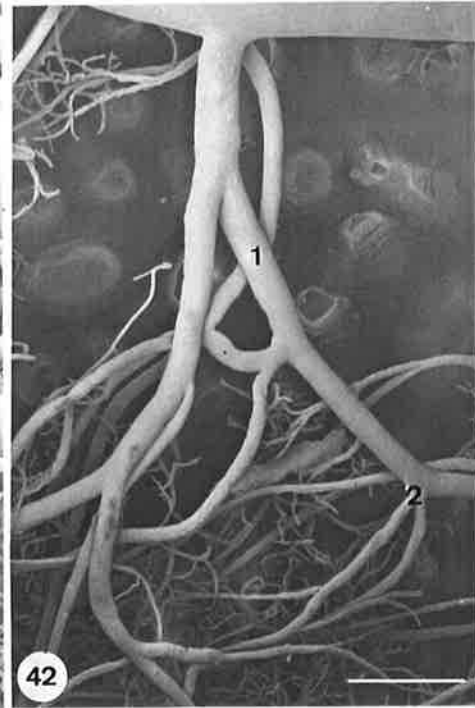
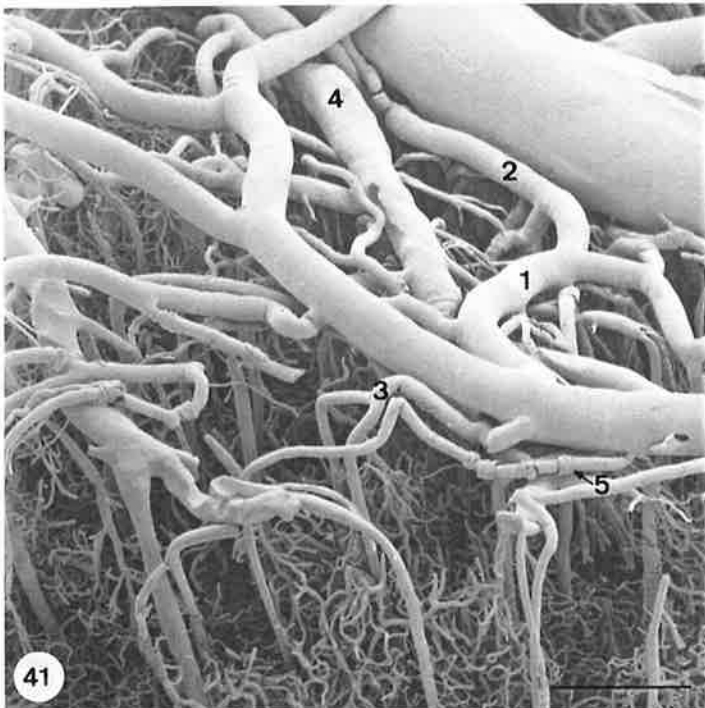
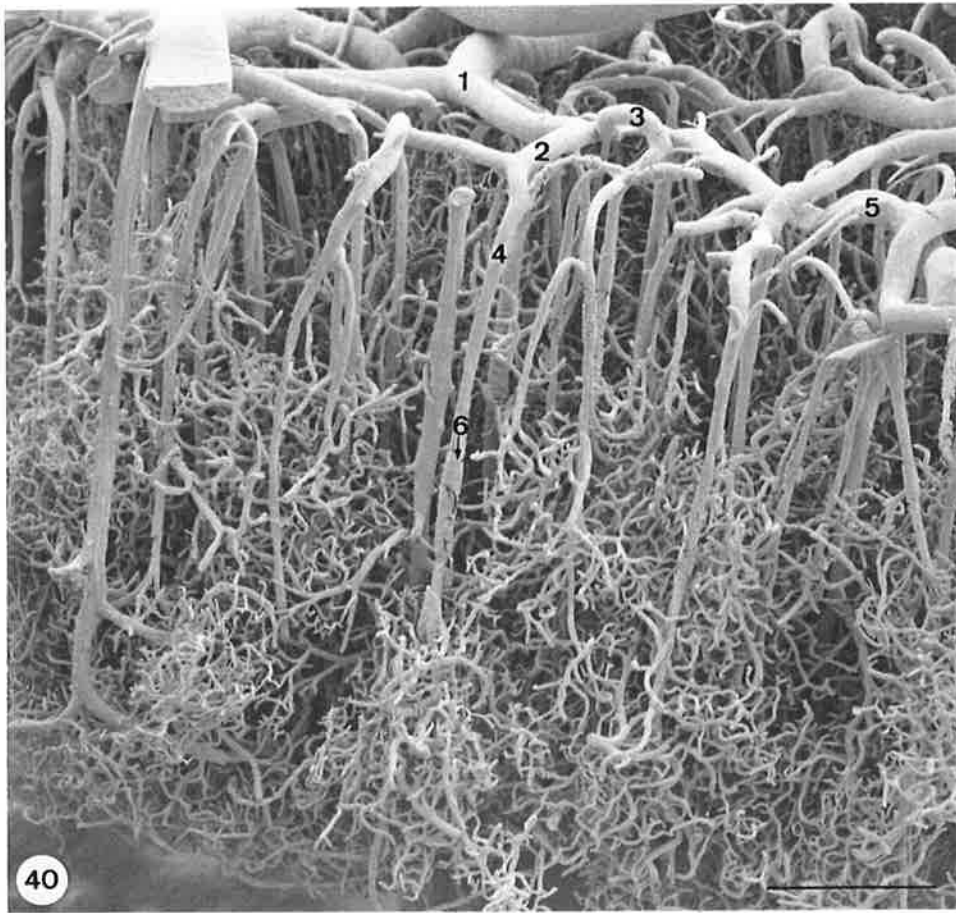
Referencia 961441. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,43mm.

Figura 41. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®<sup>®</sup>, en el territorio de la arteria cerebral posterior. Se aprecia el trayecto sinuoso de las arterias superficiales de segundo orden (1) y el origen de ramas colaterales a partir de la convexidad de su incurvación, así como el trayecto angular de las arterias superficiales de tercer orden. Nótese la presencia de venas superficiales (4) y de anillos plásticos (5) en el trayecto de las arterias de tercer orden y arterias corticales.

Referencia 961572. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,43mm.

Figura 42. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®<sup>®</sup>, en la circunvolución del hipocampo. Se destaca una arteria superficial de tercer orden (1) con trayecto angular, que da lugar a arterias corticales penetrantes (2) que se originan de la convexidad de los ángulos.

Referencia 960207. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,38mm.



### **3.- VASOS ARTERIALES CORTICALES O PERFORANTES.**

A partir de la red arterial de superficie, distribuída en el espacio subaracnoideo, se originan los vasos propiamente corticales o perforantes, denominados así porque tras incurvarse en superficie se introducen en el espesor de la corteza cerebral. Su diámetro oscila entre las 20 y las 90 $\mu$ , estando situado su calibre medio alrededor de las 50 $\mu$  (Fig. 43). A lo largo de su trayecto emiten una serie de colaterales, que junto con sus ramas terminales, son las responsables de la irrigación arterial del córtex cerebral.

#### **3.1.- ORIGEN DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

El origen de las arterias corticales se realiza a partir de las arterias superficiales de tercer orden o de sus ramas colaterales, que generalmente se encuentran en la zona más profunda del espacio subaracnoideo. No obstante, hemos observado en algunos casos el origen de vasos corticales a partir de vasos superficiales de segundo orden, y ocasionalmente, a partir de arterias superficiales de primer orden.

Respecto a su origen, las arterias corticales o perforantes podían adoptar tres tipologías diferentes:

##### **3.1.a. Origen en ángulo agudo a partir de las caras laterales.**

Se trata de arterias que nacen formando un ángulo agudo con el vaso principal en sentido distal, generalmente cerrado  $\leq 45^\circ$ . Su origen tenía

lugar a partir de las caras laterales de los vasos de superficie (Fig. 33). Generalmente, los vasos que presentaban este tipo de origen tenían un trayecto rectilíneo inicial en la superficie, tras el que se incurvaban para introducirse en el córtex cerebral (Fig. 40). El origen en ángulo muy cerrado de algunas de estas arterias, la agrupación de varios de estos vasos, y su trayecto paralelo en superficie, proporcionaba un aspecto arboriforme o en ramillete a la superficie de la corteza cerebral (Fig. 36).

### **3.1.b. Origen en ángulo recto a partir de las caras laterales.**

Se trataba de arterias penetrantes que se originaban en las caras laterales de los vasos superficiales, formando con ellos un ángulo de aproximadamente 90°. Tras su origen, este tipo de vasos corticales presentaban un trayecto en superficie de corta longitud, y generalmente cóncavo hacia la profundidad (Figs. 31 y 39). La presencia de constricciones circulares a nivel del origen de las arterias corticales era más frecuente en este tipo de vasos.

### **3.1.c. Origen en ángulo recto a partir de la cara profunda.**

En este grupo se encuentran aquellas arterias corticales que se originaban perpendicularmente en la cara inferior de los vasos superficiales (Fig. 43). En este grupo se encuentran también aquellos vasos que se originaban de forma perpendicular a la superficie, a partir de arterias superficiales que presentaban un trayecto en forma de arcos de concavidad inferior (Fig. 44). En estos casos las arterias corticales nacían a partir de los pilares de dichos arcos, o de forma más infrecuente, a partir de la concavidad (Fig. 43).

Dentro de este grupo hemos incluido todos aquellos vasos corticales que procedían de las ramas terminales de las arterias superficiales de tercer orden. Las ramas terminales de estos vasos dibujaban un ángulo recto, tras el cuál se iniciaba el trayecto penetrante de dichos vasos en la corteza cerebral (Fig. 41).

En el origen de los vasos corticales o perforantes hemos observado de forma frecuente la presencia de constricciones circulares únicas del molde vascular. Se trataba de constricciones anulares que se encontraban con mayor frecuencia en aquellos vasos corticales que se originan en ángulo recto, o bien en aquellos casos en los que existe una marcada desproporción de calibres entre el vaso superficial y la rama colateral cortical (Fig 43). Las constricciones de las arterias corticales se estudian de forma más detallada en el apartado 4.4.

### **3.2.- TRAYECTO INICIAL DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

En este apartado describimos el trayecto de las arterias corticales desde su origen en los vasos superficiales de tercer orden y en sus ramas colaterales, hasta su penetración en la corteza cerebral.

La mayoría de las arterias corticales presentaban un trayecto inicial en la superficie del córtex, excepto aquellas arterias penetrantes que se originaban directamente en forma de ángulo recto en la cara inferior de las arterias superficiales, o bien a partir de los pilares de los arcos que forman algunas de estas arterias en la superficie.

El trayecto inicial de las arterias corticales o perforantes en la superficie del córtex puede ser:

### **3.2.a. Trayecto oblicuo hacia la profundidad del córtex.**

Este trayecto lo hemos observado habitualmente en aquellos vasos corticales que se originaban a partir de las caras laterales de los vasos piales. Tras su origen, las arterias corticales presentaban un trayecto en la superficie de unas 150-450 $\mu$  de longitud, con una ligera inclinación hacia la profundidad, cuya angulación raramente era superior a los 20°. La mayor parte de estos vasos no presentaban colaterales a lo largo de este segmento de su recorrido, tras el cual se incurvaban e iniciaban su trayecto perpendicular a la superficie (Figs. 33 y 45).

### **3.2.b. Trayecto paralelo a la superficie del córtex.**

La disposición paralela a la superficie era la más frecuente en el trayecto inicial de las arterias corticales, que en estos casos se originaban a partir de las caras laterales de las arterias superficiales o en su cara profunda. La longitud media de este recorrido superficial era de 250 $\mu$  (Figs. 40 y 41), aunque hemos observado trayectos en superficie de hasta 750 $\mu$  de longitud.

El trayecto paralelo a la superficie de este tipo de arterias era longitudinal, o bien arciforme dibujando arcos de concavidad inferior. La morfología longitudinal de este trayecto ha sido observada esencialmente en arterias que se originaban en las caras laterales de las arterias piales, formando un ángulo agudo con las mismas. En algunas ocasiones se observaron agrupaciones de este tipo de arterias corticales, que dibujaban un



ramillete vascular divergente en la superficie de la corteza cerebral.

En el caso de aquellos vasos corticales que se originaban a partir de las caras laterales de las arterias superficiales formando un ángulo recto con las mismas, su trayecto inicial era arciforme de concavidad inferior, y paralelo a la superficie (Fig. 44).

Algunos vasos corticales que tenían su origen en la cara inferior de las arterias piales, tras un trayecto inicial vertical que podía alcanzar las  $200\mu$ , se incurvaban en su recorrido  $90^\circ$ , presentando un segmento intermedio en el que se disponían de forma paralela a la superficie. En este segmento de su recorrido, el trayecto de la arteria podía ser rectilíneo o, con mayor frecuencia, formando dos o tres arcos de convexidad superior y de  $150\mu$  de separación entre sus pilares. A partir de dichos pilares y a modo de colaterales, se originaban vasos corticales que se introducían de forma vertical en el espesor de la corteza cerebral.

### **3.2.c. Trayecto perpendicular a la superficie del córtex.**

Se trataba de vasos corticales que tenían su origen en las caras inferior o infero-lateral de los vasos superficiales. Tras su origen estos vasos se dirigen perpendicularmente hacia el espesor de la corteza cerebral (Figs 43 y 44).



### **3.3.- DIFERENCIAS REGIONALES EN EL TRAYECTO INICIAL DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

Hemos observado diferencias en el trayecto superficial de las arterias corticales dependientes de las diferentes arterias cerebrales. A nivel de las ramas colaterales de la arteria cerebral anterior, las arterias corticales presentaban generalmente trayectos cortos en superficie, tras el cual se introducían perpendicularmente en la corteza cerebral. Eran también frecuentes las imágenes de trayectos paralelos a la superficie y rectilíneos.

A nivel de los vasos corticales dependientes de la arteria cerebral media, se observaron con frecuencia imágenes de trayectos rectilíneos y paralelos en superficie, a modo de ramillete, que se introducían en la corteza cerebral tras pocas divisiones.

En el territorio dependiente de la arteria cerebral posterior, el patrón del trayecto superficial de las arterias corticales era mayoritariamente arciforme, con numerosos arcos convexos hacia la superficie y paralelos a la misma, y orígenes en las caras laterales e inferior de las arterias superficiales. A nivel del territorio de la circunvolución del hipocampo, las arterias corticales tenían un trayecto inicial perpendicular a la superficie.

### **3.4.- MODO DE PENETRACIÓN DE LAS ARTERIAS CORTICALES EN LA CORTEZA CEREBRAL.**

La mayor parte de los vasos corticales que presentaban un trayecto inicial paralelo a la superficie, así como las ramas terminales de las arterias superficiales de tercer orden, se introducían en la corteza cerebral dibujando en su trayecto un ángulo de 90°. Dicha incurvación, no obstante, se realizaba en ocasiones no de forma brusca, sino describiendo una curva de amplio radio e inflexión suave.

De forma más infrecuente, los vasos corticales podían introducirse en la corteza mediante una incurvación brusca de 180°, un corto recorrido recurrente de unas 150 $\mu$  y una segunda incurvación de 90° (Fig. 34).

En aquellos casos en que se obtiene una buena replección del lecho vascular venoso, hemos observado que las arterias corticales cruzaban superficialmente a las venas de la red pial en el momento de su incurvación para penetrar en la corteza cerebral (Fig. 40).

Figura 43. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa el origen de arterias corticales o perforantes (1) a partir de la cara profunda de una arteria de superficie (2). Nótese la constricción (3) en el origen de una arteria cortical, así como las impresiones nucleares en la superficie del molde (4).

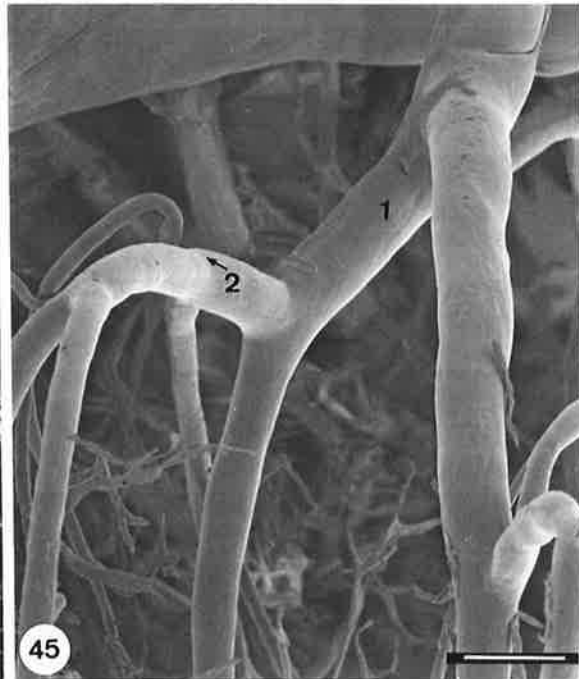
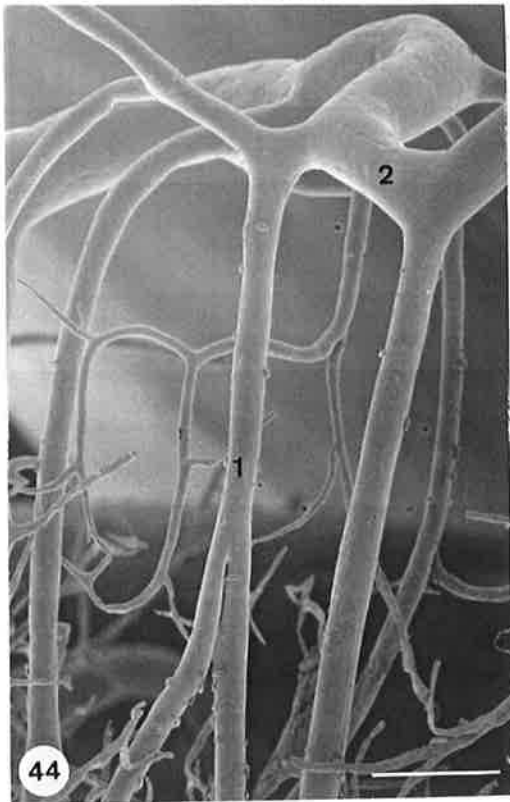
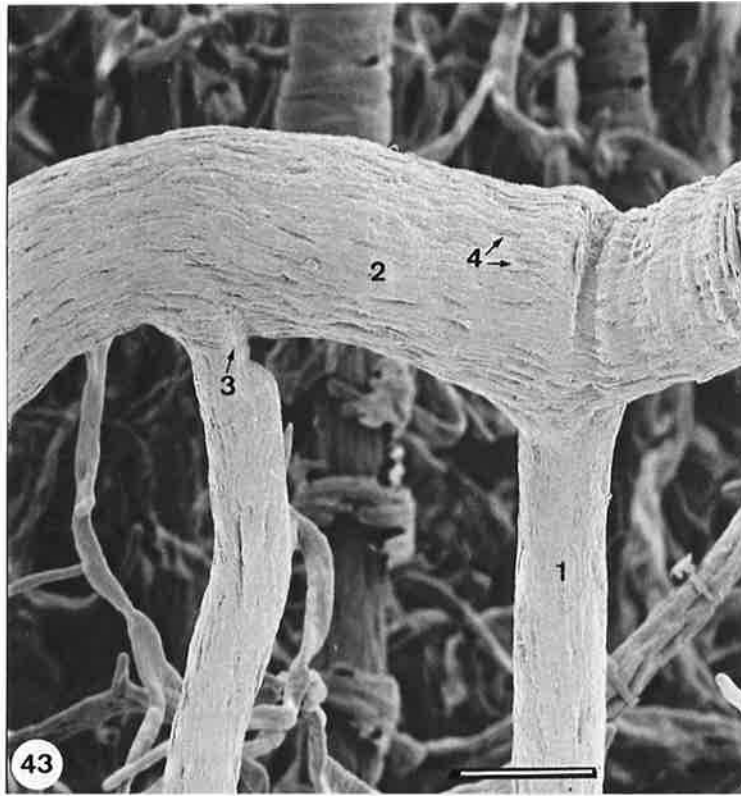
Referencia 961995. Región: a. cerebral media. Barra: 60 $\mu$ .

Figura 44. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se demuestra el origen de arterias perforantes (1) a partir de la cara profunda de arcos vasculares o sus pilares, formados por arterias superficiales de tercer orden (2).

Referencia 950517. Región: a. cerebral anterior. Barra: 150 $\mu$ .

Figura 45. Molde de corrosión vascular vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se demuestra el trayecto inicial oblicuo, con un segmento intermedio arciforme paralelo a la superficie, de una arteria superficial o perforante (1). Nótese la ausencia de colaterales de las arterias en este trayecto, y las constricciones aisladas en la superficie de los arcos vasculares (2).

Referencia 950511. Región: a. cerebral anterior. Barra: 100 $\mu$ .



### **3.5.- CLASIFICACIÓN DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

Con el objeto de estudiar el trayecto y la distribución intracortical de las arterias del córtex cerebral humano hemos agrupado los vasos en cuatro categorías, atendiendo a la profundidad que alcanzaban en la corteza cerebral, y al nivel en el que daban sus ramas terminales.

#### **Grupo 1 o arterias corticales cortas (A1).-**

Los vasos corticales del grupo 1 son arterias que tienen un diámetro medio de  $20\mu$  y que dan sus ramas terminales entre las  $350\mu$  y las  $800\mu$  de profundidad.

#### **Grupo 2 o arterias corticales medias (A2).-**

Son vasos arteriales cuyo diámetro oscila ampliamente entre las 30 y las  $60\mu$ , y que dan sus ramificaciones terminales a un nivel de profundidad situado entre 1 y 1,2 mm de la superficie. No obstante, en territorios dependientes de las arterias cerebrales media y posterior pueden alcanzar los 2mm de profundidad.

#### **Grupo 3 o arterias corticales largas (A3).-**

El grupo 3 está formado por vasos que se dividen en sus ramas terminales en la zona más profunda de la corteza cerebral, a 2 - 2,4 mm de profundidad. Su trayecto es generalmente perpendicular a la superficie, y su diámetro medio es superior al de las arterias corticales medias, aunque más homogéneo, oscilando entre las 60 y las  $70\mu$ .

#### **Grupo 4 o arterias transcorticales (A4).-**

En este grupo encontramos aquellas arterias que presentan un recorrido que atraviesa la totalidad del grosor de la corteza cerebral. Una vez alcanzan la zona yuxta-subcortical pueden adoptar dos disposiciones: la más frecuente es aquella en la que el vaso se incurva aproximadamente 90° iniciando un trayecto paralelo a la superficie en la zona de transición con la sustancia blanca. De forma más infrecuente, estos vasos pueden continuar su dirección descendente hacia la profundidad de la sustancia blanca. Su diámetro medio es de 75 $\mu$ .

### **3.6.- CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DE DISTRIBUCIÓN DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

#### **3.6.1.- Arterias corticales cortas (A1)**

Las arterias corticales del grupo 1 son las que presentan un trayecto más corto, generalmente rectilíneo y perpendicular a la superficie, aunque en ocasiones es ligeramente oblicuo hacia la profundidad. En su trayecto hemos observado en algunas ocasiones la presencia de un segmento intermedio, formado por arcos de disposición horizontal, a partir de los cuales se originaban ramas colaterales perpendiculares a la superficie, que se distribuían a este nivel de profundidad (Fig. 44).

##### **a.- Ramas colaterales.**

La presencia de ramas colaterales no es un hecho constante en las arterias corticales cortas. En los casos en los que este tipo de vasos dan origen a ramas colaterales éstas suelen ser únicas y se desprenden en ángulo agudo poco después de que el tronco principal se incurve para penetrar en el córtex. Su trayecto puede ser oblicuo hacia la profundidad, dando sus ramas terminales a modo de ramillete, o bien pueden dibujar una curva de concavidad superior, disponiéndose a continuación de forma paralela a la superficie (Fig. 46). A lo largo de su trayecto horizontal puede dar alguna rama colateral corta que, al igual que su rama terminal, descienden de forma perpendicular distribuyéndose en esta zona del córtex (Fig. 46).

b.- Ramas terminales.

Las ramas terminales de las arterias del grupo 1 se originan en forma de ramillete. Son vasos cortos que se distribuyen de forma horizontal o recurrente en la zona superficial del cortex, alrededor de las  $600\mu$  de profundidad.

A lo largo del recorrido de las arterias corticales cortas hemos observado en algunas ocasiones la presencia de anillos plásticos, formando pequeñas agrupaciones en el segmento terminal de estos vasos (Fig. 46).

**3.6.2.- Arterias corticales medias (A2).**

Las arterias del grupo 2 (A2) son vasos corticales que tienen un diámetro medio de  $36\mu$ , y que alcanzan mediante sus ramas terminales la zona media de la corteza cerebral, generalmente situada alrededor de 1 - 1,2 mm de profundidad (Fig.

47).

a.- Ramas colaterales.

Las ramas colaterales de estas arterias son de mayor diámetro que las del grupo A1, y las hemos clasificado en arterias colaterales primarias y secundarias.

Las **ramas colaterales primarias** se originan en el trayecto cortical inicial del vaso principal (aproximadamente a  $500\mu$  de la superficie) y, según su morfología, podemos considerar dos tipos.

- Ramas primarias del tipo 1: Se originan en ángulo recto y tras su origen describen una curva de concavidad inferior. Tienen un trayecto descendente que finaliza en la zona superficial del córtex, al mismo nivel que las ramas terminales de las arterias corticales cortas, o inmediatamente por debajo de éstas (Fig. 48). En ocasiones, estas últimas arterias dan origen a una rama colateral de distribución horizontal en la zona superficial del córtex cerebral.

- Ramas primarias del tipo 2: Son vasos que se originan en ángulo agudo. Tras un primer trayecto oblicuo hacia la profundidad, describen una curva de concavidad superior, adoptando a partir de este punto una disposición y distribución horizontal en la zona superficial del córtex, con ramas terminales de trayecto recurrente y profundas (Figs. 47, 49 y 50).



Las **ramas colaterales secundarias** nacen profundamente a las ramas primarias. Tienen un origen en ángulo agudo y un trayecto oblícuo hacia la profundidad. Estas arterias dan sus ramas terminales en la zona media de la corteza cerebral. La terminación puede ser directamente en forma de ramillete (en el caso de las de origen más superficial y trayecto más corto), o bien, después de dividirse en una rama más profunda, que sigue la dirección del vaso principal durante una longitud media de  $250\mu$ , y en una rama de trayecto recurrente y corto (Fig. 51).

b.- Ramas terminales.

Las ramas terminales de las arterias corticales medias se desprenden en forma de ramillete o en Y invertida. Estas ramas se distribuyen en una franja horizontal que se extiende de las 1000 y las 1200  $\mu$  de profundidad, mediante vasos cortos recurrentes y vasos oblicuos hacia la profundidad (Fig. 47).

La presencia de anillos plásticos en el trayecto de las arterias corticales medias era frecuente, formando un manguito que envolvía el molde vascular de forma prácticamente ininterrumpida hasta su división terminal (Figs. 47, 48, 49 y 50).

**3.6.3.- Arterias corticales largas (A3).**

Las arterias corticales del grupo 3 son vasos que alcanzan, a través de sus ramos terminales, la zona más profunda del córtex (2 - 2,5mm). Son vasos que tienen un diámetro medio de  $65\mu$ , destacando claramente de las arterias corticales

de los grupos 1 y 2 (Fig. 52).

a.- Ramas colaterales.

Las ramas colaterales de las arterias corticales largas las hemos clasificado en primarias, secundarias y terciarias, dependiendo de su morfología y nivel de origen en relación a la profundidad del córtex. Sin embargo, no en todos los casos hemos observado la presencia de todos los tipos de colaterales, siendo las más frecuentes las arterias colaterales de tipo secundario y terciario. En la mayor parte de los casos su calibre era superior al de las ramas colaterales de las arterias corticales cortas y medias

Las **ramas colaterales primarias** son vasos que tienen un diámetro que oscila entre las 20 y las 25 $\mu$ , y que se originan en la zona superficial del córtex, entre las 300 y las 500 $\mu$  de profundidad. A nivel de su origen pueden formar un ángulo agudo o un ángulo recto con respecto al eje del vaso principal, tras el cual describen un trayecto horizontal. Estas arterias pueden presentar en ocasiones alguna rama colateral que, al igual que su rama terminal, se introduce verticalmente en el estrato superficial donde da sus ramas terminales.

Ocasionalmente las ramas colaterales primarias pueden tener un trayecto oblicuo con ramas colaterales recurrentes que se distribuyen en la zona más superficial del córtex (Fig. 52).

En un caso observamos una rama primaria de gran longitud, que tenía un diámetro aproximado de 50 $\mu$ . Esta rama colateral tenía un trayecto

paralelo a la superficie y describía un arco de donde emergían ramas terminales entre  $27\mu$  y  $37\mu$  de diámetro, que alcanzaban la zona más profunda del córtex.

Las **ramas colaterales secundarias** pueden adoptar dos tipos de morfología.

- Ramas secundarias del tipo 1 (Fig. 53): Son vasos colaterales que se originan a nivel de la zona media del córtex, entre 0,6mm y 1mm, de profundidad) formando un ángulo agudo de  $30^\circ$  con el vaso principal. Su diámetro oscila entre las 25 y las  $40\mu$ . Tienen un trayecto inicial de 50 a  $100\mu$  oblicuo hacia la profundidad, tras el cual dibujan una curva de concavidad superior iniciando así un trayecto recurrente. Mediante este recorrido hacia la superficie pueden alcanzar incluso la zona cortical situada a 400 -  $500\mu$  de profundidad, donde dan sus ramificaciones terminales. A lo largo de su recorrido ascendente emiten ramas colaterales de disposición horizontal que se distribuyen por la zona media del córtex.

De la convexidad de la curva que se describe en el trayecto inicial de estos vasos, nacen ocasionalmente ramas colaterales de distribución horizontal u oblicua hacia la profundidad (0,8 - 1,2mm) (Fig. 53).

- Ramas secundarias del tipo 2: Son ramas colaterales que tienen su origen más profundamente a las ramas secundarias del tipo 1. Nacen

en ángulo agudo con respecto al vaso principal. Su trayecto es horizontal dando ramas terminales recurrentes y profundas, ambas de corto trayecto (Fig. 54).

Las **ramas colaterales terciarias** son vasos que tienen su origen en la zona profunda del córtex cerebral, poco antes de la división del tronco principal en sus ramas terminales. Tienen un diámetro aproximado de  $20\mu$  y un trayecto horizontal u oblicuo hacia la profundidad, aunque en alguna ocasión hemos observado ramas terciarias de trayecto recurrente. Su división terminal se realiza en forma de ramillete en la zona más profunda del córtex (Fig. 52).

b.- Ramas terminales.

Las ramas terminales de las arterias corticales largas se desprenden en la zona más profunda del córtex (1,6 - 2mm), siguiendo la dirección del vaso principal o abriéndose en forma de Y invertida (Fig. 52). Su distribución es aproximadamente horizontal, abarcando un área circular alrededor del vaso principal.

La presencia de anillos plásticos era habitual en todo el trayecto de las arterias corticales largas hasta su división terminal, prolongándose alrededor de sus ramas colaterales de mayor diámetro (Figs. 52, 53 y 54).

**3.6.4.- Divisiones dicotómicas y trifurcaciones.**

En las zonas vasculares superficial y media de la corteza cerebral observamos

en ocasiones divisiones dicotómicas de los vasos penetrantes.

A nivel de la zona superficial estas bifurcaciones se encuentran entre las 500 y las 600 $\mu$  de profundidad, cuando se estudian los moldes de vasos corticales de gran calibre (90-100 $\mu$ ). Los vasos resultantes de este tipo de divisiones tienen un diámetro similar, que oscila entre las 38 $\mu$  y las 68 $\mu$ , y siguen un trayecto equivalente al de los vasos corticales medios o profundos.

En la zona media de la corteza se pueden también observar, aunque más infrecuentemente, este tipo de divisiones dicotómicas simétricas, cuyas ramas resultantes tienen un diámetro de 30 a 60 $\mu$ .

Los vasos penetrantes de mayor diámetro presentan en ocasiones divisiones en tres ramas al mismo nivel. Estas trifurcaciones se observan en la zona vascular superficial de la corteza cerebral, y dan lugar a ramas terminales que tienen un diámetro entre las 30 y las 40 $\mu$ .

### **3.6.5.- Arterias transcorticales.**

En el territorio dependiente de las arterias cerebrales anterior y media hemos observado con frecuencia la presencia de arterias transcorticales. La mayor parte de estos vasos se incurvaban al llegar a la zona yuxtacortical para seguir un trayecto aproximadamente paralelo a la superficie, en ocasiones en zig-zag y poco ramificado (Fig. 52). En algunos casos hemos observado la presencia de vasos transcorticales que seguían un trayecto largo perpendicular a la superficie u oblicuo, tras abandonar la zona vascular cortical profunda (Fig. 55). En su trayecto subcortical daban origen

a ramas colaterales de trayecto oblicuo hacia la profundidad, que a su vez se dividían en vasos precapilares verticales de trayecto recurrente o profundo (Figs. 55 y 56). Esta distribución vascular daba origen a una red capilar de vasos perpendiculares a la superficie, con anastomosis transversales y espacios aproximadamente rectangulares amplios, con distancias intercapilares que oscilaban entre las  $80\mu$  y las  $130\mu$  (Fig. 57).

### **3.7.- RELACIÓN DE LAS ARTERIAS CORTICALES CON LAS VENAS COLECTORAS DE LA CORTEZA CEREBRAL.**

Las venas de la corteza cerebral se manifiestan en los moldes de microcorrosión con una superficie más irregular que la de las arterias, y con algunos pliegues longitudinales a lo largo de su recorrido. El llenado de estos vasos se realiza a partir de la red capilar, desde la cual las venas postcapilares desembocan en ángulo recto en venas colectoras corticales (Fig. 58). Las venas colectoras ascienden hacia la superficie del córtex cerebral; tienen un trayecto perpendicular a la superficie y paralelo a las arterias corticales, aunque ambos vasos no se encuentran dispuestos de forma pareada, sino que están separados por un espacio intervascular que oscila entre las  $200$  y las  $300\mu$  (Fig. 58).

### **3.8.- IMÁGENES DE CONSTRICCIONES EN LOS MOLDES DE LAS ARTERIAS CORTICALES.**

A lo largo del trayecto de las arterias corticales hemos observado imágenes

de constricciones en la superficie de su molde vascular, que reducían el diámetro del vaso hasta en un 50%. Estas constricciones han sido observadas a diferentes niveles: en el origen de un vaso penetrante desde la red pial, en el origen de ramas colaterales, en situación previa o inmediatamente después del origen de ramas colaterales, o bien a lo largo del trayecto de una arteria cortical sin que guarden relación alguna con el origen de ramas colaterales.

Las constricciones aisladas no sólo se observan a lo largo del trayecto intracortical del vaso principal, sino que también están presentes a nivel de sus arteriolas terminales y vasos precapilares, con reducciones del diámetro vascular que pueden alcanzar hasta el 25% (ver apartado 4.4).

Figura 46. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se observa una arteria cortical corta (1), y la presencia de una rama colateral de distribución horizontal (2). En su trayecto se aprecian anillos plásticos (3).

Referencia 961207. Región: a. cerebral anterior. Barra: 150 $\mu$ .

Figura 47. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se muestra la distribución vascular de una arteria cortical media (1), con ramas colaterales (2) y ramas terminales (3). Nótese la presencia de anillos plásticos en el trayecto del vaso.

Referencia 961451. Región: a. cerebral posterior. Barra: 250 $\mu$ .



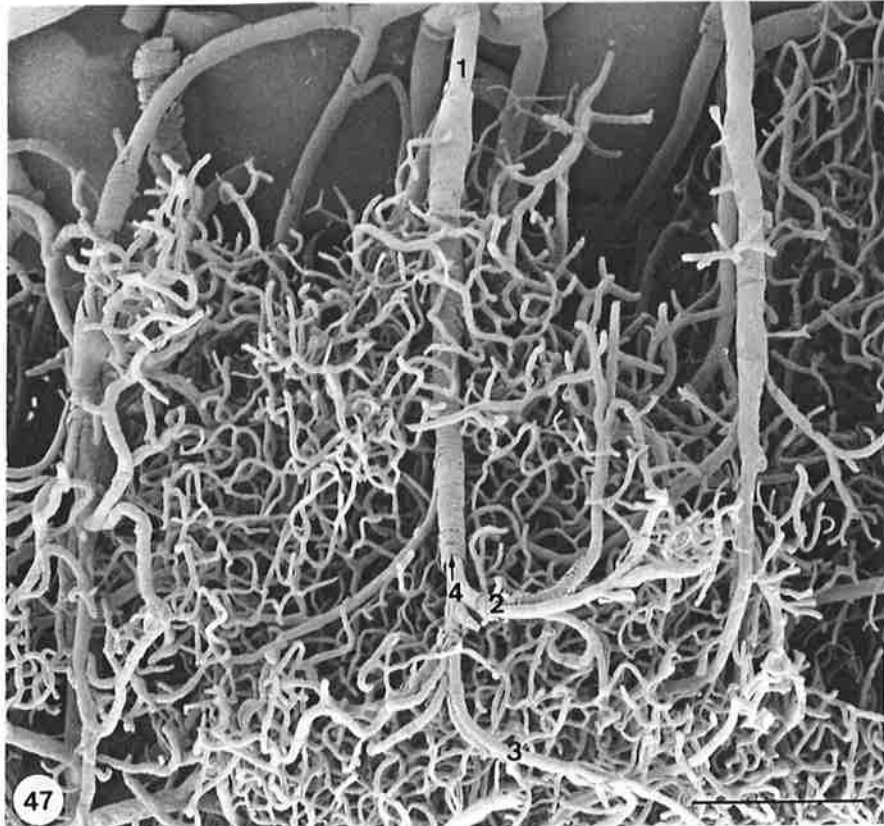
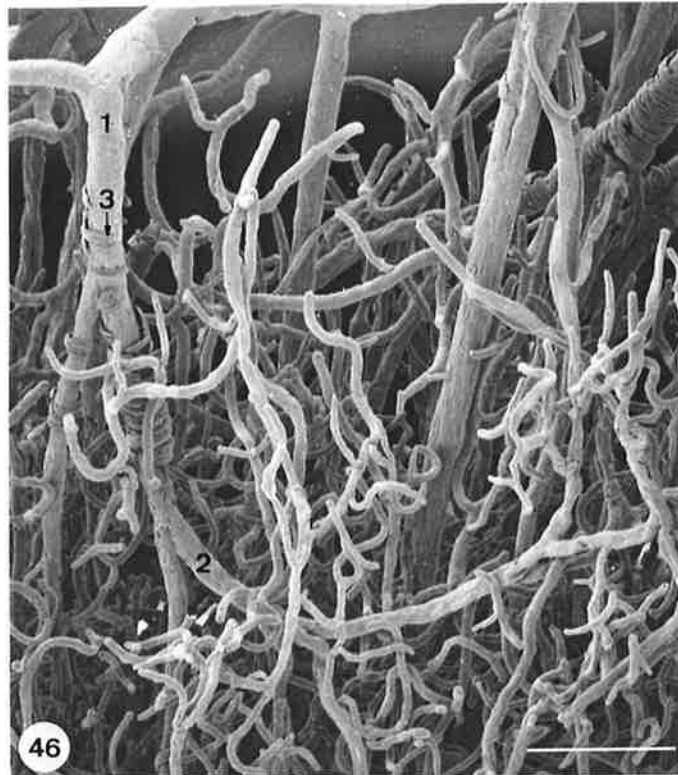


Figura 48. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa una arteria superficial de segundo orden (1), una vena superficial (2) y arterias corticales medias (3). Se destaca la presencia de ramas colaterales primarias de tipo 1 (4) procedentes de una arteria cortical media, así como la presencia de anillos plásticos en su trayecto (5).

Referencia 960355. Región: a. cerebral anterior. Barra: 190 $\mu$ .

Figura 49. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se observa una rama colateral primaria del tipo 2 (1), originada a partir de una arteria cortical media (2). Nótese la presencia de anillos plásticos en el trayecto de estos vasos (3).

Referencia 960276. Región: a. cerebral anterior. Barra: 100 $\mu$ .

Figura 50. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se observan arterias corticales medias (1) con abundantes anillos plásticos (2). Se aprecia una rama colateral primaria del tipo 2 (3), que da ramas terminales de trayecto recurrente (4) y profundo (5).

Referencia 961124. Región: a. cerebral anterior. Barra: 125 $\mu$ .

Figura 51. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, que muestra la distribución vascular cortical. Se observan arterias superficiales de segundo (1) y de tercer (2) órdenes, y arterias perforantes o corticales medias (3). Nótese la presencia de una rama colateral secundaria (4) de la arteria cortical media, terminando en una rama recurrente (5) y otra profunda (6).

Referencia 961535. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,75mm.

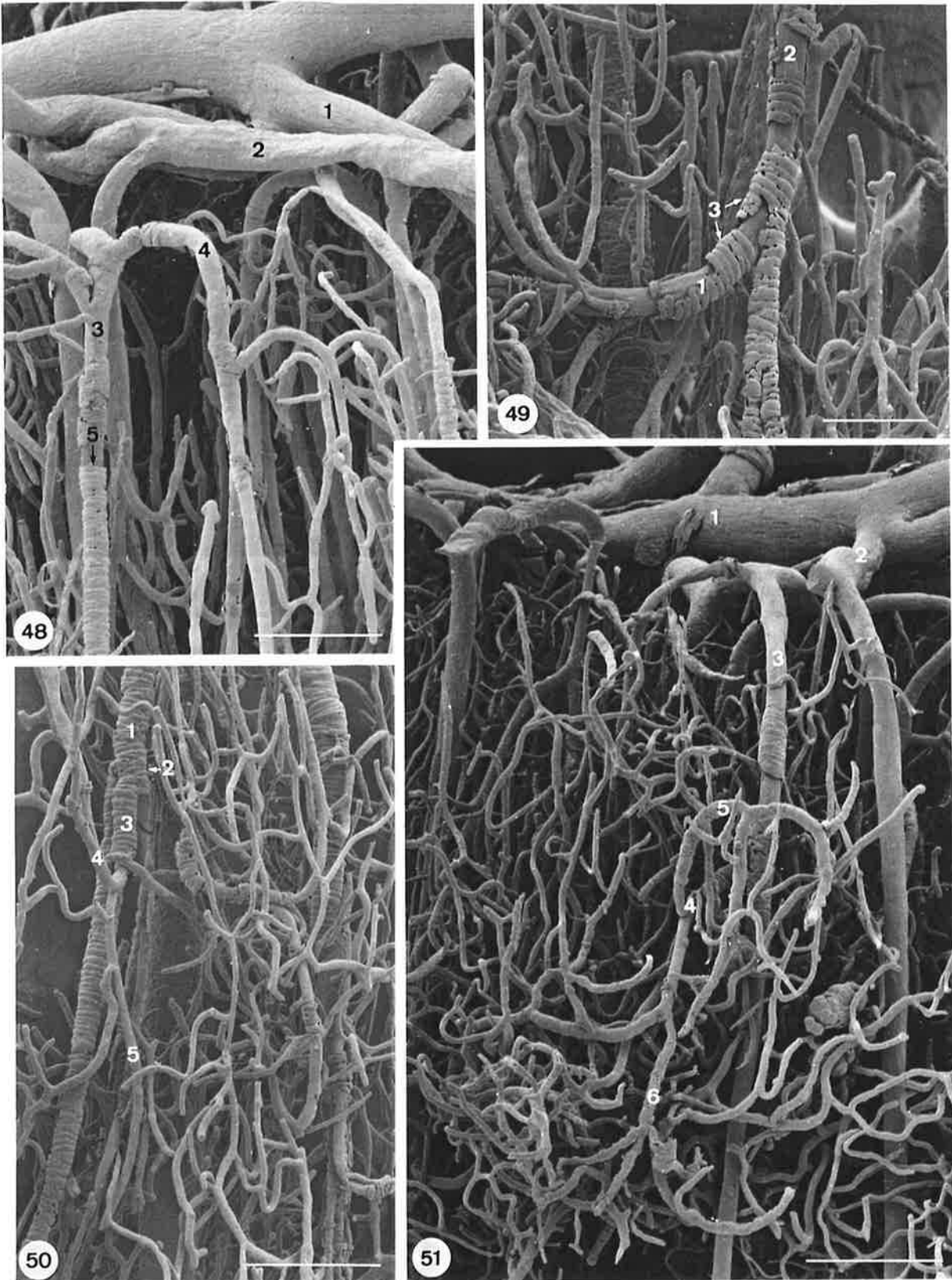


Figura 52. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, mostrando la distribución vascular de la corteza cerebral. Se observan arterias corticales medias (1), arterias corticales largas (2) y arterias transcorticales (3). Nótese la presencia de ramas colaterales primarias (4), secundarias (5) y terciarias (6), originadas en las arterias corticales largas, así como ramas terminales en la zona profunda del córtex.

Referencia 961761. Región: a. cerebral anterior. Barra: 500 $\mu$ .

Figura 53. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se muestra en detalle una rama colateral secundaria del tipo 1 (1) procedente de una arteria cortical larga (2). Nótese la presencia de anillos plásticos (3) en el trayecto de los vasos.

Referencia 961196. Región: a. cerebral anterior. Barra: 150 $\mu$ .

Figura 54. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se muestra una rama colateral secundaria del tipo 2 (1), procedente de una arteria cortical larga (2). Nótese la presencia de anillos plásticos (3) en el trayecto de los vasos.

Referencia 961934. Región: a. cerebral media. Barra: 125 $\mu$ .

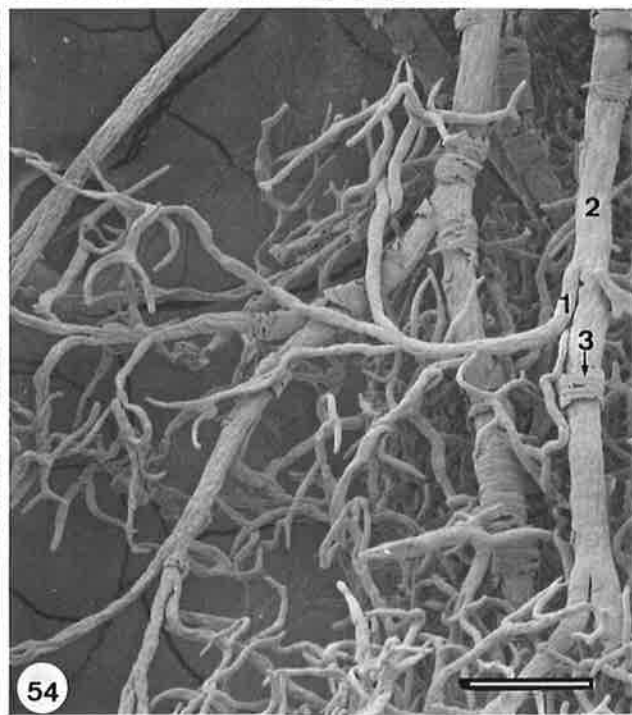
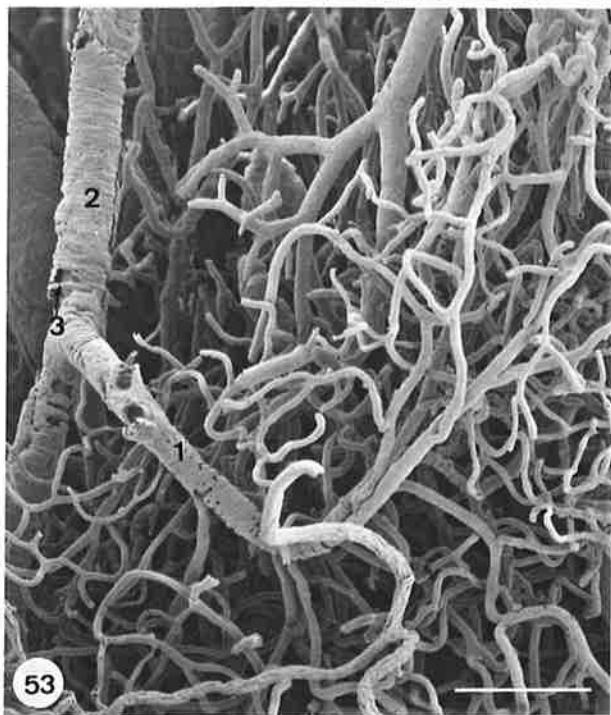
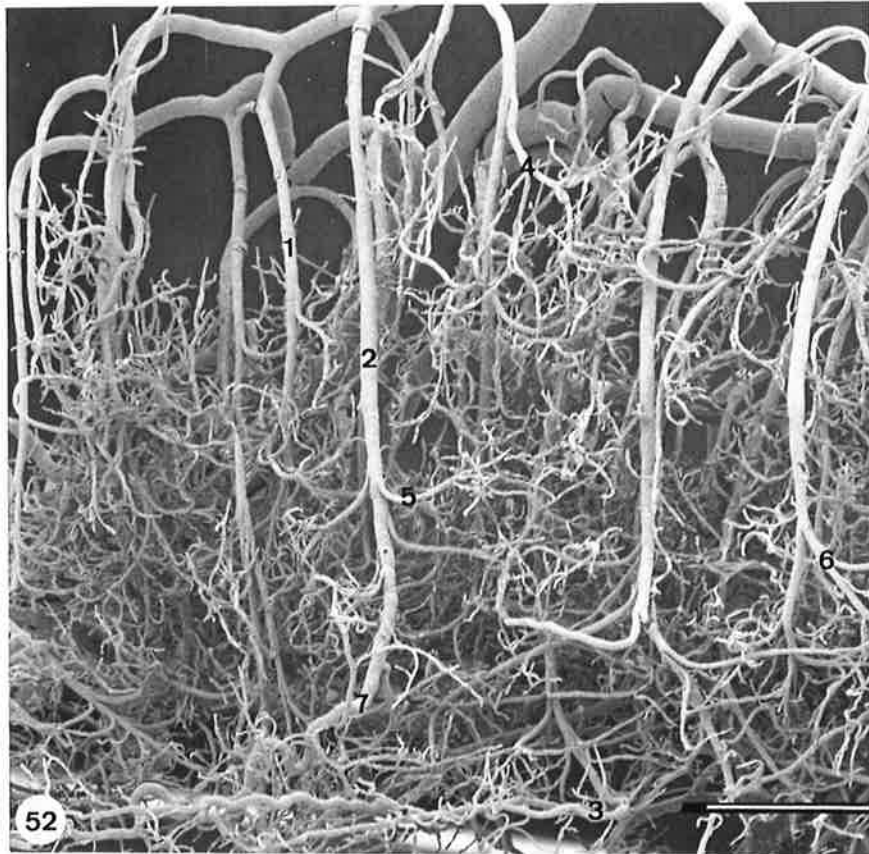


Figura 55. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, que muestra la distribución vascular subcortical. Se observa una larga arteria transcortical (1) que da ramas colaterales (2) de trayecto oblicuo hacia la profundidad.

Referencia 961360-1. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,75mm.

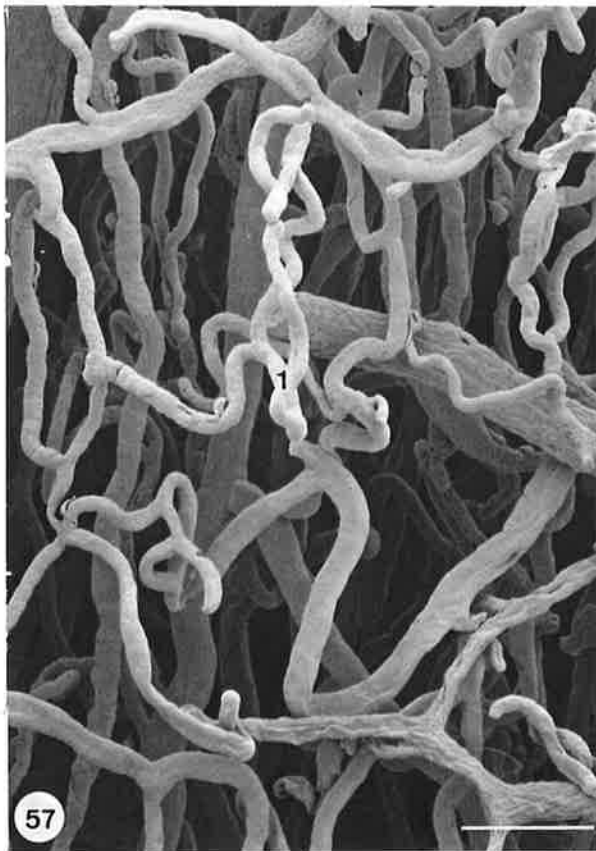
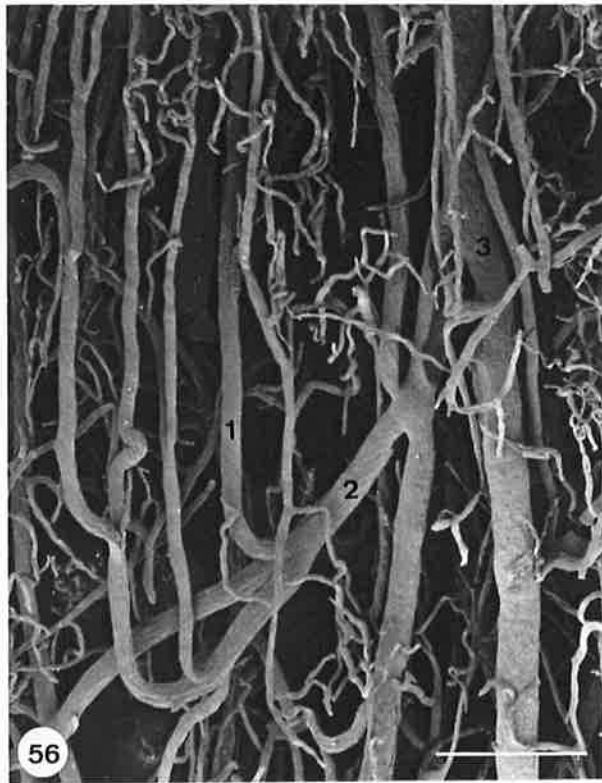
Figura 56. Detalle de la figura anterior, donde se aprecian los vasos recurrentes (1) de una rama colateral (2) de la arteria transcortical (3).

Referencia 961363.

Figura 57. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, para demostrar la red de vasos capilares (1) de la región subcortical.

Referencia 961377. Región: a. cerebral anterior. Barra: 0,75mm.





### 3.9.- DESCRIPCIÓN DE LA RED CAPILAR CORTICAL.

Las arterias corticales a través de sus ramas colaterales y terminales forman una red capilar localmente continua (Figs. 59 y 60). La gran densidad capilar de la corteza cerebral es un hecho que la diferencia notablemente de la menor densidad que se observa en los moldes de corrosión vascular a nivel de la sustancia blanca (Fig. 58).

La red capilar cortical está formada por vasos de un diámetro medio uniforme igual o inferior a las  $7\mu$ , que se distribuyen a lo largo de la corteza cerebral en cuatro zonas de disposición paralela a la superficie, y que hemos denominado: zona subpial, zona superficial, zona media y zona profunda (Fig. 58).

#### - Zona subpial.

Se trata de una franja horizontal de 150 a  $350\mu$  de espesor, que se sitúa inmediatamente por debajo de los vasos piales. Es una zona desprovista casi en su totalidad de vasos capilares, en la que los únicos vasos que se observan corresponden al trayecto inicial de las arterias corticales, que cruzan de forma perpendicular por esta zona para dirigirse hacia zonas vasculares del córtex más profundas (Fig. 61).

Ocasionalmente en algunos moldes de la zona subpial, hemos observado la presencia de vasos precapilares poco ramificados, con terminaciones ciegas. Se trataba de ramas colaterales de las arterias corticales que se originaban en el trayecto inicial de éstas. Tras un corto recorrido en la superficie se incurvaban para disponerse perpendicularmente a ésta. Estos



vasos tenían un trayecto intracortical corto e irregular, presentando siempre terminaciones ciegas de aspecto redondeado (Fig. 62)

En la zona profunda de esta franja de baja densidad vascular pueden encontrarse también algunos vasos capilares dependientes de prolongaciones hacia la superficie de capilares de la zona subyacente (Fig. 62).

**- Zona capilar superficial.**

La zona capilar superficial está formada por una red capilar que se extiende desde las  $400\mu$  hasta las  $1200\mu$  de profundidad (Fig. 58). Los capilares de esta zona se disponen paralelamente entre sí, y perpendicularmente a la superficie del córtex (Fig.63), con un trayecto rectilíneo y unidos por ramas anastomóticas transversales que forman una malla regular de espacios rectangulares o trapezoides abiertos, con distancias intercapilares medias de  $62\mu$ . A medida que nos aproximamos a la zona capilar media, las distancias intercapilares son más estrechas ( $30-40\mu$ ).

Los vasos que constituyen la zona capilar superficial proceden mayoritariamente de las arterias corticales cortas, y en menor medida de las ramas primarias, fundamentalmente las del tipo 1, de las arterias corticales medias. El diámetro medio de estos capilares era de  $6,25\mu$ , inferior al de los capilares de las zonas subyacentes media y profunda, así como el número de imágenes de estructuras periendoteliales que asemejan pericitos, que también era inferior.

Los moldes obtenidos de los capilares de esta zona muestran un aspecto

regular en su superficie, y era habitual la observación de impresiones nucleares que dejaban las células endoteliales (Fig. 64). Sin embargo, la mayor parte de los vasos de esta zona superficial presentaron terminaciones ciegas en los moldes. Dichas terminaciones eran regulares, de superficie redondeada y del mismo diámetro que el capilar que las precedía (Figs. 63 y 64).

**- Zona capilar media.**

Por debajo de la zona superficial, y separada de la misma por un espacio aproximado de  $150\mu$ , se observa en los moldes de corrosión una segunda franja de vasos capilares paralela a la superficie. Esta zona capilar, que hemos denominado zona media, es la de mayor anchura, alcanzando en algunos moldes las  $1600\mu$  de profundidad con respecto a la superficie (Figs. 58 y 62).

La red vascular de la zona capilar media del córtex está formada por capilares de trayecto sinuoso, horizontal u oblicuo (Figs. 65 y 66). Son vasos muy ramificados, que conforman una red continua donde los espacios intercapilares son más cerrados que en la zona superficial ( $35\mu$  aproximadamente).

Los vasos de dicha red capilar se originan a partir de las ramas colaterales secundarias y de las ramas terminales de las arterias corticales medias, así como de las ramas colaterales secundarias de los tipos 1 y 2 de las arterias corticales largas. El diámetro de estos vasos suele ser algo superior al de los capilares de la zona superficial, oscilando entre  $7,5\mu$  y

8,5 $\mu$ . Su superficie es regular y en ella se observan con mayor frecuencia imágenes periendoteliales que asemejan pericitos, en ocasiones con abundantes prolongaciones (Figs. 65 y 66).

Son también frecuentes en esta zona capilar la observación de algunos vasos capilares de superficie irregular, con depresiones y pliegues longitudinales.

**- Zona capilar profunda.**

Por debajo de la zona capilar media se observa una tercera franja capilar, paralela a la superficie. Esta zona está formada por vasos dispuestos mayoritariamente de forma horizontal (Fig. 67), que proceden de las ramas colaterales terciarias y las ramas terminales de las arterias corticales largas (Fig. 58). Es una red capilar continua que delimita espacios estrechos, de 20 a 30 $\mu$ , y que contrasta claramente con la red vascular de la zona subcortical.

En la zona capilar profunda se pueden también observar imágenes periendoteliales que asemejan pericitos, aunque con menor frecuencia que en la zona capilar media (Fig. 67).

Inmediatamente por debajo de esta zona capilar discurren vasos horizontales transcorticales, que en algunas ocasiones presentaban un característico trayecto en zig-zag (Fig. 68).

### 3.10.- CARACTERÍSTICAS REGIONALES DE LA RED CAPILAR.

Las características morfológicas de la red vascular arterial cortical no fue homogénea en los diferentes territorios de la corteza dependientes de las distintas arterias cerebrales.

Entre las diferencias encontradas destaca el diferente grosor de la red vascular cortical, que ha sido calculado mediante la medición de la distancia que existía entre la cara inferior de las arterias superficiales de segundo y tercer orden, y el inicio de la red vascular de la sustancia blanca, el cual está determinado por la disminución en la densidad vascular y por la incurvación de las arterias transcorticales. Los valores medios de dicho grosor se exponen en la tabla 1, donde se puede observar que el mayor grosor correspondió al córtex dependiente de la arteria cerebral anterior.

A. Cerebral anterior	A. Cerebral media	A. cerebral posterior
2,85 mm	2,35 mm	2,04 mm

Tabla 1.- Valores medios del grosor vascular cortical en los territorios de las diferentes arterias cerebrales.

La clasificación de la red capilar cortical en cuatro estratos fue observada en los diferentes territorios vasculares. Los valores medios del grosor de las diferentes zonas capilares se exponen en la tabla 2, donde se observa que la zona subpial es

siempre la más estrecha, así como el predominio de la zona capilar superficial en el territorio dependiente de la arteria cerebral anterior, y de la zona media en los territorios dependientes de las arterias cerebrales media y posterior.

	A. Cerebral Anterior	A. Cerebral Media	A. Cerebral Posterior
ZONA SUBPIAL	374 $\mu$	367 $\mu$	252 $\mu$
ZONA SUPERFICIAL	714 $\mu$	683 $\mu$	496 $\mu$
ZONA MEDIA	615 $\mu$	700 $\mu$	632 $\mu$
ZONA PROFUNDA	650 $\mu$	623 $\mu$	510 $\mu$

Tabla 2.- Valores medios del grosor de las distintas zonas vasculares corticales en los territorios de las arterias cerebrales.

Figura 58. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se observa la distribución vascular de la corteza cerebral. Se demuestra la presencia de venas corticales (1), en las cuáles desembocan venas postcapilares (2) en ángulo recto. Las venas ascienden paralelamente a las arterias corticales (3), aunque no de forma pareada. Las venas corticales terminan en las venas superficiales (4).

Referencia 961437. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,43mm.

Figura 59. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se muestra la red capilar de la corteza cerebral. Nótese la presencia de vasos capilares (1) que forman una red capilar localmente continua.

Referencia 961200. Región: a. cerebral anterior. Barra: 50 $\mu$ .

Figura 60. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se aprecia la gran densidad de vasos capilares (1) de la corteza cerebral.

Referencia 961248. Región: a. cerebral anterior. Barra: 50 $\mu$ .

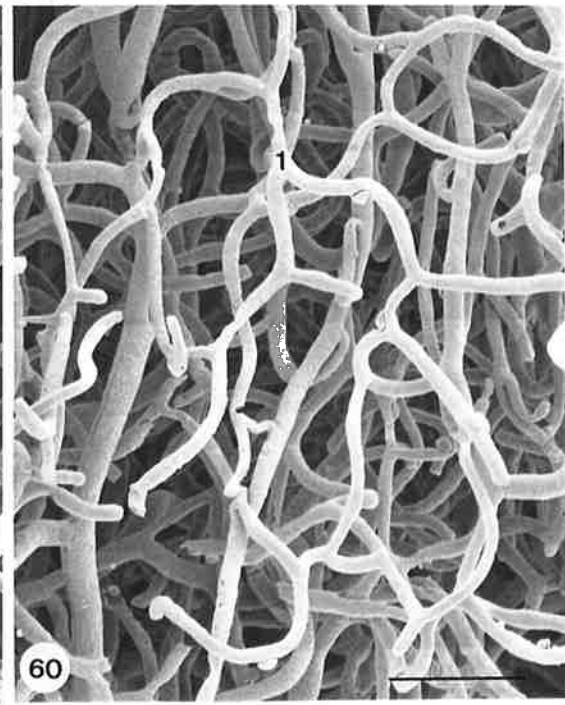
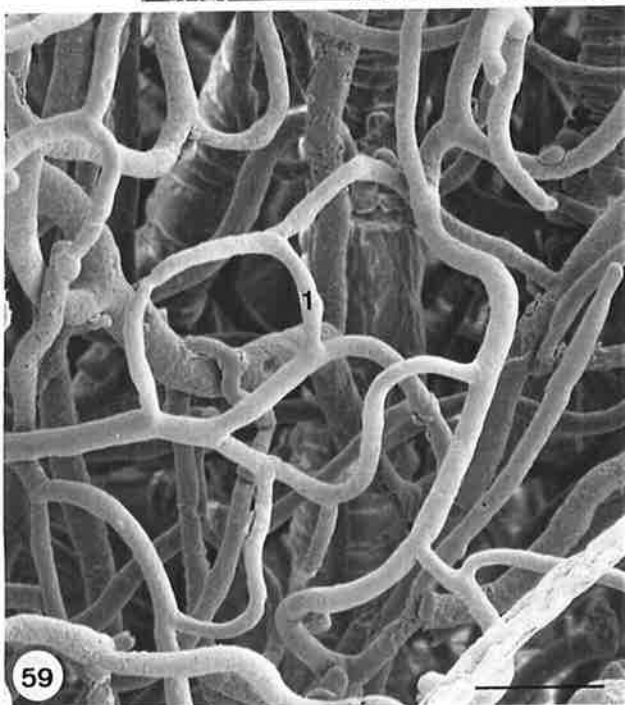
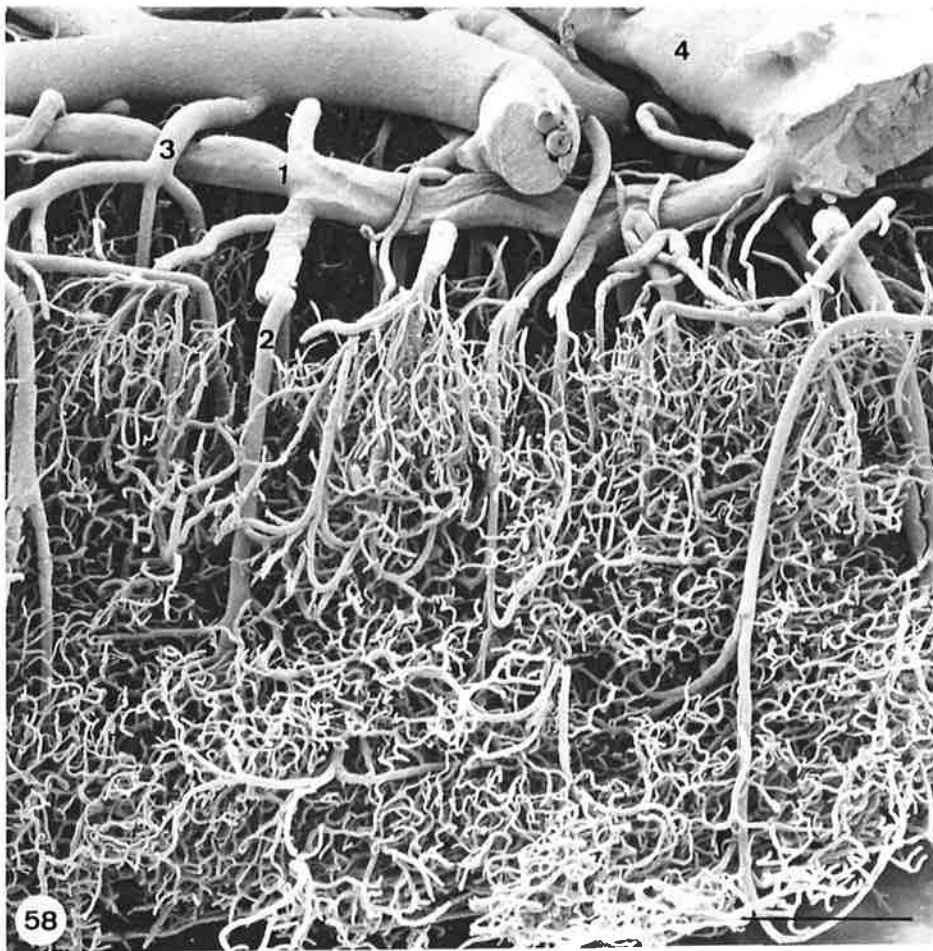


Figura 61. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona subpial (1) de la corteza cerebral. Esta zona está prácticamente desprovista de vasos capilares, y se encuentra atravesada por el trayecto inicial de las arterias perforantes o corticales (2). Se observan abundantes anillos plásticos (3) en el trayecto de las arterias corticales.

Referencia 962838. Región: a. cerebral anterior. Barra: 215 $\mu$ .

Figura 62. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la corteza cerebral. Se observan vasos precapilares (1) en la zona subpial, con terminaciones ciegas (2), que proceden de arterias corticales (3). Nótese también la presencia de venas corticales (4) y superficiales (5).

Referencia 961456. Región: a. cerebral posterior. Barra: 375 $\mu$ .



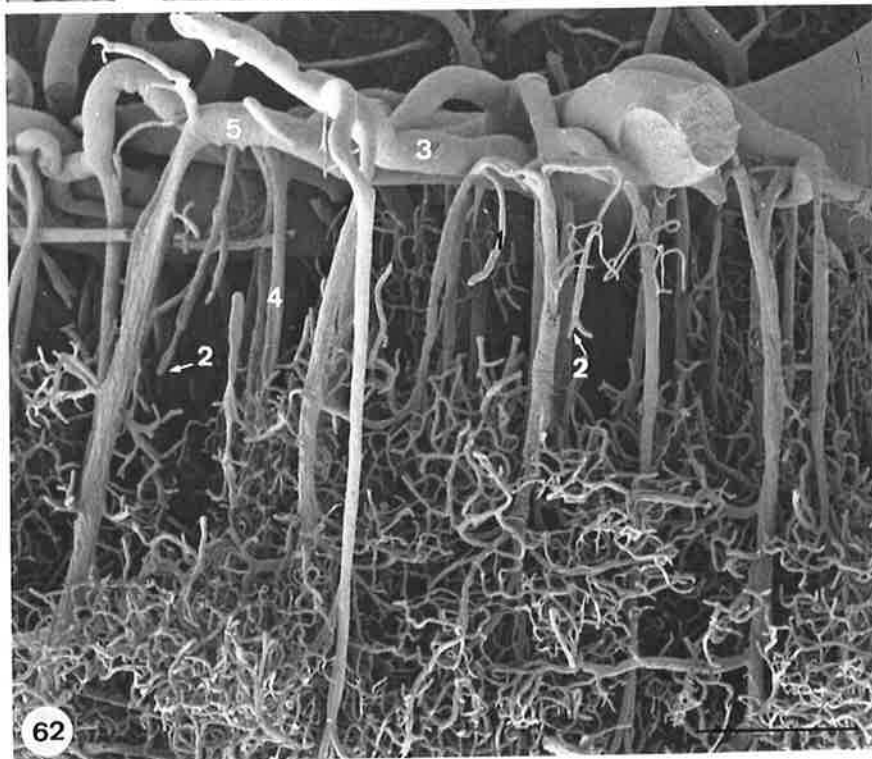
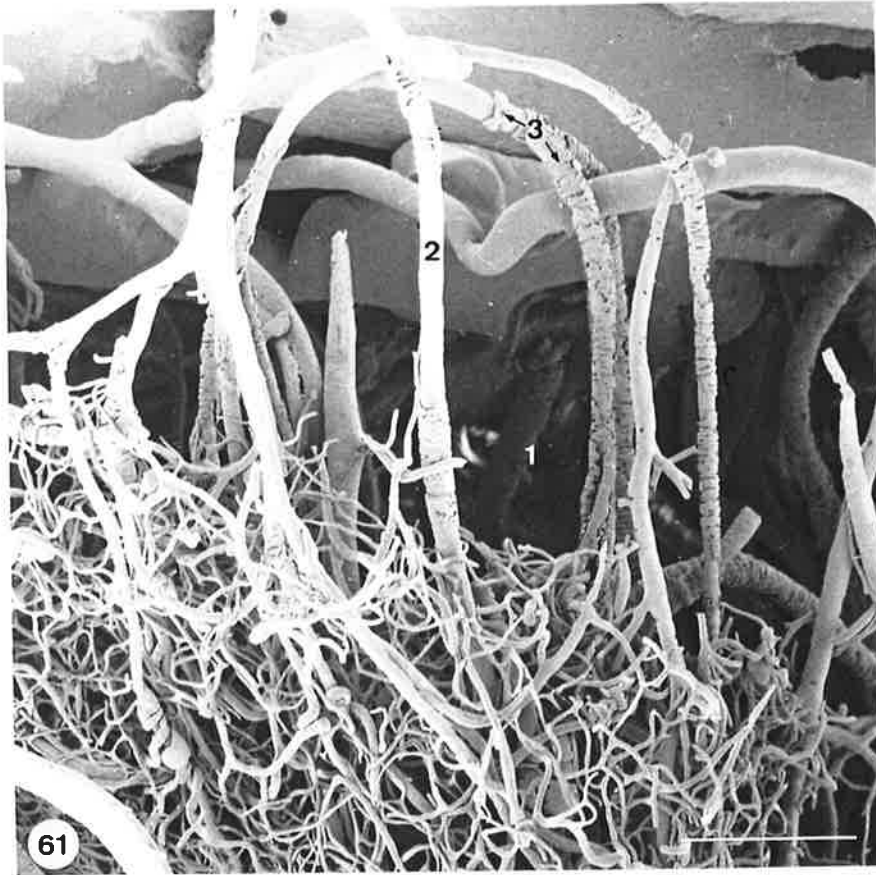


Figura 63. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona capilar superficial de la corteza cerebral. Se aprecian los vasos capilares (1) dispuestos verticalmente y unidos por anastomosis transversales (2). Nótese que muchos de los capilares tienen terminaciones ciegas (3).

Referencia 961483. Región: a. cerebral posterior. Barra: 135 $\mu$ .

Figura 64. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona capilar superficial de la corteza cerebral. Se observa la red de vasos capilares (1) comunicados entre sí, y también la presencia de terminaciones ciegas (2). Nótese las impresiones nucleares (3) en la superficie de los moldes.

Referencia 961341. Región: a. cerebral anterior. Barra: 50 $\mu$ .

Figura 65. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona capilar media de la corteza cerebral. Se destaca la densidad capilar, donde los vasos capilares (1) son de trayecto sinuoso, horizontal u oblicuo. Los vasos capilares están comunicados por anastomosis (2), y muchas terminaciones ciegas son por la sección del molde (3). Nótese la presencia de imágenes que asemejan pericitos en la superficie del molde (4).

Referencia 961489. Región: a. cerebral posterior. Barra: 37 $\mu$ .

Figura 66. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona capilar media de la corteza cerebral. Se destaca la densidad capilar, donde los vasos capilares (1) son de trayecto sinuoso, horizontal u oblicuo. Los vasos capilares están comunicados por anastomosis (2), y muchas terminaciones ciegas son por la sección del molde (3). Nótese la presencia de imágenes que asemejan pericitos en la superficie del molde (4).

Referencia J-960059. Región: a. cerebral anterior.

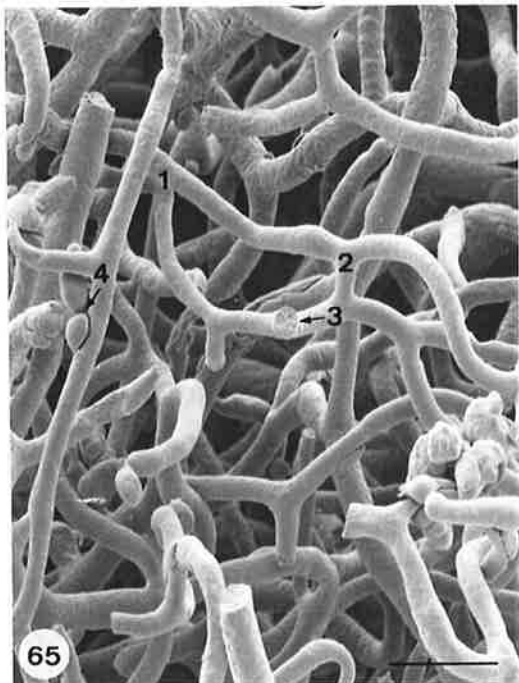
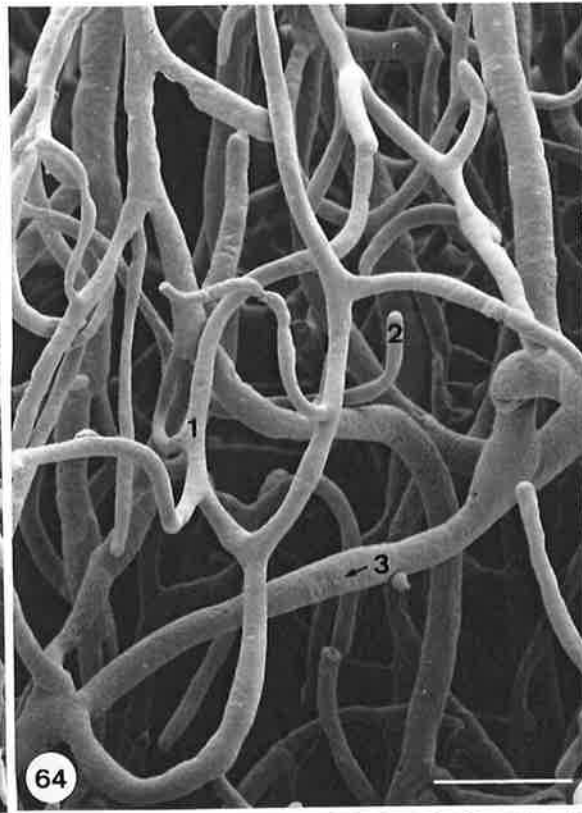
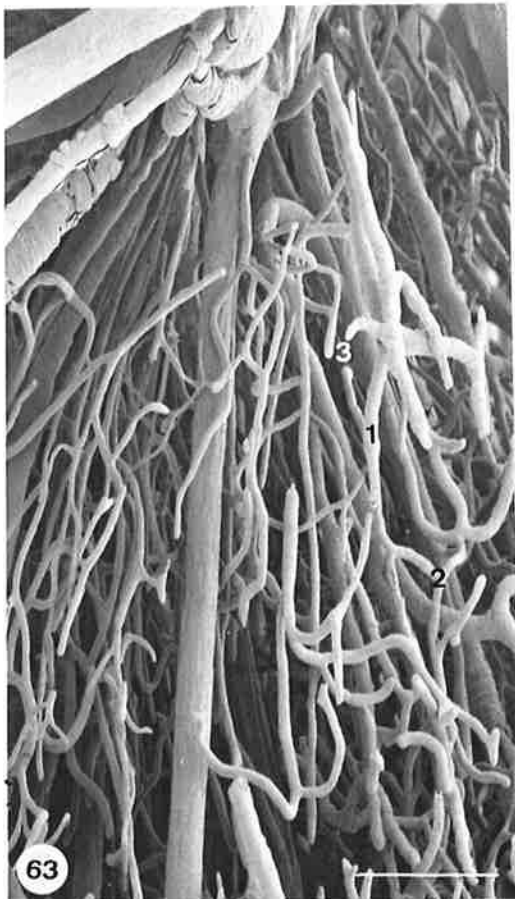
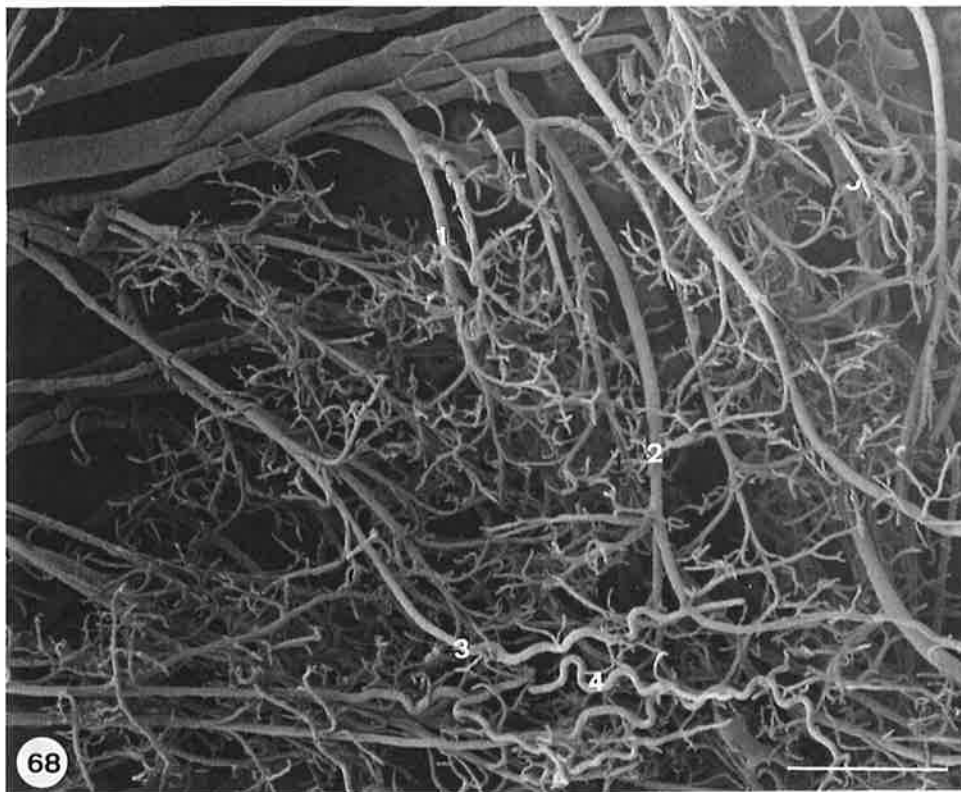
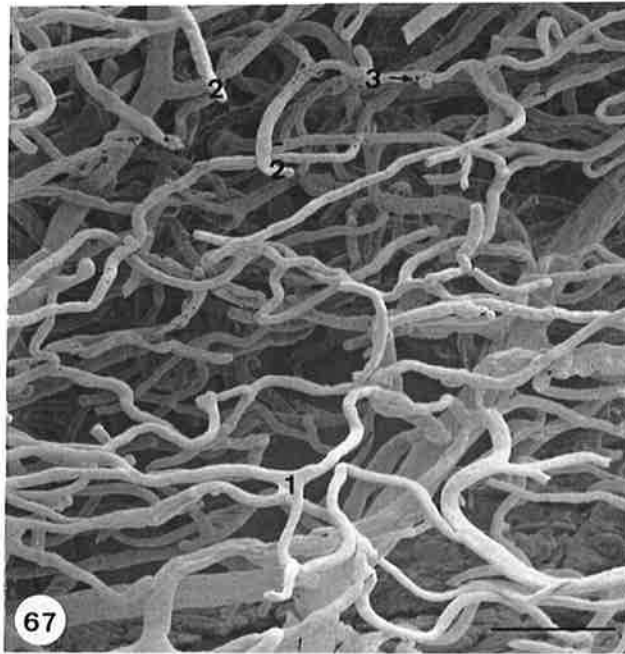


Figura 67. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la zona capilar profunda de la corteza cerebral. Se observan los vasos capilares (1) dispuestos mayoritariamente de forma horizontal. Nótese la presencia de terminaciones ciegas (2) y del escaso número de imágenes que asemejan pericitos (3) en la superficie de los moldes.

Referencia 962664. Región: a. cerebral anterior. Barra: 175 $\mu$ .

Figura 68. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observan arterias corticales medias (1), largas (2) y transcorticales (3). Estas últimas muestran un trayecto en zig-zag (4) en la región yuxtacortical.

Referencia 960491. Región: a. cerebral posterior. Barra: 0,6mm.



#### **4.- DESCRIPCIÓN DE ESTRUCTURAS ANEXAS AL MOLDE DE LA LUZ VASCULAR E IMÁGENES DE SUPERFICIE.**

El estudio de los moldes de microcorrosión vascular, mediante microscopio electrónico de barrido, nos demostró la presencia de estructuras e imágenes de artefactos que se situaban sobre la superficie del molde vascular o adyacentes al mismo, y que describimos en este apartado.

##### **4.1.- IMÁGENES RELACIONADAS CON LAS CÉLULAS ENDOTELIALES.**

En la superficie de los moldes de microcorrosión vascular hemos observado con frecuencia improntas o impresiones que se corresponden con detalles de la superficie luminal de las células endoteliales.

##### **4.1.1.- Impresiones provocadas por los núcleos de las células endoteliales.**

A lo largo de la superficie de los moldes vasculares se observan zonas deprimidas o huellas que se correlacionan con los núcleos de las células endoteliales, que hacen protusión sobre la luz vascular. Estas imágenes se hallan presentes a lo largo de todo el territorio arterial, tanto pial como cortical, a nivel de los vasos capilares, así como en el territorio venoso, sobre todo a nivel de las venas piales.

La morfología y el número de este tipo de impresiones es variable en función del tipo de vaso (arteria o vena) y del calibre del mismo.

### Arterias piales

Sobre la superficie de los moldes correspondientes a las arterias piales se observa una gran cantidad de impresiones nucleares. Son imágenes en forma de huso o de elipse alargada, que tienen un eje mayor de  $17\mu$  y un eje menor de  $4,5\mu$ . El espacio que separa dos impresiones contiguas es de 3 a  $5\mu$ . Están orientadas con su eje mayor dispuesto de forma paralela al eje principal del vaso, cambiando su orientación en el punto en el que se originan ramas colaterales. En estos puntos aparece una zona de transición en la que las impresiones nucleares cambian su eje mayor de forma progresiva, hasta quedar dispuestas de forma paralela al eje principal de la rama colateral (Fig. 69).

### Arterias y arteriolas corticales

Sobre la superficie de los moldes vasculares correspondientes a las arterias corticales se observan también numerosas impresiones nucleares. La densidad de estas imágenes es menor que en las arterias piales. Están siempre presentes en aquellas zonas en las que el molde vascular no se encuentra cubierto por anillos plásticos. Son impresiones en forma de elipse alargada, con un diámetro mayor de  $20\mu$  y un diámetro menor de  $4,5\mu$ . Están orientadas de forma paralela al eje principal del vaso y son algo más profundas que las que se observan a nivel de las arterias piales.

A nivel arteriolar las impresiones nucleares presentan una morfología ligeramente más redondeada ( $14,5\mu \times 5\mu$ ). El número de estas imágenes es algo

inferior que a nivel arterial y su distribución comienza a ser más irregular con zonas de condensación y zonas de baja densidad de las mismas. Su disposición sigue siendo paralela al eje principal del vaso.

### Arteriolas precapilares

A nivel de las arteriolas precapilares las impresiones nucleares son más redondeadas con un diámetro mayor de  $11,5\mu$  y un diámetro menor de  $6,5\mu$ .

### Capilares

En los moldes vasculares de los vasos precapilares y capilares las imágenes de impresiones nucleares del endotelio tienen una morfología circular o ligeramente elíptica. El diámetro medio de estas imágenes es de  $8\mu$  siendo uniforme a lo largo de todo el territorio capilar (Fig. 70). Su distribución es irregular, y en el caso de presentar una morfología elíptica no están siempre orientadas de forma paralela al eje principal del capilar. Las impresiones nucleares fueron observadas siempre en aquellas zonas de la superficie de los moldes de capilares que no se encontraban cubiertas por imágenes perivasculares que asemejan pericitos (Fig. 70).

### Vénulas postcapilares y venas colectoras

Los moldes correspondientes al territorio venoso se caracterizaban por una superficie más irregular en la que se observaban impresiones nucleares circulares o alargadas profundas, de unas  $7,5\mu$  de diámetro, y de disposición aleatoria con



respecto al eje principal del vaso (Fig. 71). Además, los moldes del territorio venoso se caracterizaban por la presencia de dilataciones triangulares o trapezoidales a nivel de sus divisiones.

### Venas piales

En los moldes vasculares correspondientes a las venas piales, hemos observado ocasionalmente la presencia de impresiones nucleares. Las imágenes de núcleos del territorio venoso superficial son menos frecuentes que en el territorio arterial. Tienen una forma redondeada, encontrándose distribuidas de forma irregular, a modo de agrupaciones de núcleos (Fig.72).

El estudio de la red capilar de la corteza cerebral mediante tinción inmunocitoquímica de la membrana plasmática de las células endoteliales ha permitido comprobar la continuidad del endotelio capilar. Las imágenes de la pared de los capilares corticales cerebrales se muestran como estructuras continuas, con ausencia de fenestraciones, que son frecuentes en otros tejidos (Fig. 73). Las imágenes correspondientes a secciones transversales de estos vasos demuestran la continuidad del endotelio capilar, así como las estrechas uniones intercelulares entre células endoteliales (Fig. 74).

Durante la observación de estas muestras se puso de manifiesto la presencia de imágenes frías, de morfología redondeada o elíptica, que correlacionamos con los núcleos de las células endoteliales. Estas imágenes se encuentran a lo largo de todo el capilar, con un tamaño aproximado de  $8\mu \times 5\mu$  (Fig. 75). Suelen estar dispuestos

a un lado y a otro del capilar, ocupando más de un 50% de su diámetro.

#### **4.1.2.- Impresiones de las uniones entre células endoteliales.**

En la superficie de algunos moldes vasculares hemos observado de forma ocasional una serie de surcos que dibujan sobre el molde una red a modo de mosaico, en cuyos espacios se sitúan las impresiones nucleares de las células endoteliales (Fig. 76). Se trata de canales muy estrechos ( $0,3 - 0,5\mu$ ) y poco profundos, de trayecto rectilíneo y anchura uniforme, que forman un mosaico de espacios fusiformes o trapezoidales. La morfología y disposición de estas impresiones concuerdan con los límites de las células endoteliales. No se observan puentes de resina que unan los espacios contiguos del mosaico, ni ningún otro tipo de interrupciones de los surcos (Figs. 76 y 77).

Figura 69. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa la superficie del molde de una arteria superficial (1) de la red pial y de una rama colateral (2) de la misma. Se destacan las abundantes imágenes en forma de huso o de elipse alargada (3) orientadas según el eje longitudinal del vaso, y que se corresponden con impresiones de los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 960888. Región: a. cerebral media. Barra: 115 $\mu$ .

Figura 70. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, que muestra vasos capilares. Nótese la presencia de impresiones circulares en la superficie del molde (1) correspondientes a impresiones de los núcleos de las células endoteliales, y la presencia de una imagen que asemeja un pericito (2).

Referencia 961698. Región: a. cerebral anterior. Barra: 12,5 $\mu$ .

Figura 71. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observan vénulas postcapilares (1) en cuya superficie se marcan profundas impresiones de morfología circular (2) o alargada (3) que corresponden a impresiones de los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 953703. Barra: 21,5 $\mu$ .

Figura 72. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de la red vascular pial. Se observan arterias superficiales con impresiones correspondientes a núcleos de las células endoteliales (1) y anillos plásticos (2). La vena superficial (3) muestra impresiones redondeadas (4) distribuidas irregularmente en su superficie, y que corresponden también a impresiones de los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 961478. Región: a. cerebral posterior. Barra: 60 $\mu$ .

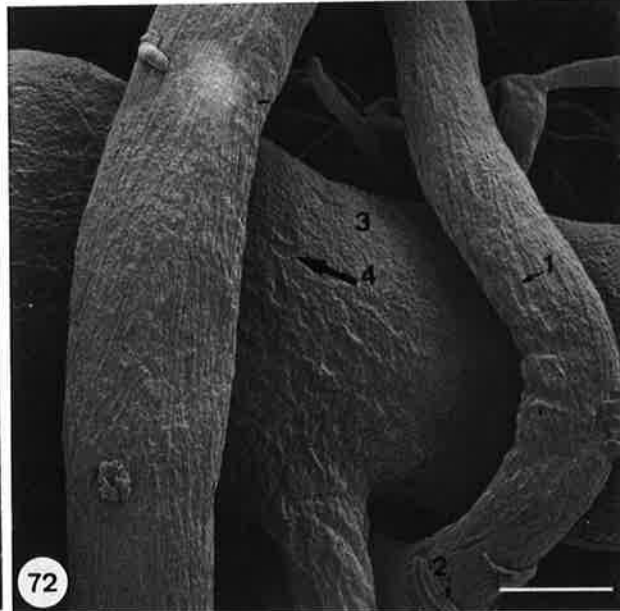
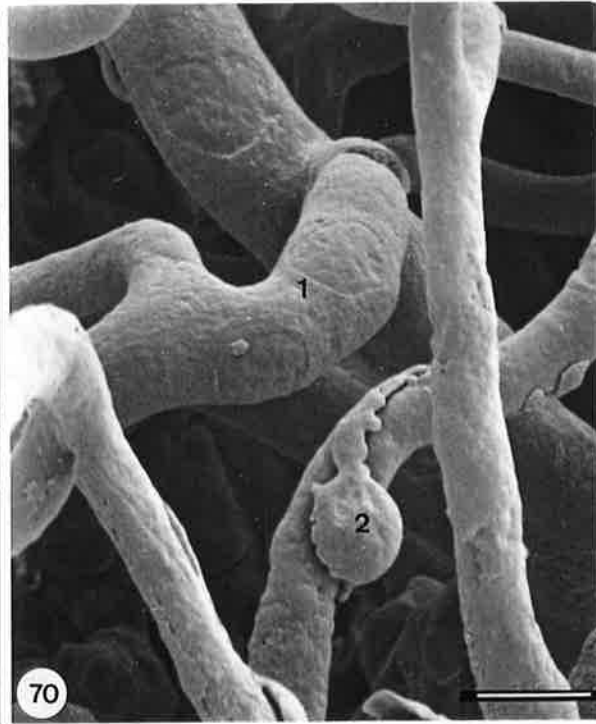
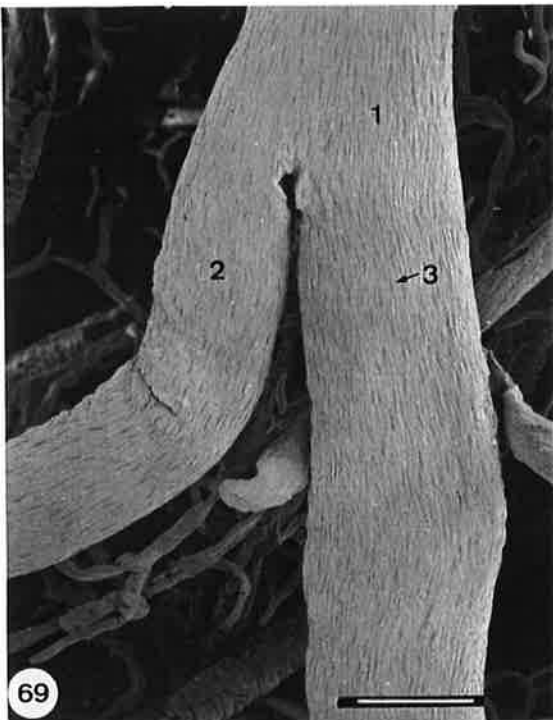


Figura 73. Imagen correspondiente a capilar de la corteza cerebral, previa tinción inmunocitoquímica del endotelio y visualización mediante microscopio láser confocal, en la que se observa la continuidad de las células endoteliales.

Referencia 62.5 TIF. Barra: 20 $\mu$ .

Figura 74. Imagen correspondiente a una sección transversal de un capilar cortical, previa tinción inmunocitoquímica del endotelio y visualización mediante microscopio láser confocal. Nótese la ausencia de fenestraciones y las uniones entre células endoteliales (1).

Referencia 64.0 TIF.

Figura 75. Visión longitudinal de un vaso capilar cortical, previa tinción inmunocitoquímica del endotelio y visualización mediante microscopio láser confocal. Nótese la continuidad de dicho endotelio y la presencia de zonas ovaladas frías (1), correspondientes a los núcleos de las células endoteliales.

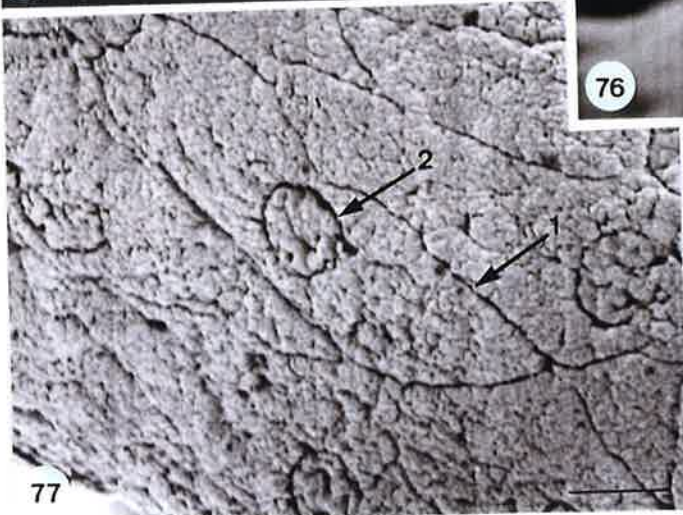
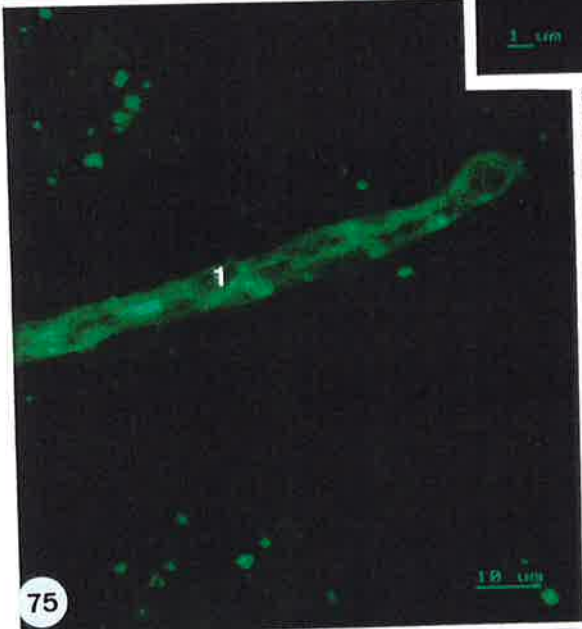
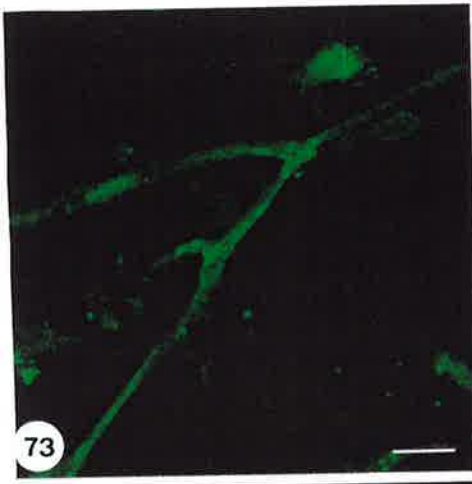
Referencia 53.0 TIF.

Figura 76. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se observa la superficie del molde de una arteria cortical, donde se marcan una serie de surcos (1) que dibujan una red a modo de mosaico. En los espacios delimitados por los surcos se encuentran impresiones redondeadas (2) que corresponden a los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 954493. Región: a. cerebral anterior. Barra: 21 $\mu$ .

Figura 77. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, que muestra con mayor detalle los surcos (1) y las impresiones nucleares (2) de la superficie del molde vascular.

Referencia 954497. Región: a. cerebral anterior. Barra: 9 $\mu$ .



#### 4.2.- ANILLOS PLÁSTICOS ANEXOS AL MOLDE VASCULAR.

Un segundo tipo de estructuras que hemos observado en los moldes de microcorrosión vascular son los denominados anillos plásticos. Los anillos plásticos son artefactos perivasculares de morfología anular, es decir, estructuras formadas por la propia resina que se encuentran dispuestas de forma anexa al molde del lumen vascular. Se localizan a lo largo del trayecto de las arteriolas corticales (Fig. 78), siendo infrecuentes en las arterias piales, e inexistentes en los vasos capilares y en las venas colectoras del córtex.

##### Morfología

La morfología de los anillos plásticos sigue un patrón que se repite a lo largo del trayecto de las arterias corticales. Individualmente tienen forma de huso o de anillo, aunque generalmente se manifiestan agrupados alrededor del molde vascular de las arteriolas. Los extremos de estas formaciones se intercalan unos con otros formando un manguito generalmente simple que recubre por completo el molde vascular (Fig. 78). Pueden presentar bifurcaciones a nivel de sus extremos, cuyas ramas siguen la orientación del eje principal, intercalándose entre anillos contiguos. Estas imágenes de bifurcación se observan con mayor frecuencia a medida que disminuye el diámetro del molde vascular (Fig. 79), mientras que en las arterias de mayor calibre su morfología es fusiforme y sin ramificaciones. En algunas ocasiones se han observado recubrimientos de anillos plásticos dispuestos en dos estratos, uno profundo y el otro superficial. Estas imágenes eran más frecuentes en vasos arteriales cuyo diámetro oscilaba alrededor de las  $60\mu$  (Figs. 79 y 83). La anchura máxima de los anillos plásticos es de  $6,5 - 8\mu$ , y coincide generalmente con su zona

central. Esta medida es variable, siendo más homogénea en las arterias de gran diámetro. En estas arterias la morfología era predominantemente fusiforme, mientras que a medida que disminuye el diámetro del molde vascular predominan las formas anulares con una mayor heterogeneidad de su diámetro transversal (Fig. 79). Los anillos plásticos forman estructuras anulares que envuelven de forma completa el molde vascular en las arteriolas de menor diámetro (Fig. 80). Sus extremos suelen ser estrechos, quedando interpuestos entre anillos plásticos adyacentes.

Entre anillos plásticos contiguos existe una pequeña hendidura de separación, de  $1,5 - 2\mu$ , que se extiende a lo largo de toda su longitud. Sin embargo, este espacio se encuentra interrumpido en algunos lugares por la presencia de estrechos puentes de resina que unen anillos plásticos contiguos (Fig. 81). Las comunicaciones presentan un diámetro de  $1 - 1,5\mu$ , aunque en ocasiones podían ser más amplios, alcanzando las  $3\mu$ . Estas comunicaciones pueden presentarse en forma de agrupaciones, especialmente a nivel de los extremos de los anillos plásticos. No obstante también pueden aparecer de forma aislada en cualquier punto de su longitud (Figs. 81 y 83). Ocasionalmente los puentes de resina entre anillos unen estructuras no contiguas, estableciéndose una comunicación sobre la superficie de otros anillos.

En algunas ocasiones hemos observado improntas alargadas, de  $14\mu \times 4\mu$ , sobre la superficie de los anillos plásticos (Fig. 82).

En los cortes transversales de moldes vasculares que presentan en su superficie anillos plásticos se observa la morfología anular concéntrica al molde vascular del conjunto de estas estructuras, así como el hecho de que existe un espacio de separación uniforme, de  $3 - 4,5\mu$ , entre la superficie del molde y la cara



profunda de dichos anillos, y que hemos denominado espacio perivascular  $\alpha$  (Fig. 84).

En el espacio perivascular  $\alpha$  se observa únicamente la presencia de puentes de resina filiformes que unen de forma perpendicular la superficie del molde vascular con la cara profunda de algunos anillos plásticos, generalmente situados a nivel de sus extremos. Se trata de estrechas comunicaciones rectilíneas, de 0,3 - 0,8 $\mu$  de anchura, que tienen una longitud equivalente al espacio  $\alpha$ . En algunos casos esta longitud era algo superior debido a su trayecto oblicuo (Figs. 85, 86 y 87).

En aquellos segmentos del molde vascular en los que la ausencia de anillos plásticos permitía la observación de la superficie del molde, se apreciaban también las impresiones nucleares correspondientes a las células endoteliales, como signo de una buena replección vascular (Fig. 82).

En algunas ocasiones se han observado formaciones laminares de resina, de superficie lisa, entre el molde vascular y los anillos plásticos.

El estudio del molde vascular mediante microscopio láser confocal, tras la inyección de la mezcla de Mercocox® con naranja de acridina, ha permitido la observación a nivel arteriolar de imágenes de fluorescencia perivasculares en forma de huso de 3,5-6,5 $\mu$  de anchura (Figs. 88 y 89). El estudio por planos de estas muestras permitió observar la disposición anular de estas estructuras, alrededor del molde vascular (Figs. 90a y b). Generalmente, la presencia de estos anillos fluorescentes coincidía con una zona de disminución del diámetro de la luz vascular (Fig. 88).

La utilización del microscopio láser confocal y el estudio por planos pusieron en evidencia la existencia de estrechas comunicaciones fluorescentes, de una anchura aproximada de  $1,2\mu$ , entre la luz del vaso y dichas estructuras anulares perivasculares (Fig. 91). Asimismo, la utilización de diferentes filtros de captación de la fluorescencia de las muestras reveló la existencia de una doble emisión por parte de estas formaciones. Mientras que las  $3/4$  partes externas de dichas estructuras presentaban una emisión fluorescente de color verde, la zona más interna adyacente al endotelio vascular presentaba una emisión con una longitud de onda superior (Fig. 92).

Durante el procesamiento de muestras para estudio inmunohistoquímico del endotelio vascular, se utilizó como control positivo la incubación del tejido con un anticuerpo dirigido contra la isoforma  $\alpha$  de la actina, presente en la célula muscular lisa de la pared vascular. El estudio de estas muestras puso de manifiesto la validez del método de fijación y revelado, y permitió la observación de la pared de vasos de calibre entre  $25$  y  $30\mu$ . El estudio por planos de estos vasos mostraba la existencia de estructuras histológicas, de disposición anular, en la pared de dichas arteriolas. Estas estructuras presentaban una zona central dilatada y sendas prolongaciones estrechas en sus extremos (Figs. 93 y 94). La reconstrucción tridimensional de estas imágenes mostraba formaciones anulares muy similares a los anillos plásticos observados mediante microscopía electrónica de barrido alrededor de las arteriolas corticales.

#### Distribución y variaciones de la morfología de los anillos plásticos.

En los vasos arteriales de la red pial se han encontrado de forma ocasional

agrupaciones de anillos plásticos situados en la zona terminal de su trayecto superficial (Fig. 95), o bien en los arcos anastomóticos transversales que forman en superficie algunos vasos nutrientes antes de iniciar su trayecto propiamente intracortical (Fig. 96).

Sin embargo, la presencia de anillos plásticos en el trayecto superficial de las arterias piales fue ocasional. En cualquier caso, éstos no se presentaban en forma de agrupaciones anulares, sino en forma de pequeñas agrupaciones de 1 a 5 anillos plásticos fusiformes que raramente envolvían la totalidad del molde vascular (Fig. 95).

Los anillos plásticos se han encontrado de forma habitual a lo largo del trayecto de las arteriolas corticales. Aparecen en el momento en que estos vasos se incurvan en superficie para iniciar su trayecto intracortical, o bien a partir de los pilares de los arcos vasculares superficiales (Fig. 96). Forman un manguito que cubre de forma continua gran parte del trayecto de las arterias corticales medias y largas, siendo más infrecuentes y presentándose en forma de agrupaciones discontinuas a nivel de las arterias corticales cortas. A nivel de las arterias transcorticales, la presencia de anillos plásticos es esporádica, observándose sobre todo tras su incurvación en la zona yuxtacortical. A nivel de las bifurcaciones de las arteriolas corticales se observaron algunos anillos plásticos cuya morfología era variable, con formas transicionales que envolvían el origen de ambas ramas arteriales (Fig. 97).

A medida que disminuye el diámetro de las arterias corticales nutrientes, así como el de sus colaterales, el recubrimiento de anillos plásticos se hace discontinuo,

apareciendo en forma de agrupaciones de longitud decreciente y separadas por espacios libres de anillos cuya longitud aumenta hacia el territorio distal (Fig. 98). Estas variaciones de disposición de los anillos plásticos se acompaña de variaciones graduales en su morfología. Los anillos plásticos de las arteriolas terminales y del territorio precapilar son estructuras anulares no uniformes, en las que se observa una zona central más dilatada con bifurcaciones o trifurcaciones frecuentes en sus extremos (Fig. 99). Las ramas resultantes de estas divisiones siempre conservan su disposición perpendicular al eje principal del vaso, aunque a medida que nos aproximamos al territorio capilar se observan ramificaciones de orientación longitudinal u oblicua con respecto al eje del vaso.

Otra característica de los anillos plásticos del territorio precapilar fue un aumento del espacio de separación entre los mismos, así como una mayor presencia y mayor tamaño de las comunicaciones entre anillos contiguos.

En el origen de los vasos precapilares, a partir de arteriolas, hemos observado anillos plásticos que rodeaban por completo el molde vascular. Sin embargo, no hemos observado anillos plásticos en moldes de vasos precapilares de diámetro inferior a las  $13\mu$ .

#### Relación entre la presencia de anillos plásticos y constricciones del molde vascular.

En el trayecto de las arterias corticales hemos observado constricciones del molde vascular que estaban relacionadas con la presencia de anillos plásticos, es decir, la superficie de la constricción coincidía con una agrupación de anillos plásticos que la envolvían.

Estas constricciones se encuentran sobre todo en el origen de ramas colaterales de las arterias corticales, inmediatamente después de sus divisiones (Fig. 100), o bien a lo largo de su trayecto. La imagen que se observa, mediante microscopia electrónica de barrido, es una disminución del diámetro del molde vascular en la franja ocupada por los anillos plásticos, que suele acompañarse de una dilatación de dicho molde distal a la agrupación de anillos. La presencia del manguito envolvente de anillos plásticos alrededor de la constricción dificultó la valoración del porcentaje de disminución del calibre vascular.

Se han observado también constricciones del molde vascular en relación con anillos plásticos a nivel del origen superficial de las arterias corticales.

En algunas ocasiones hemos observado sobre la superficie del molde vascular la presencia de agrupaciones de pliegues transversales separados por surcos de  $4,5\mu$  de anchura aproximadamente. Estas imágenes se observaron en el trayecto inicial de algunas ramas colaterales de las arterias corticales, conservando sobre la superficie del molde la presencia de impresiones nucleares de las células endoteliales como signo de un correcto llenado vascular (Fig. 101).

Figura 78. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa una arteriola cortical (1) con ramas colaterales (2) que está recubierta de anillos plásticos (3). Nótese la presencia de impresiones de núcleos de las células endoteliales (4) en la zona desprovista de anillos plásticos.

Referencia 953396. Barra: 20 $\mu$ .

Figura 79. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en una arteriola cortical. Se observan abundantes anillos plásticos (1) en la superficie del molde, de morfología en huso y bifurcación en sus extremos (2).

Referencia 962564. Región: a. cerebral anterior. Barra: 13,5 $\mu$ .

Figura 80. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de una arteriola cortical de pequeño diámetro. Se observa el recubrimiento prácticamente completo del molde de la luz vascular por anillos plásticos (1), circulares y dispuestos en una sola capa.

Referencia 962563. Región: a. cerebral anterior. Barra: 15 $\mu$ .

Figura 81. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, que muestra en detalle las hendiduras de separación (1) y los puentes de resina (2) que existen entre anillos plásticos adyacentes (3).

Referencia J-960053. Región: a. cerebral media.

Figura 82. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa una arteriola cortical (1) que presenta anillos plásticos (2) e impresiones de núcleos de las células endoteliales (3) en su superficie. Nótese la impronta (4) que presenta uno de los anillos plásticos.

Referencia 961204. Región: a. cerebral anterior. Barra: 8,5 $\mu$ .

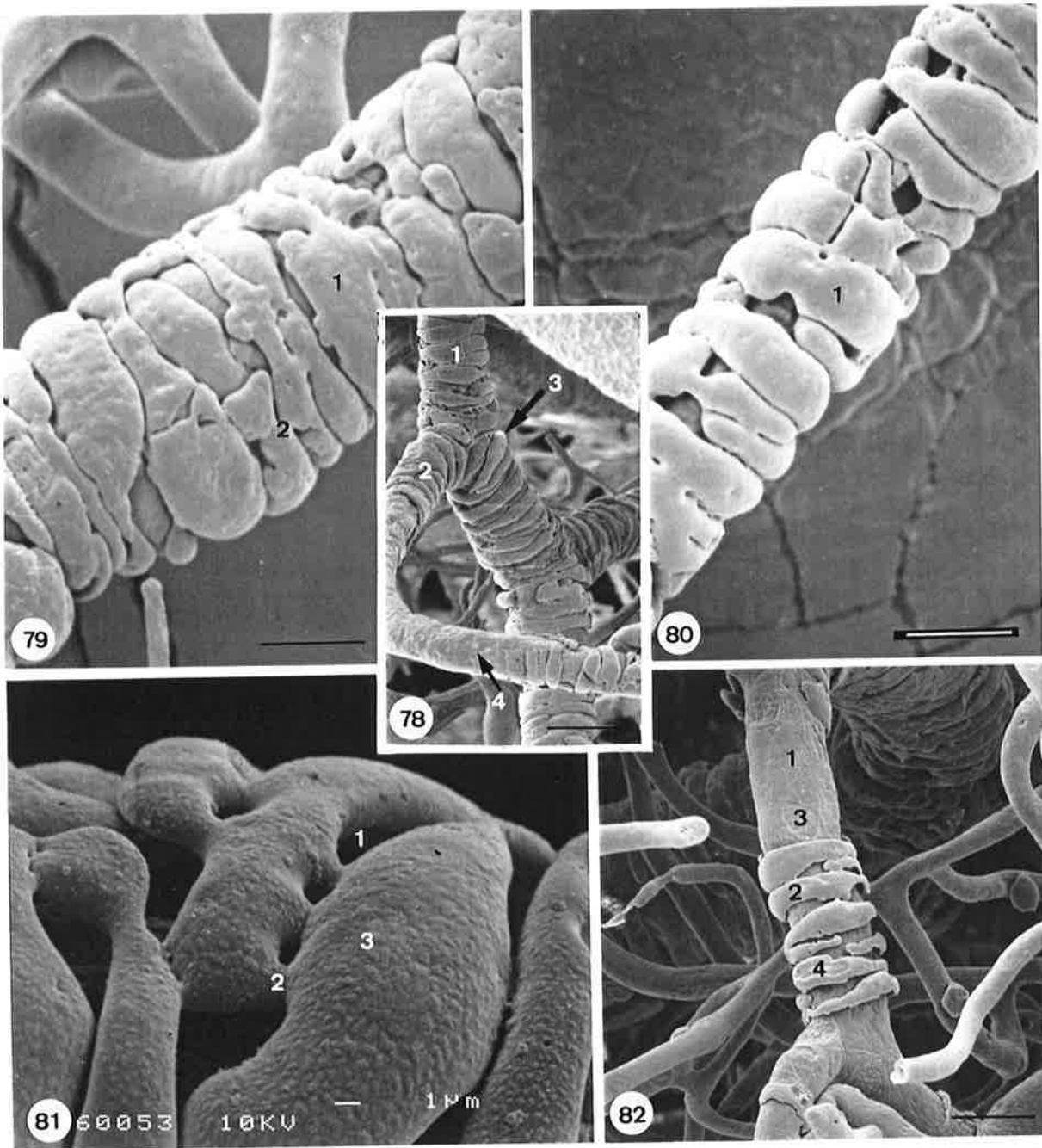


Figura 83. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox® de una arteria cortical. Se observan abundantes anillos plásticos que cubren el molde luminal del vaso. Los anillos se disponen en dos estratos, uno superficial (1) y otro profundo (2). Nótese también los puentes de resina (3) que unen anillos plásticos adyacentes.

Referencia 962702. Región: a. cerebral anterior. Barra: 12,5 $\mu$ .

Figura 84. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de una arteria cortical en sección transversal. Se observa el molde del lumen vascular (1) y el recubrimiento periférico de anillos plásticos (2). Nótese el espacio de separación (3) que queda entre ambas estructuras del molde (espacio perivascular  $\alpha$ ).

Referencia 962709. Región: a. cerebral anterior. Barra: 15,5 $\mu$ .

Figura 85. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Araldit®, de una arteria cortical. Se observan puentes de resina filiformes (1) que comunican el molde de la luz vascular (2) con anillos plásticos (3). Estos puentes se localizan en el espacio perivascular  $\alpha$  (4).

Referencia 950640. Región: a. cerebral posterior. Barra: 13,5 $\mu$ .

Figura 86. Detalle de la imagen 85.

Barra: 6 $\mu$ .

Figura 87. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Araldit®. Se muestran puentes de resina (1) que comunican el molde de la luz vascular de una arteria cortical (2) con anillos plásticos (3). Nótese el llenado parcial de los anillos.

Referencia 950643. Región: a. cerebral posterior. Barra: 15 $\mu$ .



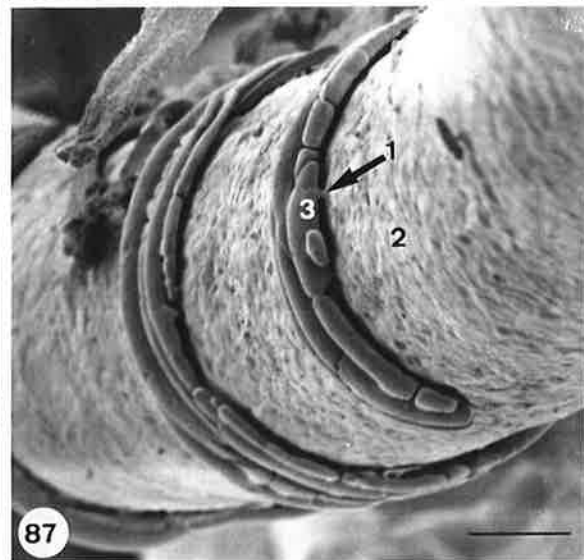
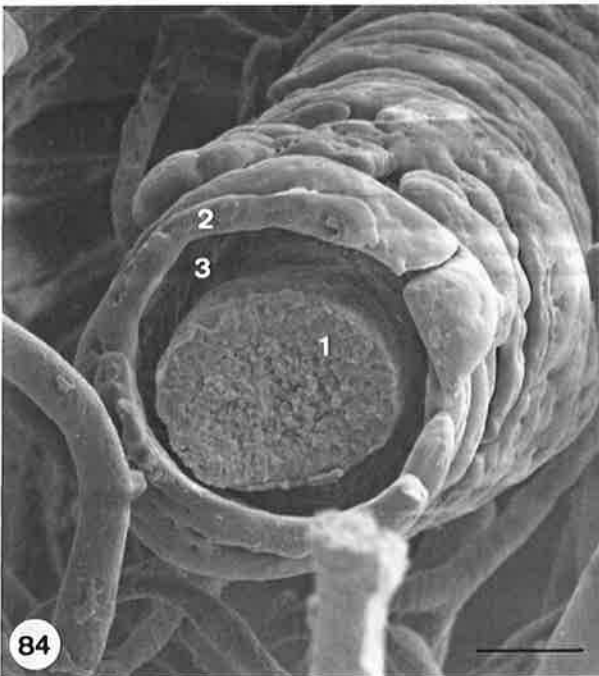
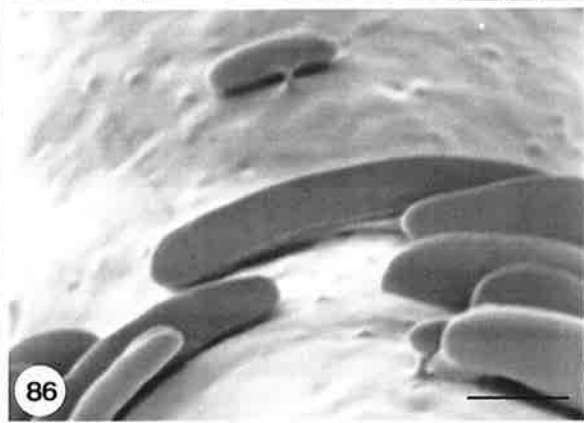
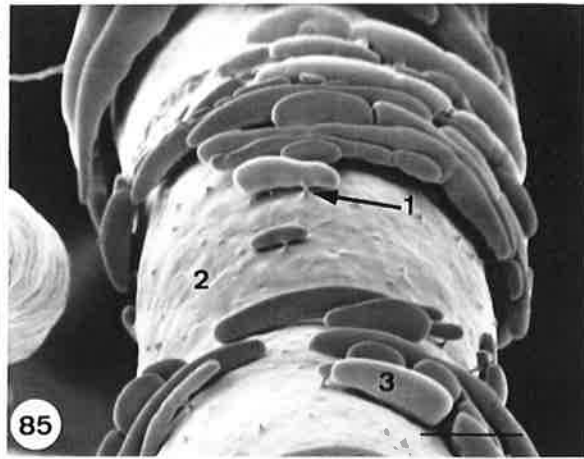
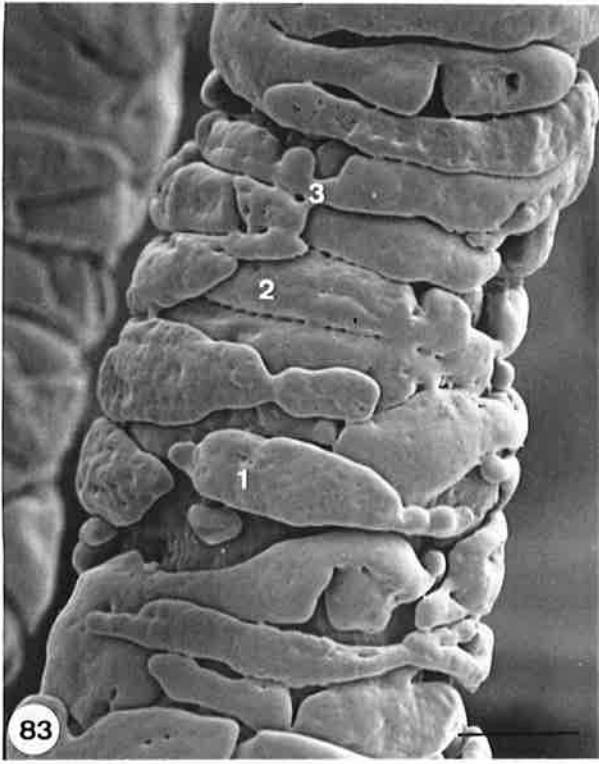


Figura 88. Imagen de una arteriola cortical, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, visualizada mediante microscopio láser confocal. Nótese la presencia de anillos fluorescentes (1) alrededor de la luz vascular, coincidiendo con una zona de disminución del diámetro de la luz (2). Se observan imágenes redondeadas de fluorescencia menos intensa (3) que corresponden a los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 31.8C.TIF.

Figura 89. Imagen de una arteriola cortical, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, visualizada mediante microscopio láser confocal. Nótese la presencia de bandas fluorescentes (1) alrededor de la luz vascular y de disposición perpendicular al eje del vaso. Se observa la presencia de una estructura fluorescente (2) adyacente a la luz vascular y situada a nivel del origen de una rama colateral. Nótese a este nivel una reducción del diámetro de dicha luz (3).

Referencia 21.8C.TIF

Figuras 90 a y b. Imagen de una arteriola cortical, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, visualizada mediante microscopio láser confocal por planos. Nótese la presencia de agrupaciones de estructuras adyacentes (1) de disposición perpendicular al eje principal del vaso.

Referencia 38.TIF. Barra: 30 $\mu$ .

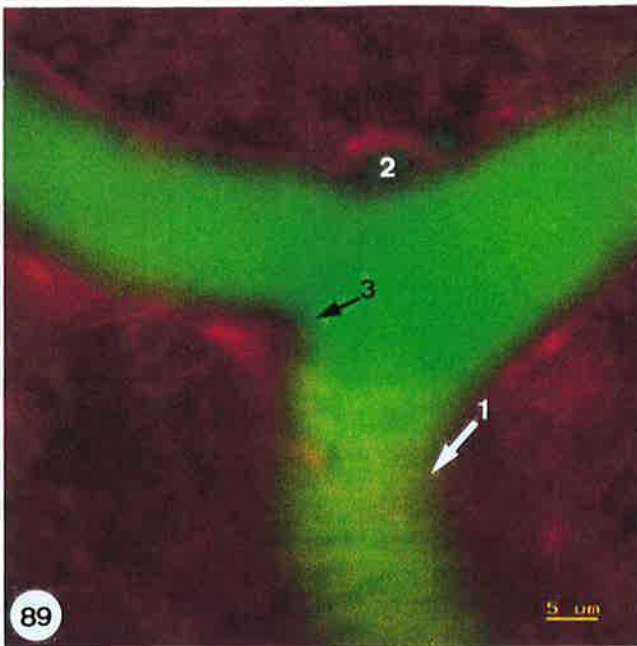


Figura 91. Imagen de una arteriola cortical, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, en la que se observa la presencia de estructuras anexas fluorescentes (1) rodeando la luz vascular (2). Nótese la existencia de comunicaciones entre la luz y dichas estructuras (3).

Referencia 7C.TIF.

Figura 92. Detalle de la imagen anterior. Se observa la comunicación entre la luz vascular y las estructuras anexas (1), así como la doble fluorescencia de dichas estructuras, con una zona externa (2) y una franja interna que emite con una longitud de onda superior (3).

Referencia 7C.TIF.

Figura 93. Sección transversal de una arteriola cortical, previa tinción inmunohistoquímica con anti- $\alpha$ -actina. Obsérvese en la pared de la arteriola la presencia de una estructura de disposición anular (1), con una zona dilatada central (2) y prolongaciones en sus extremos (3) que rodean el vaso.

Referencia 56.8.TIF.

Figura 94. Imagen correspondiente a un plano inferior de la figura anterior. Se observa una sección transversal de dos arteriolas corticales con estructuras anulares en su pared (1).

Referencia 56.29.TIF. Barra: 10 $\mu$ .

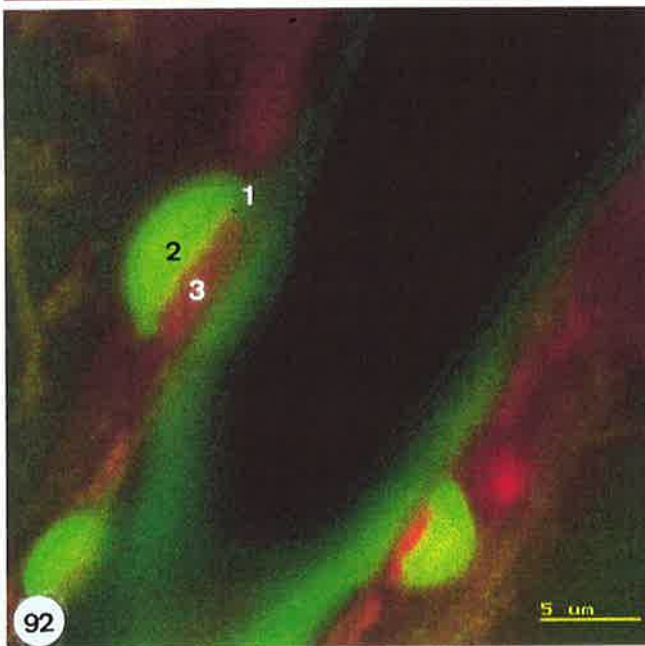
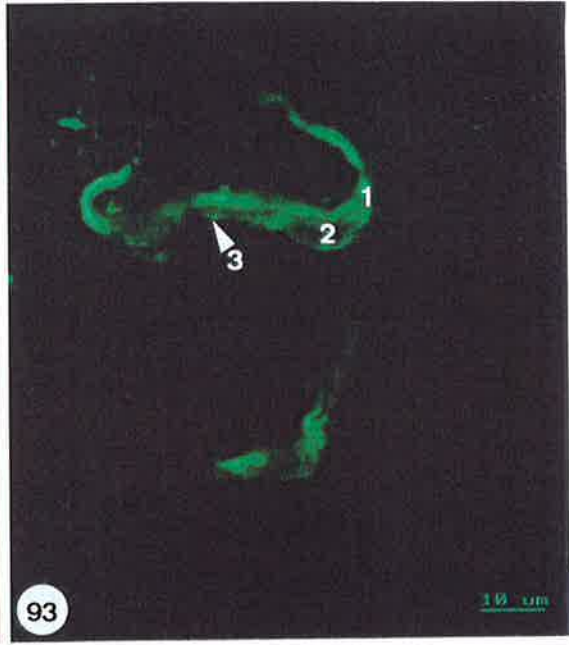
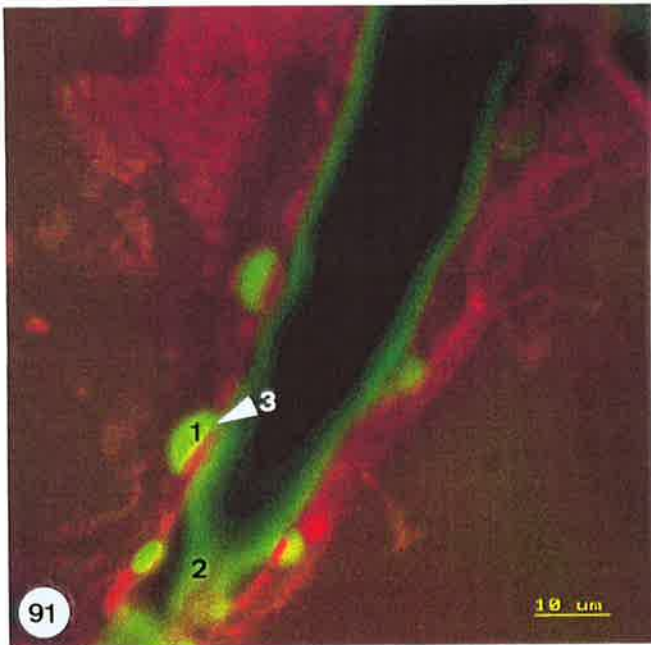


Figura 95. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa la red vascular pial formada por arterias superficiales de tercer orden (1) y venas superficiales (2), así como arterias corticales (3). Nótese la presencia de anillos plásticos (4) localizados en arterias superficiales y en el trayecto inicial de arterias corticales (5).

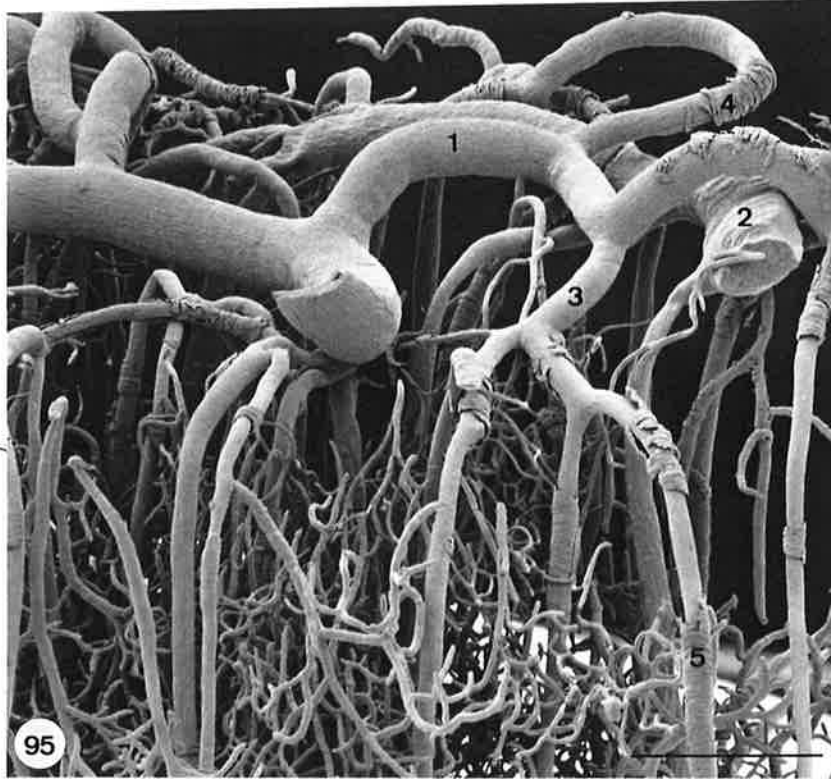
Referencia 961533. Región: a. cerebral posterior. Barra: 25mm.

Figura 96. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se demuestran arcos anastomóticos (1) en el trayecto superficial de arterias corticales (2). Nótese la presencia de anillos plásticos (3), la presencia de una constricción del molde de la luz vascular en el origen de arterias penetrantes (4) e impresiones nucleares en la superficie del molde (5).

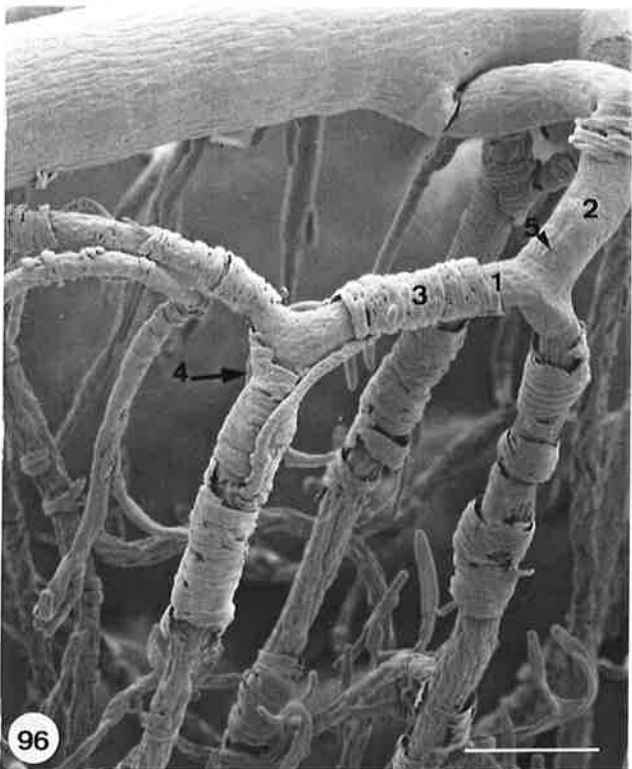
Referencia 960589. Región: a. cerebral posterior. Barra: 125 $\mu$ .

Figura 97. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, que muestra una arteria cortical (1), dividiéndose en dos ramas terminales (2). Nótese la disposición en dos estratos de los anillos plásticos en la arteria principal (3), y la morfología de los anillos en la zona de bifurcación (4).

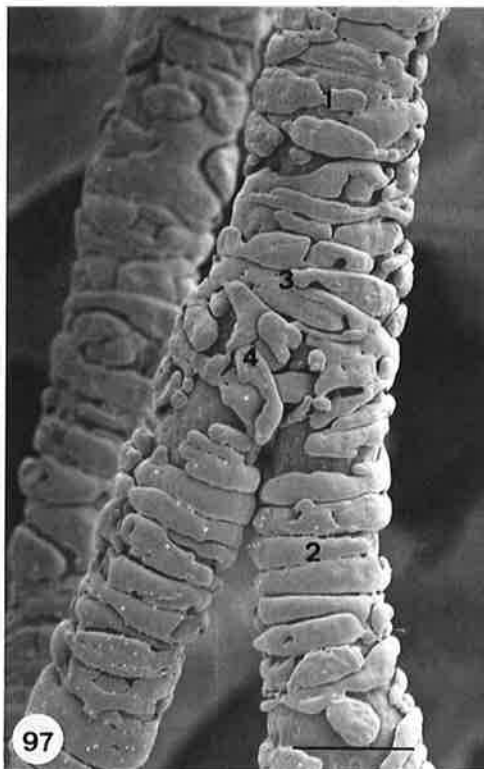
Referencia 962703. Región: a. cerebral anterior. Barra: 30 $\mu$ .



95



96



97

Figura 98. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se muestra una arteriola cortical (1) con un recubrimiento discontinuo de agrupaciones de anillos plásticos (2) que dejan espacios libres intermedios (3).

Referencia 960160. Región: a. cerebral media. Barra: 38 $\mu$ .

Figura 99. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se observan arteriolas precapilares (1) y capilares con terminaciones ciegas (2). Se destaca la morfología de algunos anillos plásticos en este territorio vascular, con una zona central dilatada (3) y ramificaciones (4) que abrazan el molde.

Referencia 960588. Región: a. cerebral posterior. Barra: 38 $\mu$ .

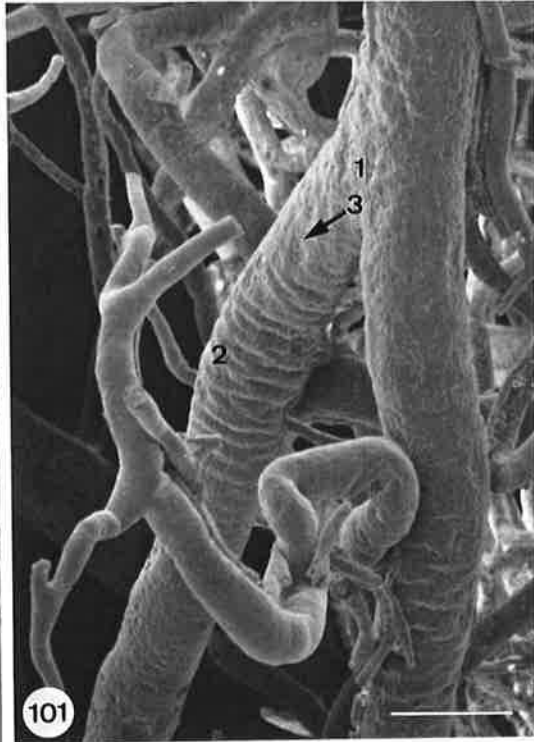
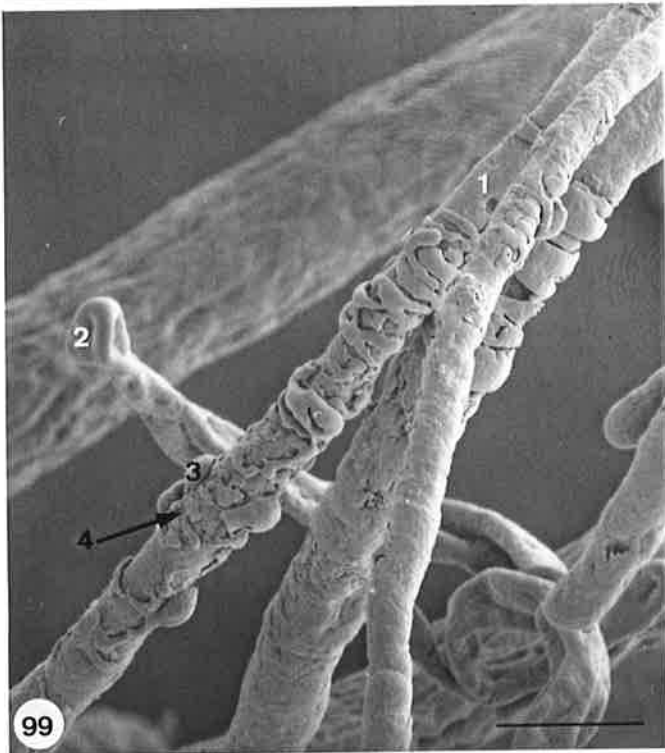
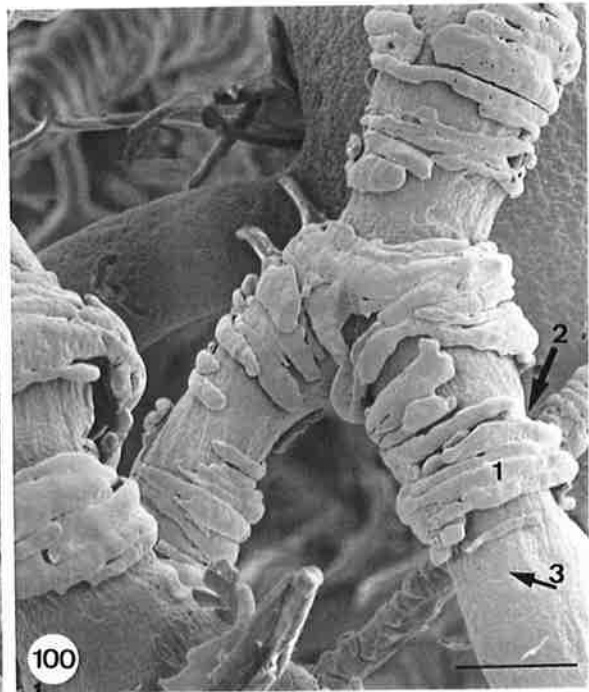
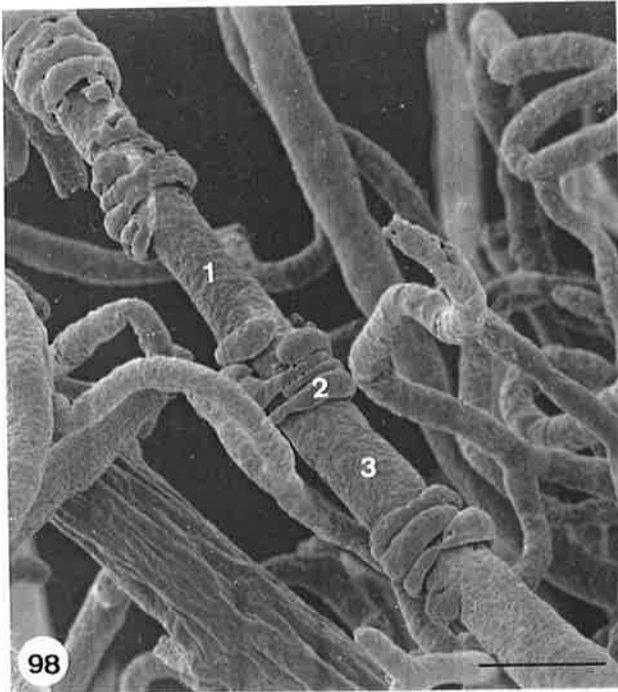
Figura 100. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se muestra la bifurcación de una arteriola cortical. Nótese la presencia de anillos plásticos (1) y de constricciones (2) en el molde vascular. También se aprecian impresiones ovaladas (3) que corresponden a los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 962811. Región: a. cerebral anterior. Barra: 38 $\mu$ .

Figura 101. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, que muestra la bifurcación de una arteriola cortical (1). Nótese la presencia de pliegues transversales (2) y de impresiones nucleares sobre la superficie del molde vascular (3).

Referencia 953613. Barra: 43 $\mu$ .





#### 4.3.- ESTRUCTURAS PLÁSTICAS ANEXAS QUE ASEMEJAN PERICITOS.

Dentro de los artefactos de disposición perivascular que se observaron anexos a los moldes vasculares hay unas estructuras que se asemejan en gran medida a células pericapilares o pericitos.

##### Morfología.-

Bajo el nombre de “pericitos”, para simplificar la descripción, hemos agrupado un tipo de artefactos constituido por estructuras anexas al molde vascular, situadas a nivel del territorio capilar, distalmente a las zonas de presencia de anillos plásticos. Estas estructuras presentan en su morfología dos partes bien diferenciadas, una zona más dilatada o cuerpo y una serie de prolongaciones.

El cuerpo del “pericito” tiene una forma de casquete de esfera, con una superficie externa convexa y una cara interna cóncava anexa al molde del lumen capilar. Sus dimensiones son uniformes a lo largo del lecho capilar, oscilando su diámetro mayor entre las  $10\mu$  y las  $13\mu$ , mientras que su diámetro menor oscila entre  $7\mu$  y las  $8,5\mu$  (Fig. 102). La cara convexa del “pericito” puede ser lisa, sin ningún tipo de impronta. No obstante, es frecuente hallar sobre esta superficie convexa una zona deprimida o cóncava, de  $6\mu \times 3,5\mu$  aproximadamente, circular y de superficie irregular (Fig. 102). Su cara interna es cóncava y de superficie irregular; a través de ella se adapta a la convexidad del molde vascular del cual se encuentra separada por un espacio de  $0,5 - 1\mu$  aproximadamente (Fig. 102).

A partir del cuerpo se desprenden una serie de prolongaciones, en número

variable, que discurren por la superficie del molde vascular mediante un trayecto rectilíneo o sinuoso, orientadas mayoritariamente a lo largo del eje longitudinal del capilar (Figs. 102 y 103). Estas prolongaciones, que denominamos ramificaciones primarias, tienen una anchura de  $1,5 - 2\mu$ , y disminuyen progresivamente a medida que se alejan del cuerpo del "pericito". Su longitud es variable, pudiendo alcanzar en algunos casos las  $30\mu$  (Figs. 102 y 103). A partir de estas ramificaciones se originan un segundo tipo de prolongaciones o ramificaciones secundarias, que se encuentran orientadas de forma perpendicular u oblicua al eje principal del molde vascular (Fig. 104). Estas prolongaciones establecen conexiones con otras ramificaciones primarias o secundarias, formando en ocasiones una red que abraza el molde capilar (Fig. 105), o el origen de los propios capilares.

A nivel del cuerpo y de las prolongaciones se observan conexiones con la superficie del molde vascular. Se trata de estrechos puentes de resina, de  $0,4\mu$ , que se encuentran en la periferia del cuerpo o a lo largo de sus prolongaciones, similares a las que se encontraban en los anillos plásticos (Fig. 102).

El estudio a nivel precapilar y capilar, tras la inyección intravascular de Mercocox® con naranja de acridina, puso de manifiesto la presencia de imágenes de fluorescencia perivasculares. Estas estructuras tenían una morfología redondeada, con un diámetro aproximado de  $8 - 10\mu$  (Figs. 107a y b). En algún caso observamos la presencia de prolongaciones a partir de dichas estructuras (Fig. 106), de trayecto sinuoso alrededor del molde vascular.

Distribución.-

Las imágenes de los “pericitos” han sido observadas en los vasos precapilares y a lo largo del territorio capilar. Su distribución no es uniforme, encontrándose áreas capilares con un importante número de “pericitos”, como sucede en la zona capilar media y en la zona capilar profunda del córtex, siendo su presencia menor en la zona capilar superficial. No se han encontrado imágenes de “pericitos” a nivel de las vénulas postcapilares, y solo de forma esporádica en la red capilar de la sustancia blanca.

Situación.-

A lo largo del territorio capilar los “pericitos” pueden estar situados a diferentes niveles. Un número importante de estas estructuras se encontraron situadas en el trayecto de los capilares sin ninguna relación con divisiones de los mismos. No obstante, se observaron una serie de “pericitos” que, a través de su cuerpo o sus prolongaciones, estaban en relación al origen de los capilares o en sus zonas de división. En algunas ocasiones sus prolongaciones abrazan el molde vascular en estos puntos.

Figura 102. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se demuestran estructuras plásticas pericapilares o pericitos. Se observa una región central o cuerpo del pericito (1) y unas prolongaciones (2) que se ramifican sobre el molde vascular. Nótese la superficie convexa lisa (3) en un pericito y la superficie cóncava irregular (4) en otro, así como el espacio de separación (5) entre el molde del lumen capilar y el pericito, junto con los puentes de resina que los comunican (6).

Referencia 960385. Región: a. cerebral anterior. Barra: 11 $\mu$ .

Figura 103. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, que muestra vasos capilares (1) y pericitos (2). Se destaca la presencia de prolongaciones o ramificaciones primarias (3) que nacen del cuerpo del pericito.

Referencia 962477. Región: a. cerebral posterior. Barra: 13 $\mu$ .

Figura 104. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®. Se observan vasos capilares (1) con pericitos (2), y arteriolas (3) con anillos plásticos (4). Nótese las prolongaciones primarias (5) y secundarias (6) de los pericitos, así como las improntas muy manifiestas que dejan los núcleos de las células endoteliales (7) en la superficie del molde vascular.

Referencia 956219. Región: a. cerebral media. Barra: 22 $\mu$ .

Figura 105. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, donde se observa el molde de un vaso capilar (1) en cuya superficie se aprecia el cuerpo de un pericito (2) y sus prolongaciones primarias (3) y secundarias (4) que dibujan una red.

Referencia 960587. Región: a. cerebral posterior. Barra: 11,5 $\mu$ .

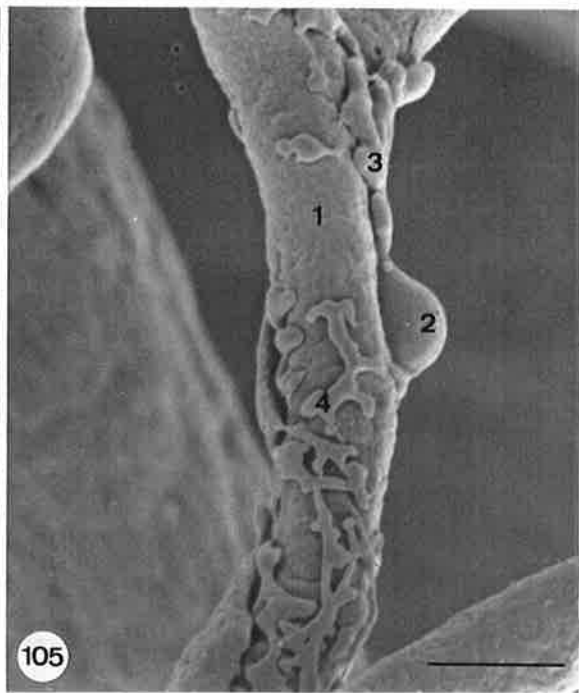
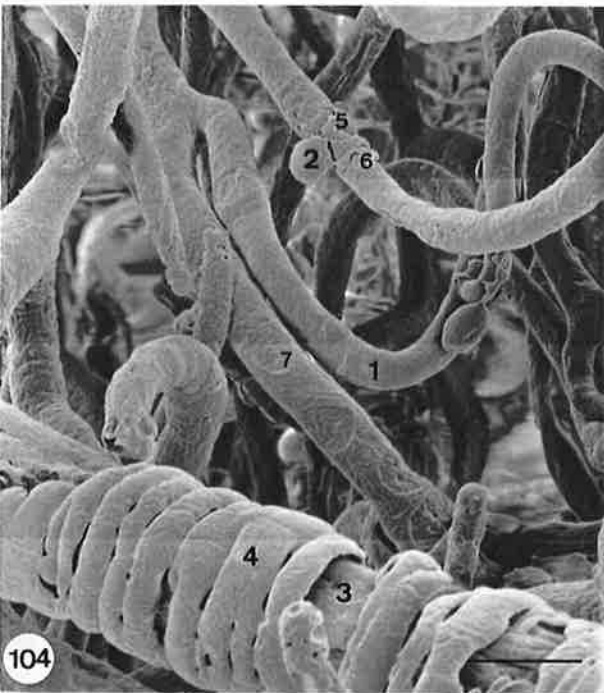
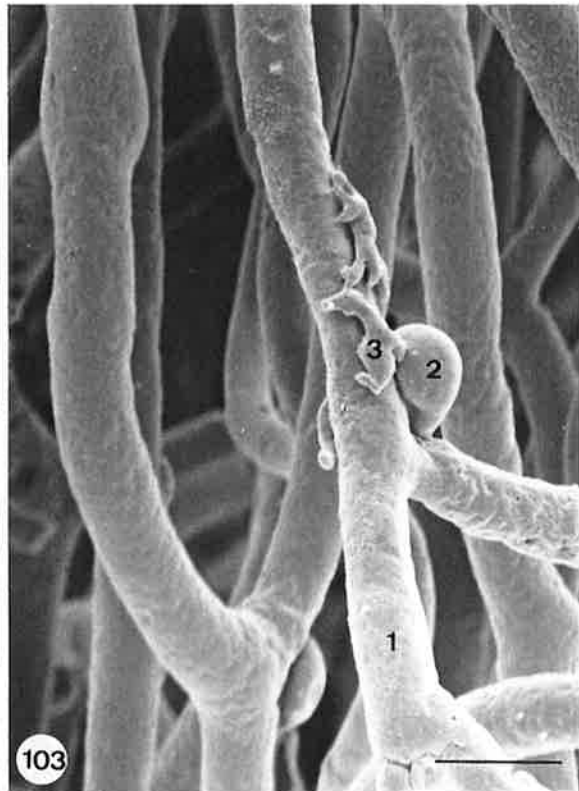
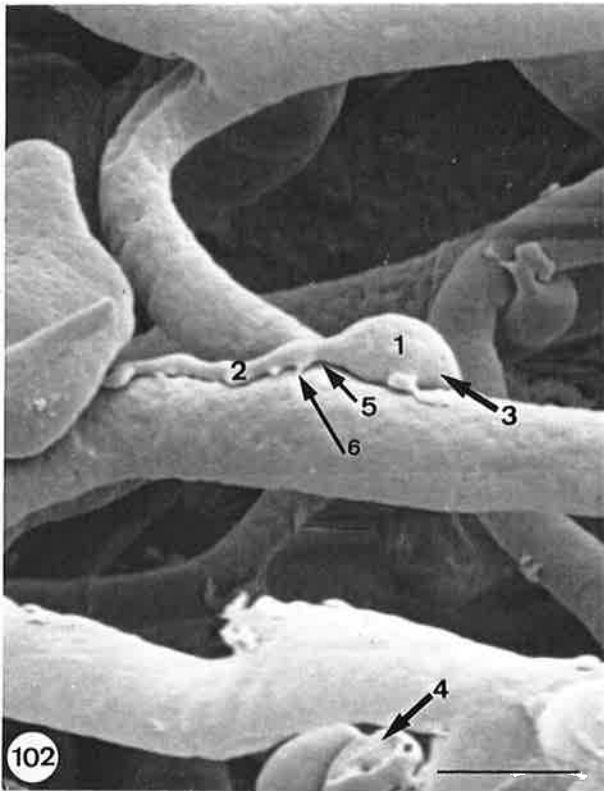
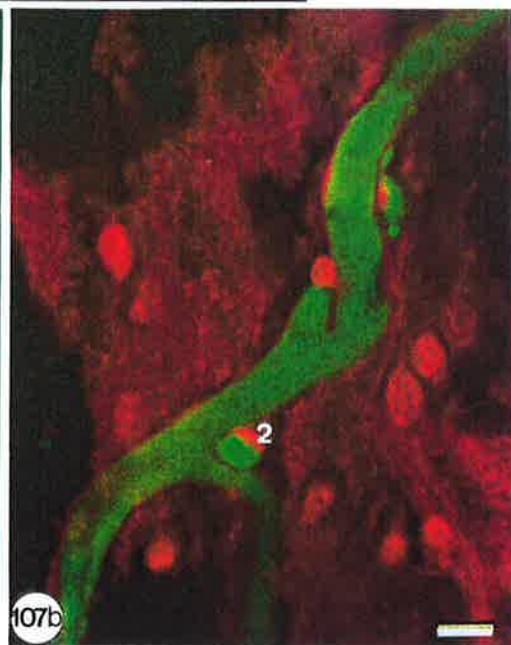
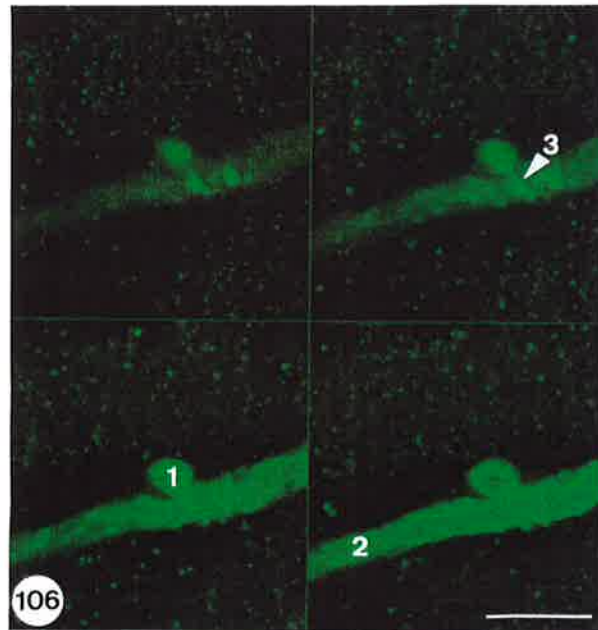


Figura 106. Imagen de un capilar de la corteza cerebral, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, visualizada mediante microscopio láser confocal. Las imágenes corresponden a cuatro planos consecutivos en los que se observa una estructura (1) anexa a la luz (2) con prolongaciones que rodean el vaso (3).

Referencia 27.2 TIF. Barra: 10 $\mu$ .

Figuras 107 a y b. Imágenes de un vaso precapilar de la corteza cerebral, previa inyección de una solución de Mercox® con naranja de acridina, visualizada mediante microscopio láser confocal. Se observa la presencia de estructuras fluorescentes anexas a la luz (1), redondeadas y con una zona profunda que emite en una longitud de onda superior (2).

Referencia 50 TIF. Barra: 10 $\mu$ .





#### **4.4.- IMÁGENES DE CONSTRICCIONES EN LOS MOLDES VASCULARES.**

En este apartado consideraremos aquellos artefactos del molde vascular que consistían en una disminución localizada de su diámetro, con recuperación del calibre vascular distalmente a la misma. Estas imágenes, que denominamos constricciones, podían ser de tres tipos: 1.- bandas de constricción o hemiconstricciones asimétricas situadas principalmente en el origen de ramas colaterales; 2.- constricciones anulares, profundas y localizadas, seguidas en muchos casos de una ligera dilatación distal; 3.- segmentos vasculares en los que aparecen varias ondas de constricciones con dilataciones intercaladas entre las mismas, proporcionando un aspecto arrosariado al molde vascular.

Los diferentes tipos de constricciones del molde vascular han sido encontrados en distintos niveles:

- a. En los vasos de la red pial, en forma de constricciones anulares aisladas en el trayecto de las arterias, o bien en el origen de sus ramas colaterales.
  
- b. En el origen de las arterias corticales, en forma de constricciones anulares que podían llegar a reducir el diámetro del molde vascular hasta en un 50%, o en forma de bandas de constricción (Fig. 108). En algunas ocasiones hemos observado agrupaciones de constricciones y dilataciones intercaladas tras el origen de las arterias corticales (Figs. 108 y 109).
  
- c. En el trayecto de los diferentes tipos de arteriolas corticales y en el origen de sus ramas colaterales (Figs. 110 y 111). También hemos observado constricciones

anulares situadas inmediatamente después de la bifurcación de una arteriola cortical.

d. En el territorio precapilar en forma de constricciones y dilataciones de forma alterna.

e. En el territorio capilar en forma de constricciones anulares localizadas, o bandas de constricción en el origen de capilares (Fig. 112). A nivel capilar también hemos observado ocasionalmente una reducción del diámetro del molde vascular de un 15-20%, coincidiendo con la presencia de imágenes de “pericitos”.

#### **4.5.- IMÁGENES DE TERMINACIONES CIEGAS.**

Las terminaciones ciegas que hemos observado en los moldes vasculares no presentaban una morfología homogénea. Por este motivo las hemos agrupado en cinco tipos morfológicos.

Tipo 1 o terminaciones ciegas redondeadas. Se trataba de terminaciones de superficie lisa, convexa y redondeada, cuyo diámetro era homogéneo con el del molde vascular (Fig. 113). En algunas ocasiones iban acompañadas de la presencia de una o dos constricciones anulares muy manifiestas en el trayecto previo a la terminación (Fig. 114).

Este tipo de terminaciones ciegas las hemos observado generalmente en el territorio precapilar o capilar. No obstante, también hemos puesto de manifiesto su presencia en el molde de vasos de mayor calibre. Las imágenes de impresiones

nucleares de las células endoteliales sobre estos moldes vasculares revelaba una correcta replección del lecho vascular (Fig.113 ).

Tipo 2 o terminaciones ciegas a modo de “palillo de tambor”. Se trataba de terminaciones ciegas del molde vascular de superficie lisa, convexa y redondeada, pero de diámetro superior al del molde (aspecto de palillo de tambor). Este tipo de terminaciones las hemos observado a nivel capilar y precapilar (Figs. 115 y 116).

Tipo 3 o terminaciones ciegas “en corazón de manzana”. Este tipo de terminaciones, que han sido observadas principalmente a nivel capilar, se caracterizan por una disminución brusca del diámetro del molde vascular y una superficie irregular con cortas espículas (Fig. 117).

Tipo 4. En este tipo hemos agrupado aquellas terminaciones ciegas, generalmente redondeadas, que se presentaban sobre moldes vasculares cuya superficie se caracterizaba por la presencia de abundantes pliegues gruesos longitudinales. Este tipo de terminaciones se han observado en vasos precapilares y en el trayecto inicial de las arteriolas corticales. (Figs. 118 y 119).

Tipo 5. En este último tipo hemos agrupado aquellas terminaciones ciegas situadas a nivel de arteriolas corticales cortas, que aparecían tras su incurvación en la superficie. Estas terminaciones se caracterizaban por una disminución brusca del diámetro vascular y una corta prolongación filiforme de resina en su extremo. En la superficie del molde vascular de estas arteriolas se observaron imágenes de anillos plásticos cuya morfología coincidía con la expuesta anteriormente (Figs. 120 y 121).

#### **4.6.- SUPERFICIE COARRUGADA DEL MOLDE VASCULAR**

En algunas zonas de los moldes de corrosión vascular hemos observado la presencia de pliegues longitudinales a lo largo de la superficie de los moldes. Dichos pliegues tenían un diámetro transversal de 4 - 5 $\mu$  y una disposición longitudinal ligeramente sinuosa (Fig 118). Su presencia ha sido observada tanto a nivel arteriolar como a nivel capilar.

A nivel arteriolar se observan imágenes de moldes vasculares totalmente coarrugados por la presencia de este tipo de pliegues longitudinales, cubiertos zonalmente por anillos plásticos. Entre los pliegues hemos constatado la presencia de surcos longitudinales, así como impresiones nucleares alargadas y estrechas, dispuestas de forma paralela al eje longitudinal del molde vascular.

La superficie coarrugada del molde vascular también ha sido observada a nivel capilar, en forma de pliegues longitudinales y aspecto aplanado del molde capilar.

#### **4.7.- VASA VASORUM**

En la superficie del molde vascular correspondiente a arterias superficiales de primer orden, hemos observado imágenes de moldes vasculares que tenían un diámetro de 6 - 7 $\mu$ . Estos vasos tenían un trayecto aracniforme adosado a la superficie del molde de la arteria superficial, y comunicado con él a través de estrechos puentes de resina (Fig. 122). Su presencia solo la hemos observado en

moldes vasculares correspondientes a vasos piales de gran calibre.

#### **4.8.- DISPOSICIÓN ENROSCADA DE MOLDES VASCULARES.**

A nivel de las ramas terminales de los moldes correspondientes a arterias corticales cortas y medias hemos observado en ocasiones una disposición enroscada de las mismas, que se mantenía a lo largo de un trayecto medio de  $250\mu$ , tras el cual las ramas terminales se separaban en forma de ramillete. Esta disposición ha sido observada también a nivel de la división terminal de colaterales de dichas arterias, así como en el trayecto inicial de pequeñas arteriolas corticales (Fig. 123).

#### **4.9. ANASTOMOSIS.**

Entre las arteriolas corticales hemos observado ocasionalmente la presencia de anastomosis en su trayecto inicial en superficie o a nivel de su incurvación. Se trata de anastomosis rectas que tenían una longitud media de  $150 - 200\mu$  (Fig. 124). En ocasiones, a partir de estas anastomosis se originaban ramas colaterales que se introducían en la corteza cerebral.

La presencia de anastomosis en los moldes vasculares a nivel capilar era frecuente, formando una red vascular continua. Se trataba de vasos de  $7\mu$  de diámetro, con una longitud media de  $12$  a  $15\mu$  y un trayecto rectilíneo o ligeramente sinuoso (Fig. 125).

Fig. 108. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox® en el que se observa una banda de constricción (1) en el origen de una arteria cortical (2). Nótese la presencia de impresiones nucleares (3) sobre el molde vascular, y anillos plásticos (4).

Referencia 950589. Región: a. cerebral posterior. Barra: 30 $\mu$ .

Figura 109. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el trayecto inicial de una arteriola cortical (1). Nótese la presencia de constricciones anulares (2) separadas por sendas dilataciones (3), así como la presencia de impresiones nucleares (4) y anillos plásticos (5).

Referencia 962932. Región: a. cerebral anterior. Barra: 60 $\mu$ .

Figura 110. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el que se observa una constricción (1) localizada en el origen de una rama colateral de una arteriola cortical (2). Nótese la presencia de impresiones nucleares (3) y anillos plásticos (4) que rodean el molde vascular.

Referencia 962568. Región: a. cerebral anterior. Barra: 30 $\mu$ .

Figura 111. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el que se observa una constricción (1) localizada en el origen de una rama colateral en el trayecto inicial de una arteriola cortical (2). Nótese la presencia de impresiones nucleares (3) y anillos plásticos (4).

Referencia 960356. Región: a. cerebral anterior. Barra: 75 $\mu$ .

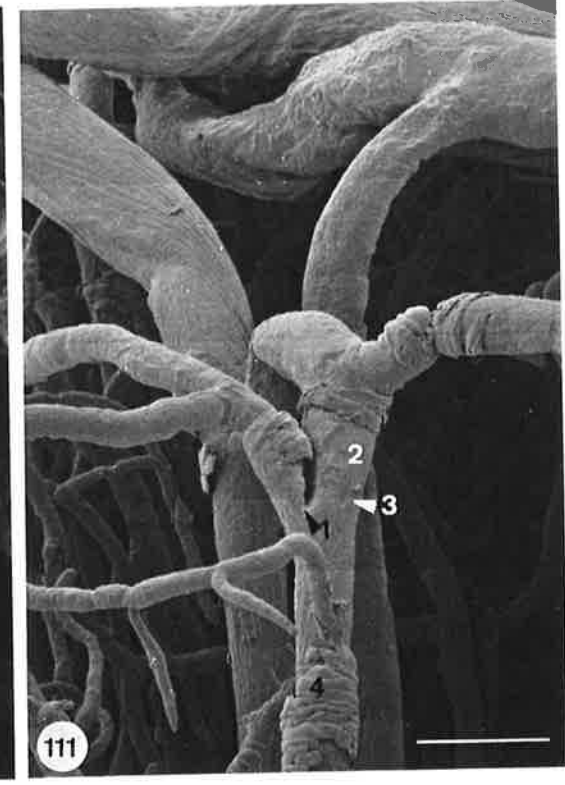
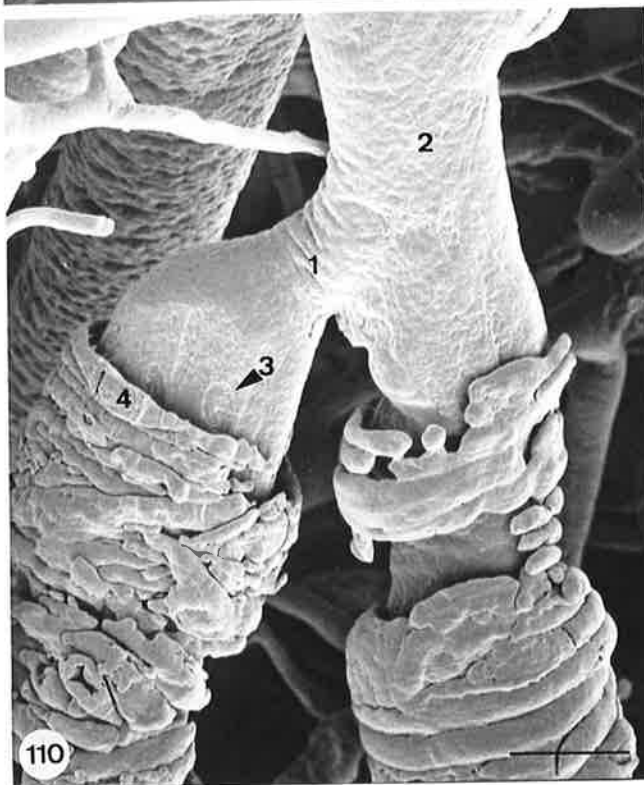
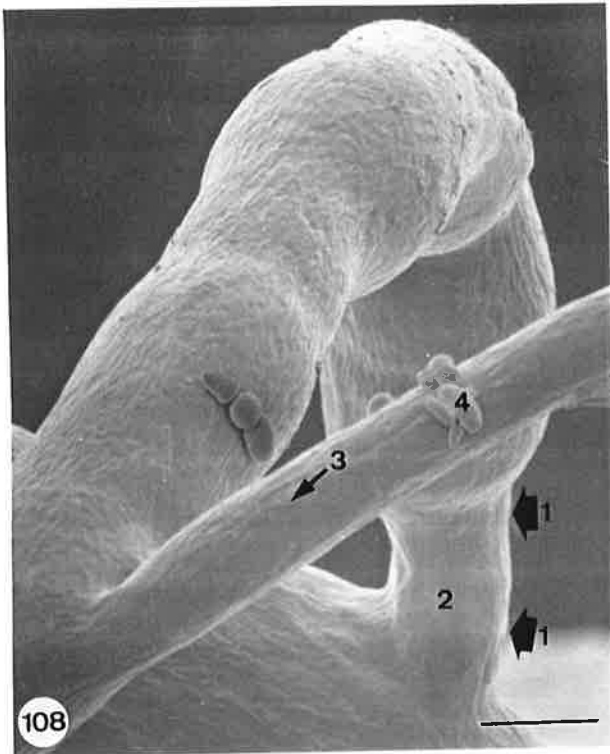


Figura 112. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa una marcada constricción (1) en la división de un vaso precapilar (2). Nótese la presencia de impresiones (3) sobre el molde vascular producidas por los núcleos de las células endoteliales.

Referencia 951229. Región: a. cerebral posterior. Barra: 13 $\mu$ .

Figura 113. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, donde se observan terminaciones ciegas redondeadas (1) sobre el molde vascular de un vaso precapilar (2) y capilar (3). Nótese la presencia de impresiones de los núcleos de las células endoteliales (4) así como de constricciones anulares (5) sobre el molde vascular.

Referencia 960585. Región: a. cerebral posterior. Barra: 30 $\mu$ .

Figura 114. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, de un capilar cortical (1). Nótese su terminación ciega (2) y la presencia de una constricción anular previa (3).

Referencia 961458. Región: a. cerebral posterior. Barra: 9 $\mu$ .

Figuras 115 y 116. Moldes de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en los que se observa la presencia de terminaciones ciegas en forma de palillos de tambor (1).

Referencia 962481/960673. Región: a. cerebral posterior. Barra 115: 30 $\mu$ ; Barra 116: 21 $\mu$ .

Figura 117. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, para demostrar la presencia de una terminación ciega “en corazón de manzana” (1), en el territorio capilar.

Referencia 960359. Región: a. cerebral anterior. Barra: 7,5 $\mu$ .



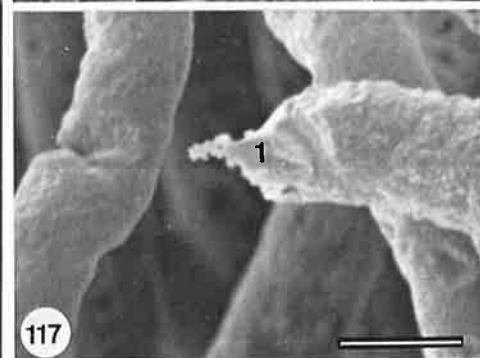
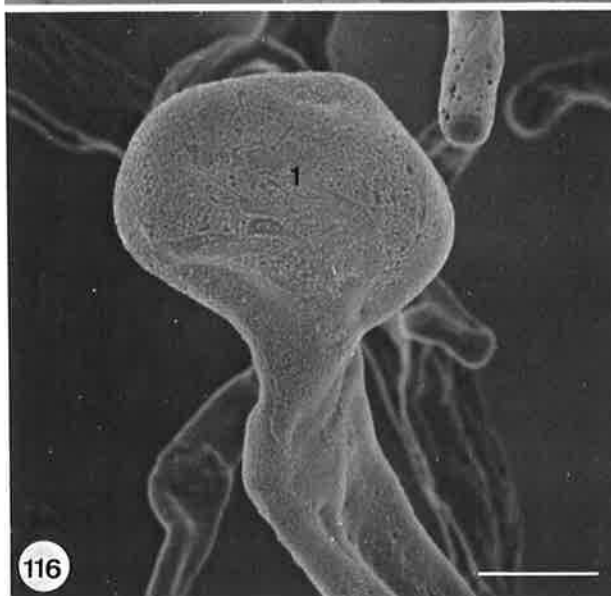
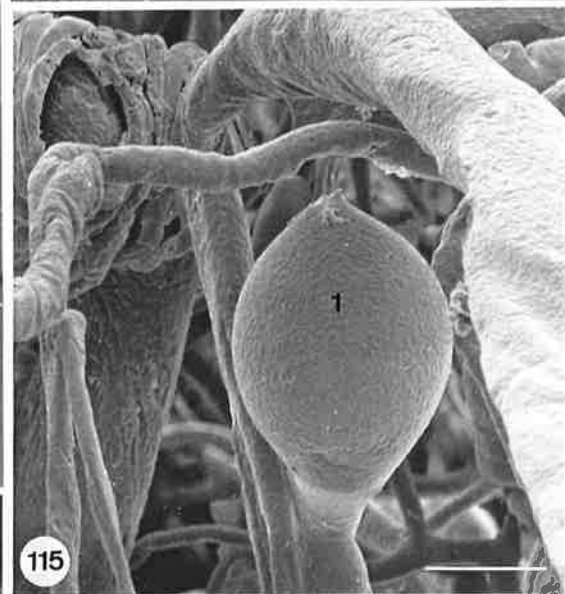
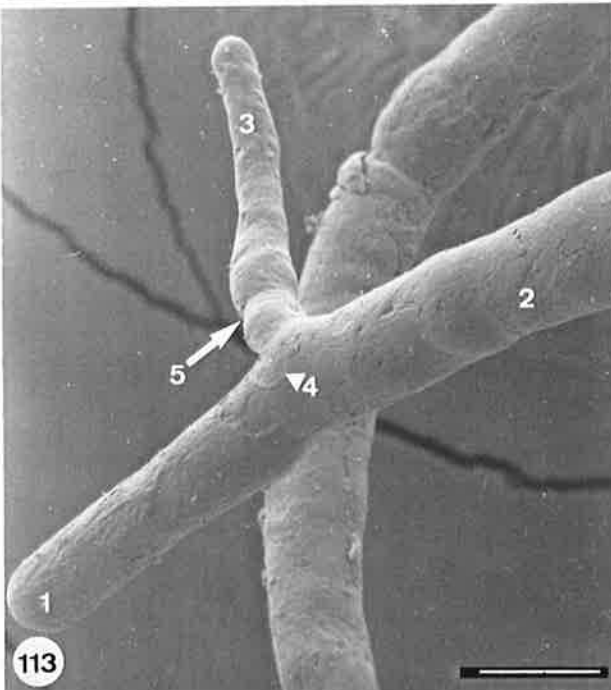
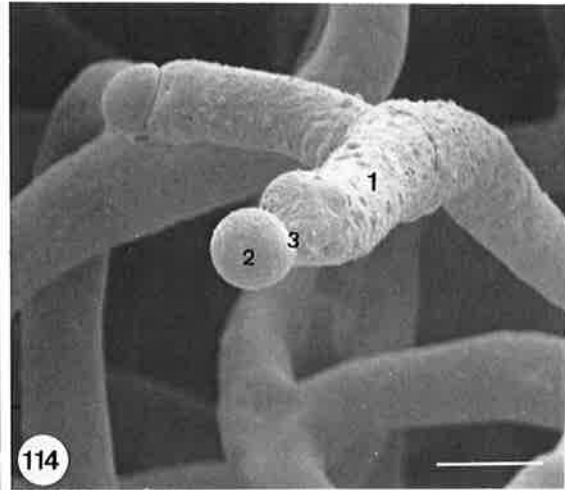
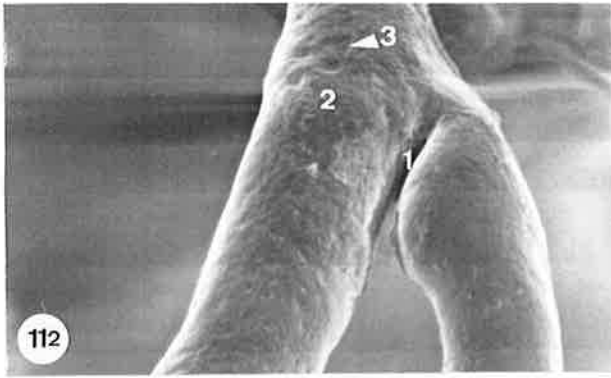


Figura 118. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, en el que se observan terminaciones ciegas redondeadas (1) en el trayecto de arterias corticales (2) que presentan una superficie coarrugada del molde vascular. Se observan anillos plásticos (3) alrededor de los moldes arteriales.

Referencia 960999. Región: a. cerebral media. Barra: 100 $\mu$ .

Figura 119. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, para demostrar la presencia de terminaciones ciegas redondeadas (1) sobre moldes vasculares coarrugados (2) en el territorio precapilar.

Referencia 960654. Región: a. cerebral posterior. Barra: 38 $\mu$ .

Figura 120. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®. Se observa una terminación ciega redondeada (1) del molde vascular de una arteriola cortical (2). Nótese la presencia de anillos plásticos (3) rodeando el molde.

Referencia 962819. Región: a. cerebral anterior. Barra: 19 $\mu$ .

Figura 121. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercocox®, a nivel del trayecto inicial de una arteriola penetrante (1). Tras su incurvación en la superficie se observa que presenta una terminación ciega (2) con anillos plásticos a su alrededor (3).

Referencia 962691. Región: a. cerebral anterior. Barra: 43 $\mu$ .

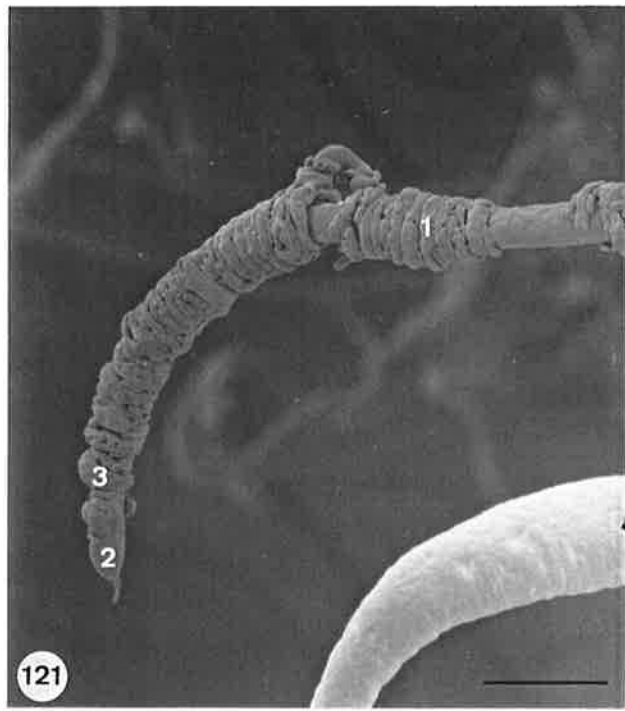
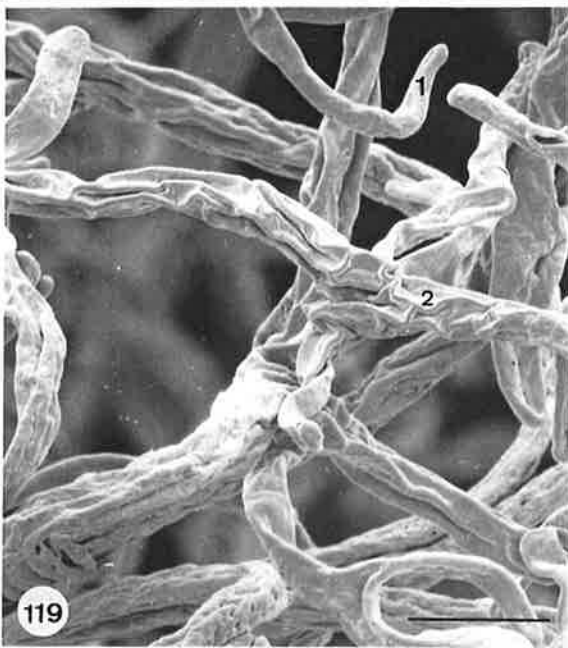
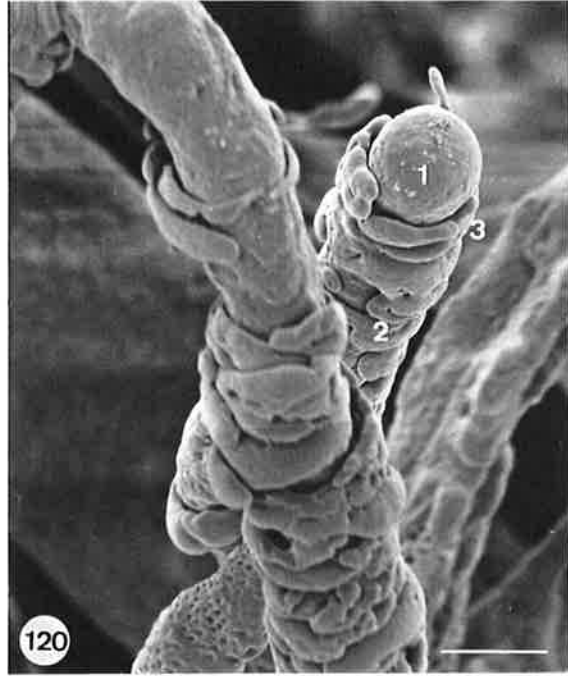
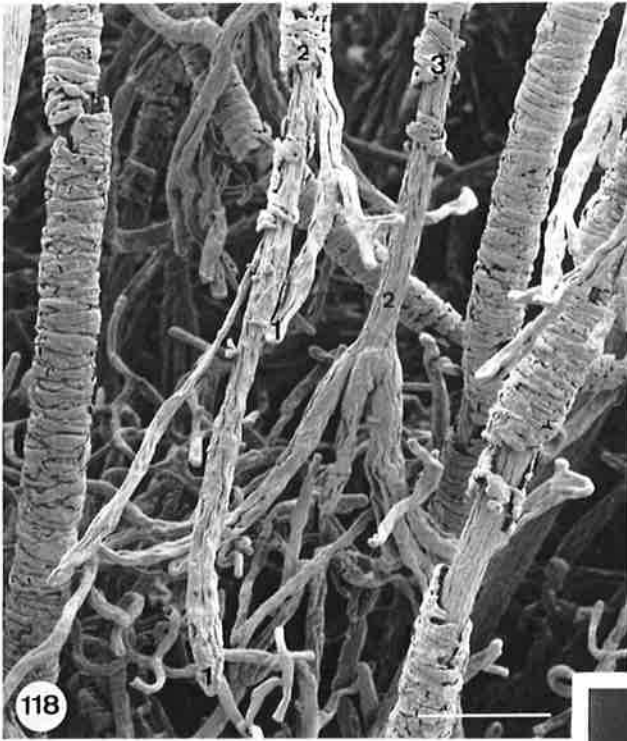


Figura 122. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, a nivel de una arteria superficial de primer orden (1). Se observa en su superficie la presencia de pequeños moldes vasculares (2), de trayecto aracniforme, y comunicados (3) con la superficie del molde de la arteria superficial.

Referencia 953573. Barra: 68 $\mu$ .

Figura 123. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, en el que se observa la disposición enroscada (1) de una rama colateral de una arteriola cortical (2). Nótese la presencia de anillos plásticos (3).

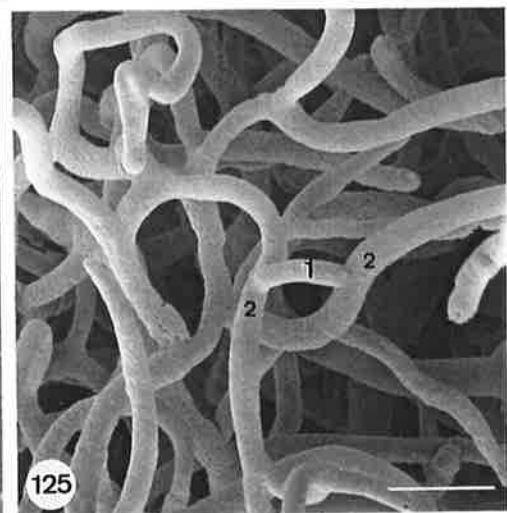
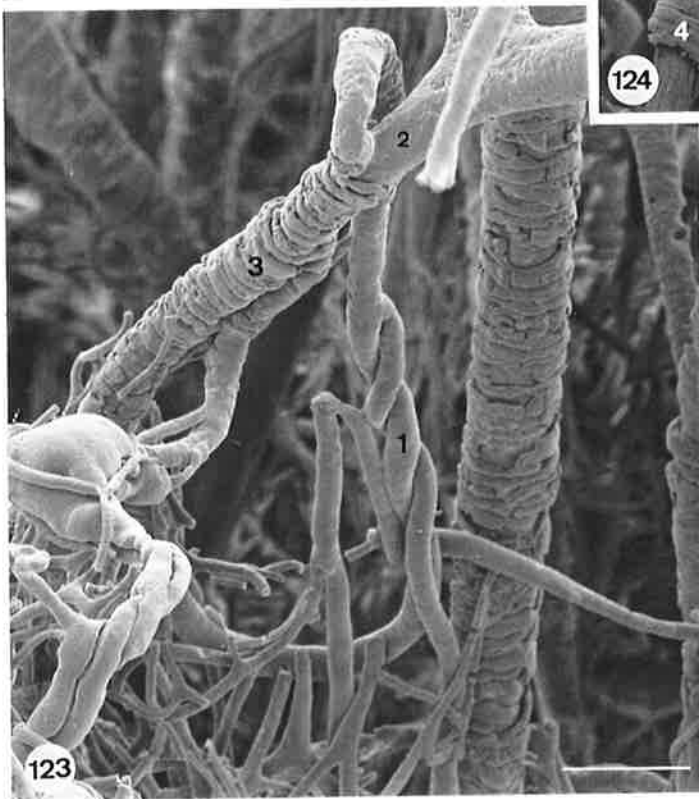
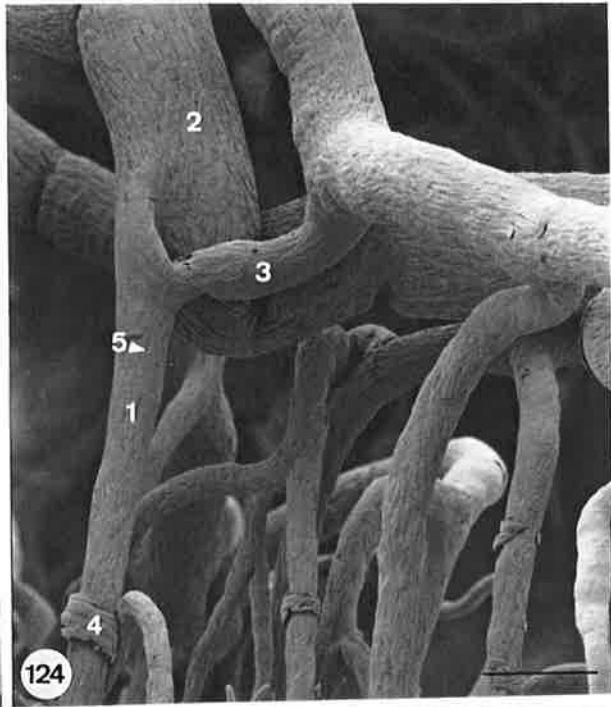
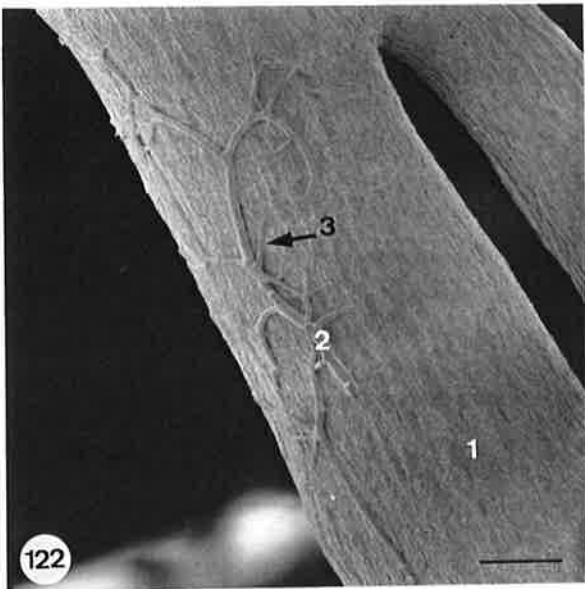
Referencia 962827. Región: a. cerebral anterior. Barra: 50 $\mu$ .

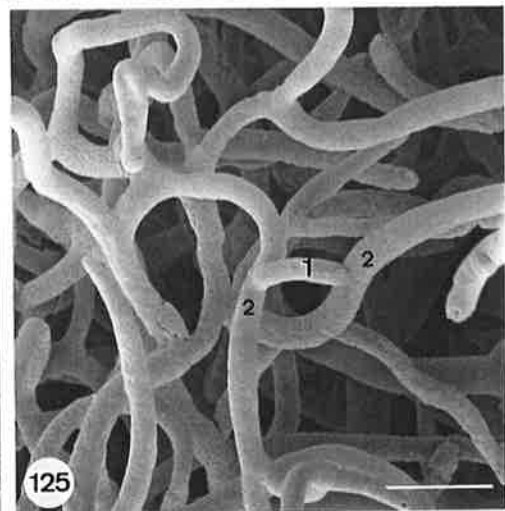
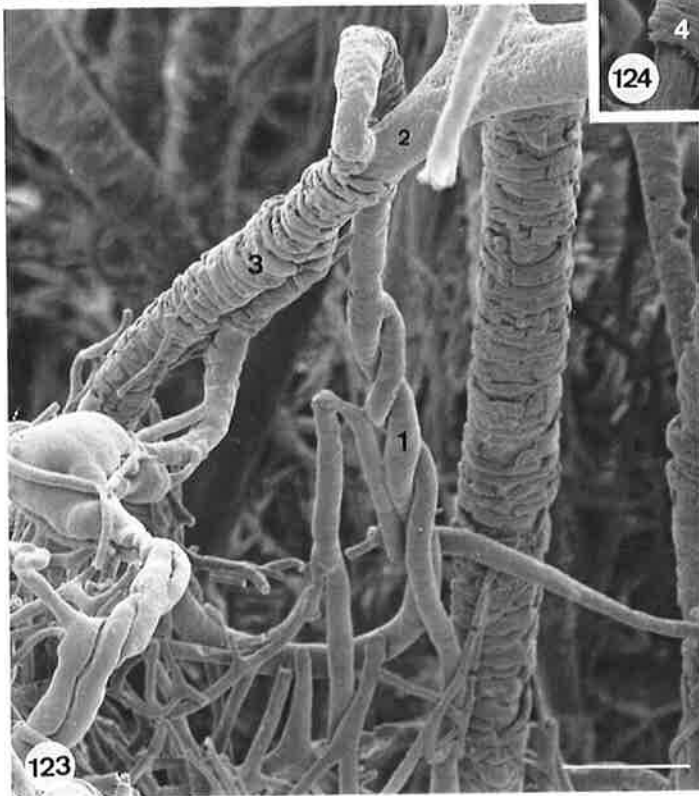
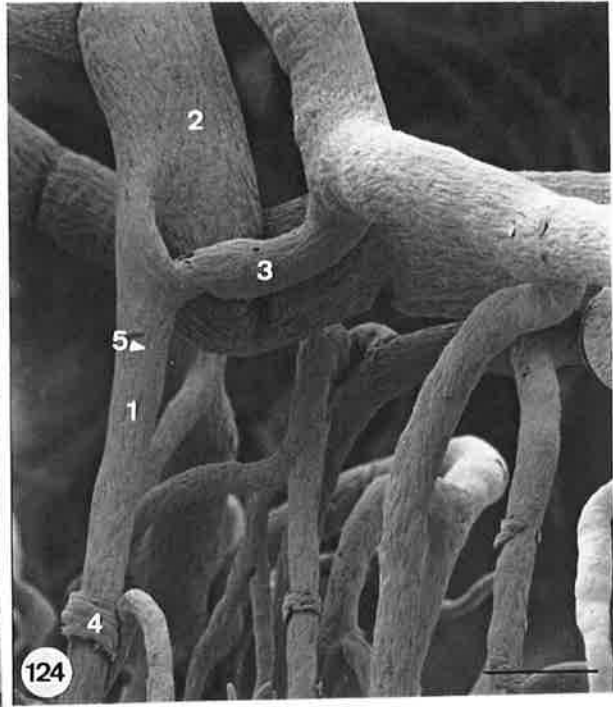
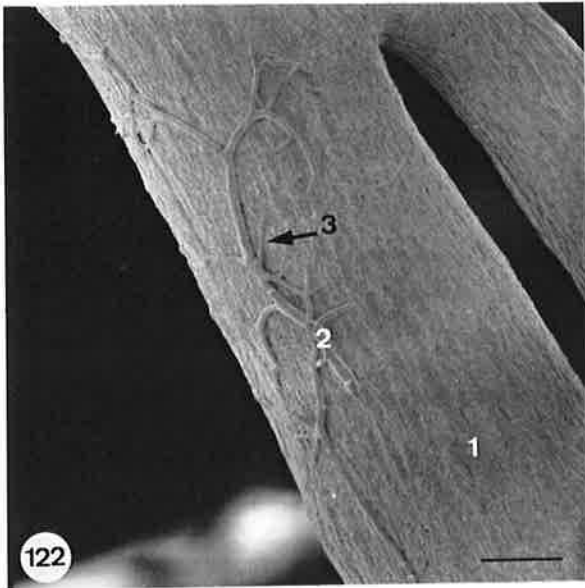
Figura 124. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, a nivel de la zona superficial de la corteza. Nótese la presencia de arteriolas corticales (1) que se originan a partir de arterias superficiales de tercer orden (2). Se observa la existencia de una anastomosis arterio-arterial (3) rectilínea, que une el trayecto inicial de dos arterias corticales. Sobre la superficie del molde se observan anillos plásticos (4) y las impresiones de los núcleos de las células endoteliales (5).

Referencia 961755. Región: a. cerebral anterior. Barra: 115 $\mu$ .

Figura 125. Molde de corrosión vascular, previa inyección arterial de Mercox®, a nivel de la red capilar de la corteza cerebral. Se observa la presencia de anastomosis (1) que unen vasos capilares adyacentes (2).

Referencia 961416. Región: a. cerebral posterior. Barra: 38 $\mu$ .





*Discusión*

## **1.- DISCUSIÓN DEL MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1.1.- MATERIAL**

Un gran número de los trabajos que estudian las características morfológicas y ultraestructurales de los vasos corticales son de carácter experimental, centrados en el estudio de diferentes especies de mamíferos, especialmente la rata, el gato y el mono (Florey, 1925; Kennady y Taplin, 1967; Jones, 1970; Peerles y Yasargil, 1971; Dahl, 1973; Hunziker y cols., 1974; Anderson y Anderson, 1978a,b; Roggendorf y cols., 1978; Lange y Halata, 1979; Nakai y cols., 1980, 1981; Motti y cols., 1986; Fujimoto, 1995; Lossinsky y cols., 1995).

Los estudios anatómicos sobre la irrigación arterial de la corteza cerebral en el hombre, se han centrado mayoritariamente en la descripción de la distribución territorial cortical de las arterias cerebrales y de sus ramas colaterales (Bradford-DeLong, 1973; Gillilan, 1974; Gloger y cols., 1994a,b,c), así como en el estudio de sus variaciones anatómicas mediante la utilización del microscopio de disección y de técnicas como la angiografía (Hodes y cols., 1953; Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978; Umansky y cols., 1988, Lasjaunias y Berenstein, 1990).

Sin embargo, son escasos los estudios acerca de la morfología y la disposición intracortical de los vasos responsables de su irrigación, así como la distribución regional de la vascularización cerebral. Destacan en este sentido los trabajos clásicos de Duret (1874) y Charpy (1901), y más recientemente de Lazorthes 1961, Lazorthes y cols., 1976, Duvernoy y cols., 1981 y Van der



Zwan y Hillen, 1990. Por este motivo pensamos que es esencial la utilización de material humano para el estudio anatómico de la vascularización de la corteza cerebral, ya que sus características morfológicas y funcionales la hacen diferente a la del resto de especies animales, y dificultan la extrapolación de resultados experimentales a la especie humana.

No obstante, la dificultad que habitualmente existe para disponer de material humano, especialmente de encéfalos, pertenecientes a personas jóvenes y sin patologías asociadas que interfieran en las técnicas anatómicas que se utilizan en los estudios vasculares, ha llevado a que en muchas ocasiones se utilicen animales de experimentación para el estudio microanatómico de la irrigación de la corteza cerebral (Konerding, 1991). En este sentido, la utilización de material humano procedente de cadáveres con pocas horas de periodo post-mortem, comporta la necesidad de una estrecha colaboración con un servicio de Anatomía Patológica y/o de Medicina Forense. En nuestro caso, la colaboración con el Instituto Anatómico Forense de Barcelona, nos ha permitido desarrollar este trabajo con un material que consideramos de calidad excepcional.

La revisión de los trabajos que utilizan material humano para el estudio vascular de la corteza cerebral muestra un amplio rango en el número de casos estudiados. Así, mientras en los trabajos clásicos de Gillilan (1974) se utilizan más de mil encéfalos humanos, estudios más recientes que aplican técnicas de reconstrucción tridimensional por ordenador, están basados en un número de encéfalos cien veces inferior (Gloger y cols., 1994 a,b,c). En este sentido pensamos que el número de casos estudiados por nosotros, aunque no es elevado, es suficiente si tenemos en cuenta la dificultad de la obtención de encéfalos

humanos en condiciones óptimas, el número de muestras observadas en cada región, la existencia de unos criterios metodológicos bastante claros y establecidos a la hora de desarrollar la técnica de inyección intravascular y corrosión, la aceptación general de esta técnica por la comunidad científica, así como el número de casos que se utilizan en estudios similares (Duvernoy y cols., 1981).

La utilización de material procedente de cadáveres conlleva a la aparición de cierto número de artefactos cuando se aplican técnicas anatómicas para estudios vasculares (Christofferson y Nilsson, 1988). Sin embargo, este hecho, debidamente ponderado, no invalida su utilización, mientras que otras técnicas que pueden ser realizadas "in vivo", como la angiografía o la utilización de trazadores radioquímicos (Nakai y cols., 1989), no permiten el estudio minucioso de las características morfológicas del lecho microvascular. Por otro lado, y aunque alguno de los argumentos esgrimidos en contra de la utilización de material cadavérico son los cambios patológicos o degenerativos que puede presentar el lecho vascular, una de las futuras aplicaciones más relevantes de la técnica de inyección intravascular y corrosión, reside precisamente en la investigación de las alteraciones patológicas de los vasos (Levesque y cols., 1979; Konerding, 1991), en el estudio de la neovascularización (Burger y cols., 1983; Christofferson y Nilsson, 1992; Peao y cols., 1994; Plate y cols., 1994; Sasaki y cols., 1994), y en la demostración de aquellos cambios morfológicos transitorios a nivel vascular, que serían difíciles de observar por medio de otras técnicas, o podrían quedar enmascarados por los procedimientos convencionales del proceso de fijación tisular (Rogers y Gannon, 1983).

Aunque algunos estudios no indican el periodo de tiempo postmortem, el

lapso de tiempo tras el fallecimiento que se considera como satisfactorio para la realización de estudios vasculares en humanos oscila entre las 12 y las 18 horas, siendo necesario para algunos autores realizar un lavado efectivo del lecho vascular mediante suero salino fisiológico (Konerding, 1991; Phillis, 1994). Sin embargo, estudios inmunohistoquímicos del endotelio vascular, que requieren una viabilidad celular importante para su realización, han obtenido resultados satisfactorios con un periodo de tiempo post-mortem de más de 40 horas (Gorelova y cols., 1996). Nosotros pensamos que la no inclusión en el estudio de cadáveres con un periodo de tiempo tras el fallecimiento superior a las 18 horas, así como de aquellos cadáveres que presentaban alteraciones cerebrovasculares, traumáticas o degenerativas desde el punto de vista macroscópico, nos ha permitido reducir el número de posibles artefactos que pudieran resultar del estudio realizado. Así mismo, se acepta que la incidencia de patología cerebrovascular degenerativa es superior en individuos de edad avanzada (Duvernoy y cols., 1981; Kalaria y Hedera, 1995). Por ello hemos también intentado reducir la aparición de artefactos relacionados con la edad no incluyendo en el estudio individuos de edad superior a los 75 años, y potenciando la inclusión de individuos jóvenes. Así, la edad media de los sujetos que han sido estudiados era de 38 años.

## **1.2.- DISCUSIÓN DEL MÉTODO.**

### **1.2.1.- Técnica de inyección intravascular y estudio mediante microscopio electrónico de barrido.**

La metodología básica empleada en nuestro estudio ha sido la técnica de

inyección intravascular de resinas plásticas y la obtención de moldes de microcorrosión para su estudio mediante microscopio electrónico de barrido, y de forma colateral y preliminar el uso de técnicas inmunohistoquímicas y la observación mediante microscopio láser confocal.

La técnica de la utilización de moldes de corrosión es un método relativamente antiguo, que ya fue utilizado en la Edad Media con el objeto de observar el interior de los órganos y del sistema vascular (Konerding, 1991). En los últimos 20 años ha existido un renacimiento de estas técnicas, especialmente a partir de la introducción de materiales plásticos resistentes al estudio mediante microscopía electrónica de barrido (Murakami, 1971). Sin embargo, del total de las 549 publicaciones científicas que utilizan esta técnica hasta 1990, solamente 142 tenían una relación parcial o total con material humano (Konerding, 1991). De éstos, el 68,3% se centran en el estudio de ocho órganos: cerebro (7,8%), globo ocular (13,4%), pulmón (7%), placenta (6,3%), riñón (6,3%), hígado (12%) y tumores (7%).

Para la técnica de inyección intravascular hemos utilizado mayoritariamente la inyección de la resina Mercocox<sup>®</sup>, en su preparación comercial de color azul (Cl-2B), seguida de una corrosión del tejido y observación de las muestras mediante microscopio electrónico de barrido.

Desde los trabajos de Hodde y Nowell (1980) y Christofferson y Nilsson (1988), se estableció que las mejores resinas plásticas para el estudio del árbol vascular debían cumplir una serie de criterios, que son:

- a. No ser tóxico para el investigador ni para el sistema objeto de estudio.

- b. Tener una viscosidad suficientemente baja, o estar compuesta por partículas cuyo tamaño permita su paso al territorio capilar.
- c. Ser fisiológicamente inerte en el sistema que se inyecta.
- d. Polimerizar en un intervalo de 3 a 15 minutos.
- e. No sufrir retracción.
- f. Permitir la microdissección.
- g. Resistir el proceso de corrosión.
- h. Ser visible al microscopio estereoscópico durante la corrosión.
- i. Mantener la configuración estructural durante el secado de las muestras.
- j. Ser conductivo.
- k. Ser resistente al bombardeo electrónico.
- l. Tener capacidad de réplica de los pequeños detalles del lumen de la pared vascular.

Entre los medios utilizados para la técnica de inyección intravascular y corrosión se encuentran los compuestos de goma y las resinas de poliéster. Hodde y Nowell (1980) destacan que las principales ventajas de los compuestos de goma son el mínimo incremento en la viscosidad durante la inyección, la posibilidad de orientación del espécimen bajo microscopio de disección, debido a la opacidad del medio, y la resistencia a la microdissección debido a sus características elásticas. Sin embargo, este tipo de compuestos no proporcionan una buena réplica de las estructuras lumbales de la pared vascular (Ohtani y Murakami, 1992). En este grupo se encuentran compuestos como el Cementex (Nowell y cols., 1970), el Vultex (Nowell y cols., 1972) y el Geon látex (Frasca y cols., 1978). Las características de este tipo de compuestos han permitido su utilización sobre todo en moldes del árbol respiratorio y en microvasos pulmonares (Ohtani y Murakami, 1992).

Las resinas de poliéster, como el metilmetacrilato, han sido las más utilizadas para la obtención de moldes de microcirculación. La inyección intravascular de metilmetacrilato y su posterior estudio mediante microscopia electrónica de barrido fue introducida por Murakami (1971). Gannon (1981) observó que la polimerización parcial del metilmetacrilato, mediante la utilización de radiación ultravioleta, mejoraba la viscosidad de la mezcla, que podía ser ajustada mediante el tiempo de irradiación. Entre los preparados comerciales de metilmetacrilato parcialmente polimerizados, que se han utilizado para la inyección intravascular y posterior corrosión, se encuentran el plástico Batson n° 17, el Technovit 8001, el Mercocox<sup>®</sup>, el Trylon y el Araldit CY 223.

Aunque actualmente no existe una resina plástica que cumpla con los doce criterios mencionados anteriormente, de todas las existentes en el mercado la resina Mercocox<sup>®</sup> es la más utilizada, especialmente a partir de los resultados obtenidos por Miodonsky y cols. (1981).

Los dos parámetros que condicionan de forma más importante las características de una resina plástica para su aplicación en estudios vasculares son su viscosidad y su índice de retracción que se manifiesta durante el proceso de polimerización de la misma.

Mercocox Cl-2B tiene una viscosidad aproximada de 35 cp, según Weiger y cols. (1986), y de 27 cp según Schraufnagel (1987). Diferentes autores han señalado que esta viscosidad puede ser disminuída si se añade un 25% de metilmetacrilato (Ohtani y Murakami, 1992). Nuestra experiencia no demuestra que esta dilución comporte una mejor replección del lecho vascular. En cambio, sí que hemos observado la aparición de un mayor número de artefactos en la

superficie de los moldes. Este hecho, unido a que la disminución de la viscosidad de cualquier resina polimerizable comporta un aumento de su porcentaje de retracción (Weiger y cols., 1986), y al hecho de que la utilización de metilmetacrilato puede dañar el endotelio vascular aumentando su permeabilidad si no se ha realizado una prefijación (Schraufnagel, 1987), nos han llevado a la no utilización de la dilución en un 25% del Mercocox® con metilmetacrilato.

El índice de retracción del Mercocox® CL-2B oscila entre un 8% y un 6% (Weiger y cols., 1986; Konerding, 1991). Este porcentaje es menor del que presentan otras resinas como el hidroxipropilmetacrilato, y muy inferior al que se observa en el procesado de tejidos para microscopía óptica y/o electrónica, donde la retracción del tejido puede alcanzar el 50% (Konerding, 1991). A pesar de que la retracción de las resinas plásticas es uno de los aspectos negativos más evocados, se trata de un fenómeno constante que, en estudios morfométricos, puede ser corregido mediante la introducción de un factor de corrección.

El Araldit CY 223 y el Araldit F de Ciba-Geigy son otro tipo de resinas polimerizables derivadas de los metacrilatos, que han sido utilizadas para el estudio de la vascularización de diferentes órganos. Esta resina tiene una viscosidad, a 20°C, de 1,5 veces la viscosidad de la sangre, un tiempo de polimerización de 45 minutos y un poder de retracción del 4%. Van der Zwan y Hillen (1990) utilizaron Araldit F para el estudio de la microcirculación cerebral en sustitución del Araldit CY 223. Rodríguez-Baeza y cols. (1995) han utilizado este tipo de resinas en el estudio de la vascularización de órganos humanos y de animales. Nosotros empleamos en un caso Araldit CY 223 en este estudio, obteniendo una buena calidad de replicación del endotelio vascular. No obstante, el nivel de replección y la densidad vascular fue menor que en los

moldes obtenidos tras la inyección de Mercocox<sup>®</sup>, encontrando paso de la resina al territorio venoso solamente de forma ocasional, por lo que optamos claramente por la utilización habitual de la resina Mercocox<sup>®</sup> en este estudio.

Previamente a la inyección de resinas plásticas en el lecho vascular, diferentes autores han señalado la necesidad de realizar un lavado del mismo con suero salino fisiológico o mediante el empleo de otras soluciones isotónicas, como el Tyrode o la solución de Ringer (Murakami, 1971; Castenholz y cols., 1982; Lametschwandtner y cols., 1984; Auer y cols., 1987; Konerding y cols., 1988). En determinados casos, algunos autores realizan además un lavado del lecho vascular con sustancias anticoagulantes, como por ejemplo, mediante soluciones de heparina (Hodde y Nowell, 1980; Kardon y cols., 1982; Aharinejad y Böck, 1993; Aharinejad y cols., 1993; Gaudio y cols., 1993; Franz y Aharinejad, 1994) No obstante, Ohtani y Murakami (1992) señalan que la omisión de la utilización de heparina no comporta ninguna diferencia significativa en los moldes vasculares que obtienen. Grocki y Dermietzel (1984) realizan una perfusión del lecho vascular mediante fibrinógeno y trombina, la cuál según ellos incrementaría la preservación de la estructura y la ultraestructura de los vasos cerebrales.

Christofferson y Nilsson (1988) proponen realizar un lavado previo del lecho arterial utilizando heparina y sustancias vasodilatadoras, como la papaverina y el polivinilo de pirrolidona. Sin embargo, el uso de estas sustancias puede enmascarar la representación sobre el molde vascular de estructuras vasoconstrictoras reguladoras del flujo sanguíneo.

De acuerdo con los trabajos de Schmidt y cols. (1988), Ditrich y



Splechtna (1989) y Carretero (1993) nosotros no hemos llevado a cabo ningún tipo de lavado previo del lecho vascular, con objeto de evitar lesiones a nivel de la microcirculación que pudieran provocar importantes extravasaciones de la resina durante el proceso de inyección.

La utilización de una inyección previa de soluciones fijadoras, a base de glutaraldehído o formaldehído, también ha sido propuesta por algunos autores con objeto de obtener una mayor calidad de replicación del endotelio vascular (Anderson y Anderson, 1978a; Castenholz y cols., 1982; Lametschwandtner y cols., 1984). Sin embargo, Christofferson y Nilsson (1988) señalan que la prefijación retrasa el proceso de corrosión, y Ohtani y Murakami (1992) indican que la perfusión de soluciones fijadoras previamente a la inyección de la resina, provoca vasoconstricción, dificultando en consecuencia, una correcta replección durante el proceso posterior de inyección de la resina. En este sentido, Schraufnagel (1987) postula que la no utilización de soluciones fijadoras con glutaraldehído o formaldehído disminuye la retracción necesaria que se produce durante la polimerización de las resinas inyectadas. Nosotros hemos optado por no realizar inyecciones previas de soluciones fijadoras, después de haber obtenido moldes de buena calidad en experiencias previas (Sahuquillo y cols., 1996; Sahuquillo y cols., en prensa a,b), y especialmente con el objetivo de evitar fenómenos de vasoconstricción y vasoespasmo.

La canulación de los vasos a inyectar se ha realizado con angiocatéteres, que fueron ligados a la pared vascular mediante ligadura mecánica para evitar el reflujo de la resina. La ligadura química mediante cianocrilato empleada por otros autores (Carretero y cols., 1993) no fue necesaria en nuestro caso, debido al diámetro de los vasos inyectados.

La inyección de la resina la hemos realizado utilizando jeringuillas de control manual como han hecho otros autores (Hodde y Nowell, 1980; Lametschwandtner y cols., 1984; Konerding y cols., 1988). Ohta y cols. (1990) propusieron una nueva metodología para llevar a cabo la inyección intravascular, que consiste en la inyección de concentraciones de resina crecientes en viscosidad. Nosotros pensamos que esta metodología puede conllevar la aparición de un mayor número de terminaciones ciegas, debido a la polimerización parcial que se produce de la resina mientras se inyecta o prepara una nueva resina de viscosidad diferente.

La utilización de material cadavérico humano no permite, en muchas ocasiones, una inyección total del órgano que se pretende estudiar. La inyección total está dificultada por el gran volumen de medio de inyección que se necesita a tal efecto, por lo que generalmente se realizan inyecciones selectivas de territorios vasculares a través de la canulación de pequeñas ramas arteriales. Por otro lado, las inyecciones parciales en estudios que utilizan material cadavérico humano, se hacen necesarias si se quiere rentabilizar dichas muestras aplicando diferentes técnicas de estudio. Sin embargo, la utilización de animales de experimentación de pequeño volumen como la rata, permite una inyección completa de la resina en todos los órganos, utilizando el bombeo cardíaco del propio animal, lo que supone unas condiciones de inyección más próximas a la fisiología circulatoria (Konerding, 1991).

El proceso de corrosión de las muestras no ha estado exento de problemas. En los trabajos de inyección intravascular que obtienen moldes para el estudio mediante microscopia electrónica de barrido, se han empleado diferentes sustancias y en diversas concentraciones durante el proceso de corrosión de las

muestras. Las más utilizadas, en función del tejido en estudio, son el hidróxido de potasio (Duvernoy y cols., 1981; Castenholz y cols., 1982; Kardon y cols., 1982; Lametschwandtner y cols., 1984; Motti y cols., 1987; Christofferson y Nilsson, 1988; Aharinejad y Böck, 1993) y el hidróxido de sodio (Murakami, 1971; Hodde y Nowell, 1980; Lametschwandtner y cols., 1984; Aharinejad y Böck, 1992). Sin embargo, y siguiendo los protocolos de estos autores, la corrosión del tejido nervioso humano que estudiábamos se llevaba a cabo en periodos de tiempo muy largos. Por este motivo, hemos adoptado el protocolo de Sims y Albrecht (1993), que señalan que el método más efectivo para la corrosión de tejidos con un alto contenido lipídico, en especial el tejido nervioso, consiste en mantener la muestra en solución de hidróxido de potasio (KOH) al 5% durante 8 horas a 45°C, y posteriormente realizar baños de KOH al 1% a la misma temperatura. Estos autores señalan que el mantenimiento de las muestras en KOH al 5% durante un periodo superior a las 8 horas, provoca la formación de micelas de difícil corrosión. Ohtani y Murakami (1992) resaltan también el hecho de que la corrosión mediante soluciones de hidróxido de sodio de tejidos ricos en lípidos provoca con frecuencia la aparición de depósitos grasos saponificados.

Tras el proceso de corrosión, la mayor parte de los autores señalan la necesidad de realizar una limpieza de posibles restos orgánicos que hubieran podido quedar sobre la superficie del molde vascular. Con este fin hemos utilizado un baño de las muestras en hipoclorito sódico al 20%, aunque puede ser utilizado el ácido fórmico al 5% (Aharinejad y Böck, 1993; Aharinejad y cols., 1993, 1994) o el ácido tricloroacético (Gaudio y cols., 1993).

Es conveniente realizar lavados en agua destilada previamente al montaje

de las muestras sobre los soportes metálicos. Sin embargo, el mantenimiento en agua destilada durante periodos prolongados, conlleva a la aparición de depósitos cristaloides, y la alteración de la superficie del molde vascular en forma de numerosos y pequeños pliegues de distribución aleatoria (Carretero, 1993).

La observación de los moldes de corrosión mediante microscopio electrónico de barrido, requiere el metalizado de las muestras, ya que las resinas plásticas no son conductoras de los electrones. El metalizado se realiza habitualmente mediante el recubrimiento de las muestras con una capa de material conductor. En nuestro caso hemos llevado a cabo un baño de oro de las muestras, siguiendo los parámetros utilizados por Ditrich y Splechtna (1986). Estos autores utilizan un voltaje de 6-7 kv, y una intensidad de 10-12 mA durante un periodo de tiempo de 7-10 minutos.

La observación de este tipo de muestras mediante microscopio electrónico de barrido debe realizarse a bajo voltaje, con objeto de no producir deformaciones por la temperatura o rotura de pequeños capilares (Schraufnagel, 1987). Nosotros hemos observado las muestras a una aceleración de voltaje de 5 a 10 kv.

El látex natural es también una sustancia plástica polimerizable que en nuestro ámbito de trabajo hemos utilizado en estudios de inyección intravascular (Rodríguez-Baeza, 1989; Ruberte y cols., 1991). Se colorea fácilmente con dispersiones pigmentarias (Unispers). El proceso de polimerización del látex natural es mucho más lento que el de los metacrilatos, lo que permite una inyección mucho más pausada de la red arterial. Sin embargo, su poder de

penetración no le permite alcanzar el territorio capilar, por lo que lo hemos utilizado para el estudio de la distribución en la superficie de los hemisferios de las arterias cerebrales, así como de los vasos arteriales de la red pial.

Existen otros materiales que pueden ser inyectados para el estudio del lecho vascular, como la tinta china gelatinada (Lange y Halata, 1979; Duvernoy y cols., 1981). Esta técnica permite el llenado de capilares muy pequeños, así como la utilización de técnicas histológicas de forma paralela. Sin embargo, no se consiguen imágenes tridimensionales de distribución del lecho vascular, y la ampliación de las imágenes que se obtienen es insuficiente, lo que hace difícil el estudio de detalles estructurales de la pared vascular mediante esta técnica.

### **1.2.2.- Técnica de inyección intravascular y estudio mediante microscopio láser confocal.**

El proceso de maceración y corrosión que precede al estudio de moldes de corrosión intravascular mediante microscopía electrónica de barrido comporta la pérdida de todos los componentes tisulares que rodean al molde de la luz vascular, que ha sido rellenado tras la inyección de resinas polimerizables resistentes al proceso de corrosión. Por tanto, los moldes de corrosión vascular son el esqueleto tridimensional vascular de un tejido, alrededor del cuál se organizan los componentes extravasculares. Rogers y Gannon (1983) consideran que los cambios morfológicos de este esqueleto representan cambios a nivel de los componentes tisulares que lo envuelven.

Con objeto de obtener información acerca de los componentes celulares y tisulares que rodean los moldes de corrosión, hemos realizado la inyección de

resina Mercocox<sup>®</sup> mezclada con una sustancia fluorescente como es el naranja de acridina.

La combinación de resinas polimerizables con sustancias fluorescentes, como la rodamina, y su estudio mediante el microscopio láser confocal, ha sido descrita de forma preliminar por Castenholz (1995). Este autor señala la importancia de esta técnica de cara al estudio de estructuras adyacentes al molde vascular, así como su papel en la mejor comprensión, desde el punto de vista morfológico y fisiológico, de los moldes de corrosión intravascular estudiados mediante microscopio electrónico de barrido.

Nosotros hemos utilizado la combinación de la resina Mercocox<sup>®</sup> con naranja de acridina, debido a la capacidad de emisión de ésta de una doble fluorescencia, según se combine con diferentes estructuras como los ácidos nucleicos (Clark, 1981).

### **1.2.3.- Técnica histológica inmunohistoquímica.**

Las técnicas inmunohistoquímicas se han convertido en técnicas histológicas de rutina para la identificación precisa de los diferentes constituyentes tisulares. Su principal aplicación se basa en la capacidad de dichas técnicas para identificar, de un modo específico, aquellas estructuras que no pueden ser caracterizadas a través de las tinciones histológicas convencionales. El amplio rango de antisueros existente en el mercado, la mejora de la conjugación anticuerpo-enzima, y la variedad de métodos disponibles, han eliminado la mayor parte de los problemas asociados con la inmunocitoquímica (Robinson y cols., 1990).

La inmunocitoquímica es una técnica que se utiliza para la identificación celular o de constituyentes tisulares (antígenos), basada en la interacción antígeno-anticuerpo. Esta unión es puesta de manifiesto por una tinción específica del anticuerpo, o mediante la utilización de un método de marcaje secundario. Este revelado se puede realizar mediante cromógenos como la diaminobenzidina, el etilcarbazol, el cloro-naftol, el  $\alpha$ -naftol, o bien, a través de sustancias fluorescentes como ha sido en nuestro caso el isotiocianato de fluoresceína (FITC).

Entre los anticuerpos utilizados para la unión específica al constituyente tisular que se quiere identificar en cada caso (anticuerpo primario), los más utilizados son los anticuerpos de tipo IgG (Robinson y cols., 1990). El desarrollo de la técnica de hibridación, por Kohler y Milstein (1975), para producir anticuerpos monoclonales, ha permitido incrementar el rango, la cantidad y la calidad de los antisueros específicos.

Nosotros hemos utilizado un anticuerpo monoclonal del tipo IgG1, dirigido contra endotelio humano, denominado comercialmente MAS 336 (Sera-Lab). Su unión al tejido fue revelada mediante la utilización de un anticuerpo secundario unido a una molécula de biotina, y la posterior reacción específica con avidina, a la que se encontraba unida una molécula de FITC. Este método facilitó la observación de las muestras mediante microscopio láser confocal.

El proceso de fijación es esencial en los estudios de inmunocitoquímica, y puede determinar el éxito o el fracaso de esta técnica. A pesar de que el glutaraldehído es un fijador que proporciona una muy buena preservación de las características morfológicas del tejido, su fuerte unión a la superficie celular

provoca una alteración de muchos de los antígenos de superficie, por lo que no se recomienda su utilización para estudios de inmunocitoquímica (Bosman y Kruseman, 1979).

El método de fijación más ampliamente utilizado es la solución acuosa de formaldehído al 10%, en el que se ha demostrado la eficacia de numerosos anticuerpos (Robinson y cols., 1990).

Hancock y cols. (1982) compararon diferentes fijadores para la realización de técnicas inmunohistoquímicas. En su trabajo señalan que los que producen una menor afectación de la unión antígeno-anticuerpo de la superficie celular, son los que utilizan una base de formaldehído y etanol. Asimismo, indican que la mejor combinación para la obtención de un buen marcaje, a la vez que una adecuada preservación de la morfología tisular, es la fijación con peryodato sódico, lisina y paraformaldehído al 2% (PLP) durante 1-4 horas. Esta metodología produce un índice de fijación del 91% y no conlleva un deterioro de la unión específica. Nosotros hemos empleado la combinación de PLP utilizada por Holden y cols. (1986), en forma de paraformaldehído al 2%, lisina 0,75 M y peryodato sódico 0,01 M en tampón fosfato. Estos autores utilizan esta metodología de fijación para el marcaje de células endoteliales mediante la lectina UEA (*Ulex europaeus* agglutinin 1). La fijación con PLP ha sido utilizada por otros autores, siempre dentro del marco de las técnicas inmunohistoquímicas (Russell Jones y cols., 1986; Kalaria y Hedera, 1995).

A pesar de que Heyderman y Monaghan (1979) indican que la inclusión de las muestras en parafina, o en resinas epoxy, conservan la antigenicidad de los antígenos de membrana, nosotros hemos utilizado la congelación de las



muestras por inmersión en nitrógeno líquido, y posterior obtención de cortes de  $40\mu$  de grosor mediante criostato, técnica que permite un amplio rango en el grosor de los mismos (Clark, 1981).

## **2.- DISCUSIÓN SOBRE EL ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS ARTERIAS CEREBRALES.**

Las arterias cerebrales son los vasos responsables de la vascularización de la corteza cerebral. Su origen y distribución han sido estudiados por diferentes autores (Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976; Lippert y Pabst, 1985).

El origen de las arterias cerebrales tiene lugar a partir del polígono de Willis, círculo arterial anastomótico situado en la base del encéfalo, formado a partir de las arterias carótidas internas y el sistema arterial vértebrobasilar. La disposición normal del polígono de Willis presenta una morfología heptagonal, con tres lados de menor calibre que se corresponden con la arteria comunicante anterior y las dos arterias comunicantes posteriores. Esta morfología la hemos observado en todos los casos, aunque su frecuencia de aparición es inferior al 60% según diferentes autores (Hodes y cols., 1953; Riggs y Rupp, 1963; Puchades Orts y cols., 1976; Lippert y Pabst, 1985).

Las variaciones de las arterias cerebrales han sido estudiadas mediante técnicas de inyección intravascular y microdissección (Kennady y Taplin, 1967; Bradford-DeLong, 1973; Gillilan, 1974; Umansky y cols., 1988; Overbeeke y cols, 1994), mediante estudios angiográficos (Hodes y cols., 1953; Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978) y, recientemente, con técnicas de reconstrucción tridimensional (Gloger y cols., 1994a,b,c).

Existen importantes discrepancias a la hora de sistematizar las arterias cerebrales y sus ramas colaterales, que vienen dadas no tanto por las variaciones

anatómicas que se observan, sino por las diferentes nomenclaturas utilizadas en su descripción en cada caso. Gloger y cols. (1994a,b,c), mediante técnicas de inyección intravascular y reconstrucción tridimensional de imagen, han realizado una sistematización de las ramas colaterales corticales de las arterias cerebrales. En su estudio, aunque se basa en un número escaso de sujetos, llevan a cabo una revisión detallada de las diferentes nomenclaturas utilizadas. Sus trabajos ponen de manifiesto que la mayor discrepancia y variabilidad se observa en la sistematización de las ramas de distribución periférica de la arteria cerebral posterior.

Nuestros resultados concuerdan con la sistematización de Gloger y cols. (1994 a,b,c) y los estudios de Lazorthes y cols. (1976). No obstante hemos observado algunas variaciones menores que consistían básicamente en el origen común de algunas ramas colaterales, en variaciones en el origen de las ramas colaterales de la arteria cerebral posterior, y en el territorio cortical dependiente de la arteria calcarina, que no alcanzaba en todos los casos el polo occipital.

No hemos encontrado diferencias relevantes entre el diámetro de las arterias cerebrales anterior y posterior con respecto a los datos que se recogen en la literatura (Lazorthes y cols., 1976). Sin embargo, y aunque hemos observado que el diámetro de la arteria cerebral media era superior al del resto de arterias, en nuestros casos era marcadamente inferior al señalado por otros autores (Bradford-DeLong, 1973; Umansky y cols., 1988).

### **3.- DISCUSIÓN SOBRE LA RED ARTERIAL PIAL.**

La disposición del tronco principal de las arterias cerebrales, en la superficie de los hemisferios cerebrales, es en el fondo de los surcos cerebrales, y situadas profundamente a las venas superficiales (Duvernoy y cols., 1981). Esta disposición, que es la habitual, queda en algunas ocasiones modificada porque las arterias cruzan de forma perpendicular u oblicua la superficie de algunas circunvoluciones, especialmente en sus territorios más distales.

En el fondo de los surcos se originan ramas colaterales que se distribuyen en la superficie de las circunvoluciones, formando la denominada red arterial de conducción (Lazorthes y cols., 1976) o red arterial pial (Duvernoy y cols., 1981), siendo esta última la nomenclatura que nosotros hemos adoptado. Aunque clásicamente se ha dicho que los vasos de la red arterial pial se encuentran situados en el espacio subaracnoideo, estudios más recientes señalan que dentro de este espacio se encuentran envueltos por la piamadre, la cuál forma una capa celular interpuesta entre el espacio subaracnoideo y el espacio perivascular (Hutchings y cols., 1986; Lasjaunias y Berenstein, 1990). La separación de los espacios subaracnoideo y perivascular por la piamadre, puede jugar un papel protector frente a agentes vasoconstrictores, como por ejemplo frente al vasoespasmó que se produce tras una hemorragia subaracnoidea. No obstante, su papel funcional de barrera frente a sustancias particuladas, y su posible aplicación en la terapéutica intratecal, está todavía por elucidar (Hutchings y cols., 1986).

Existen pocos trabajos en la literatura que realicen un estudio anatómico pormenorizado de los vasos arteriales de la red pial. Duvernoy y cols. (1981) clasificaron en cuatro tipos los vasos de esta red arterial, cuyos diámetros oscilan

entre 280 $\mu$  y 50 $\mu$ . El primer tipo está constituido por aquellas arterias situadas en el centro de la circunvolución y que dan origen a numerosas ramas de trayecto sinuoso. El segundo tipo está formado por arterias que ocupan el resto de la superficie de la circunvolución y que siguen un trayecto angular, dando origen en cada ángulo a una rama colateral. El tercer grupo lo constituyen las arteriolas que se originan en la concavidad del tronco arterial. Éstas, tras un corto recorrido, se dividen en numerosas ramas de trayecto divergente, que cubren a modo de cepillo la superficie de la circunvolución. Los vasos del cuarto tipo son arteriolas de pequeño diámetro, no precisado por los autores, que después de un largo recorrido en la superficie finalizan en el estrato celular molecular del córtex.

Nuestras observaciones nos permitieron reclasificar los vasos arteriales de la red pial en arterias superficiales de primer, segundo y tercer orden en función de su diámetro. Las arterias de primer orden coinciden generalmente con las arterias centrales de la circunvolución de Duvernoy y cols. (1981), aunque incluimos en este grupo sus ramas de división dicotómica de mayor calibre. El trayecto de estos vasos es rectilíneo o sinuoso, y están dispuestos en la zona más superficial de la circunvolución. En nuestro estudio hemos comprobado que el diámetro de estos vasos oscilaba en general entre 250 y 500  $\mu$ .

Las arterias superficiales de segundo orden son vasos de menor diámetro, que tienen un trayecto angular o sinuoso que va cubriendo el resto de la superficie de la circunvolución, y que se originan a partir de las arterias superficiales de primer orden. Estos vasos corresponden a las arterias del segundo tipo de Duvernoy y cols. (1981), y tienen un diámetro que hemos valorado entre 100 $\mu$  y 150 $\mu$ . De la convexidad de sus angulaciones se originan

las ramas que hemos denominado arterias superficiales de tercer orden.

Las arterias superficiales de tercer orden tienen un diámetro que oscila entre las  $60\mu$  y las  $100\mu$ . Su trayecto es rectilíneo, o bien formando arcos de convexidad superior. Las arteriolas de trayecto divergente, a modo de cepillo, que constituyen el tercer grupo de Duvernoy y cols. (1981), solo las hemos observado ocasionalmente en el territorio vascular de la arteria cerebral anterior y, especialmente en el territorio de distribución de la arteria cerebral media. Esta peculiar disposición estaba formada por vasos superficiales de segundo y de tercer orden.

Respecto a los vasos superficiales del cuarto tipo de Duvernoy y cols. (1981), para nosotros son arteriolas penetrantes, ya que corresponden a colaterales o terminales de los vasos superficiales de tercer orden que se distribuyen en la zona más superficial de la corteza. Los vasos que nosotros hemos observado que se distribuían en la zona más superficial de la corteza eran escasos, de pequeño calibre ( $10-20\mu$ ) y poco ramificados, con un corto recorrido que se iniciaba a partir del trayecto superficial de arteriolas corticales de mayor calibre, o bien a partir de su trayecto cortical inicial.

La ausencia de capilares a nivel de la red vascular pial, que al igual que otros autores (Kennady y Taplin, 1967; Duvernoy y cols., 1981) hemos constatado en nuestras observaciones, puede jugar un importante papel en el mantenimiento del flujo sanguíneo cerebral, ya que la sangre se ve obligada a pasar a lo largo del parénquima cerebral antes de alcanzar el territorio venoso pial.

La presencia de anastomosis entre arterias superficiales de la red pial, dependientes de una misma arteria cerebral, ha sido un hallazgo infrecuente en nuestro estudio. Stephens y Stilwell (1969) señalaron que este tipo de anastomosis era excepcional. Nosotros no hemos tenido la ocasión de observar las anastomosis término-terminales de diámetro considerable (de 25 a 90 $\mu$ ) como las descritas por Duvernoy y cols. (1981), aunque sí hemos constatado la presencia de anastomosis de menor diámetro situadas en el trayecto superficial de las arterias corticales, en el punto donde éstas se incurvan para penetrar en la corteza cerebral. Este tipo de anastomosis nos sugiere un posible papel funcional en la concentración del flujo sanguíneo en determinadas regiones de una circunvolución.

Algunos estudios experimentales llevados a cabo en médula espinal, recogen la presencia de un mayor número de anastomosis del sistema arterial y venoso, con respecto al cerebro; este hecho se ha relacionado con una mayor frecuencia de trombosis cerebral con respecto a la espinal (Naka y cols., 1987). La no existencia de anastomosis arteriovenosas a nivel superficial participa en la función de asegurar que el flujo sanguíneo deba pasar obligatoriamente a través de la red vascular cortical antes de drenar en las venas superficiales.

Numerosos autores han señalado la existencia de diferencias regionales en la vascularización de la corteza cerebral (Lazorthes y cols., 1976; Duvernoy y cols., 1981; Williams y Warwick, 1985; Lasjaunias y Berenstein, 1990). Sin embargo, la constatación de diferencias regionales en la red arterial pial ha sido mucho menos valorada. En este sentido nosotros destacamos la alta densidad vascular que hemos encontrado en el territorio superficial dependiente de la arteria cerebral posterior, constituida por vasos de primer y segundo orden de

trayecto sinuoso, y vasos de menor diámetro de trayectos arciformes. Asimismo, hemos observado que el territorio superficial dependiente de las arterias cerebrales anterior y media se caracterizaba por una menor densidad vascular, y por vasos superficiales de segundo y tercer orden de trayecto corto.



#### **4.- DISCUSIÓN SOBRE LA RED ARTERIAL CORTICAL.**

Las arterias responsables de la irrigación de la propia corteza cerebral, denominadas arterias intracerebrales por Stephens y Stilwell (1969), se originan a partir de las arterias superficiales de tercer orden o de sus ramas colaterales, aunque ocasionalmente hemos observado su origen de forma directa a partir de vasos superficiales de segundo o de primer orden. La mayoría de los autores clasifican las arterias intracerebrales en arterias propiamente corticales y arterias medulares o de la sustancia blanca (Duret, 1874; Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976; Williams y Warwick, 1985). Nosotros hemos adoptado la nomenclatura de arterias corticales según Duvernoy y cols., 1981.

Las arterias corticales tienen un diámetro inferior a las  $50\mu$  (Kennady y Taplin, 1967) aunque Lazorthes y cols. (1976) indican que el diámetro oscila entre las  $50\mu$  y las  $100\mu$ . Nosotros hemos observado que su diámetro medio era de  $50\mu$ , y que oscilaba entre 20 y  $90\mu$ .

La sistematización de las arterias corticales y su relación con los distintos estratos celulares de la corteza cerebral, o angioarquitectonía, fue iniciada con los estudios de Duret (1874) y Charpy (1901). Posteriormente destacaron los estudios de Pfeifer (1930) y Lazorthes (1961), y más recientemente, el estudio de la vascularización de la corteza cerebral realizado por Duvernoy y cols. (1981). Estos últimos autores clasificaron las arterias cerebrales en seis categorías, en función de su grado de penetración en la corteza cerebral. Nosotros hemos observado que las arterias propiamente corticales se podían agrupar en tres categorías: las arterias corticales cortas, las arterias corticales medias y las arterias corticales largas; además consideramos un cuarto grupo

formado por las denominadas arterias transcorticales. Las arterias corticales cortas corresponderían al grupo 2 de Duvernoy y cols (1981); las arterias corticales medias corresponderían al grupo 3 de Duvernoy y cols. (1981), aunque hemos observado que su diámetro era algo superior (entre 30 y 60  $\mu$ ). Las arterias corticales largas se corresponderían con las arterias del grupo 4 de Duvernoy y cols. (1981), aunque también hemos observado que su diámetro era superior. Los grupos 5 y 6 de Duvernoy y cols. (1981) se corresponden con las arterias transcorticales de nuestra clasificación. Éstas son arterias de mayor calibre que las anteriores, que alcanzan la sustancia blanca, pudiéndose incurvar y adoptar una disposición paralela a la superficie en la zona yuxtsubcortical. Algunos de estos vasos no dan origen a ramas colaterales a lo largo de su trayecto en la corteza cerebral (grupo 6 de Duvernoy y cols., 1981), mientras que otros sí lo hacen, las cuáles se ramifican sobre todo en los estratos profundos de la corteza.

A pesar de que uno de los parámetros más utilizado para la clasificación de las arterias corticales es la longitud de su trayecto intracortical, nosotros hemos observado que la profundidad que alcanzan los vasos en la corteza cerebral varía en función del territorio vascular que se considere. Existen diferencias en el grosor de territorios vasculares del córtex dependientes de las diferentes arterias cerebrales, de tal forma que el grosor de la corteza cerebral era máximo en el territorio dependiente de la arteria cerebral anterior, y mínimo en el territorio dependiente de la arteria cerebral posterior.

Solamente Duvernoy y cols. (1981) han realizado una clasificación de las ramas colaterales de las arterias corticales. Estos autores clasificaron en tres tipos (superficiales o primarias, intermedias o secundarias, y profundas o terciarias)

las ramas colaterales de cualquier arteriola cortical. Nosotros hemos diferenciado el patrón de división de los diferentes tipos de arterias corticales, a partir de la clasificación de Duvernoy. La presencia de ramas colaterales en las arterias corticales cortas no es constante, al igual que su morfología, que puede ser oblicua hacia la profundidad o paralela a la superficie. Las ramas colaterales de las arterias corticales medias las hemos clasificado en primarias o superficiales, y en secundarias o profundas, las cuales se distribuyen en la zona media de la corteza cerebral. La clasificación de las ramas colaterales de las arterias corticales largas también la hemos realizado en función de su nivel de origen y morfología. De este modo hemos clasificado estas ramas colaterales en primarias, secundarias que son las más abundantes, y terciarias que ocupan la zona profunda de la corteza cerebral.

Son muchos los autores que han señalado que existen diferencias en la vascularización entre diferentes áreas corticales (Craigie, 1945; Stephens y Stilwell, 1969; Lazorthes y cols., 1976; Duvernoy y cols., 1981). Además, Duvernoy y cols. (1981) han descrito bandas de diferente densidad vascular, y de disposición paralela a la superficie, dentro de una misma zona cortical, que estaría en relación con la celularidad y la orientación de las fibras nerviosas. Duret (1874) ya estableció tres zonas vasculares diferentes en la corteza cerebral: una zona externa de  $100\mu$ , con una red vascular cuadrangular, dispuesta paralelamente a la superficie; una zona media de 2 mm de anchura formada por una red vascular poligonal; y una zona profunda de 1 mm de anchura con espacios vasculares más abiertos.

Sin embargo, nosotros hemos considerado las diferencias de grosor de los moldes vasculares dependientes de las distintas arterias cerebrales, y a partir de

nuestras observaciones hemos descrito cuatro estratos de densidad vascular diferente, dispuestos de forma paralela a la superficie. El más superficial, y que hemos denominado zona subpial, corresponde a una estrecha franja casi totalmente desprovista de vasos capilares, pero atravesada por vasos que descienden hacia zonas más profundas. Ocasionalmente se observan en esta zona vasos de muy pequeño calibre y poco ramificados, que se corresponden con ramas colaterales de las arterias corticales en su trayecto inicial o superficial, y que podríamos correlacionar con las arterias corticales del primer grupo de la clasificación de Duvernoy y cols. (1981). Sin embargo, nosotros no hemos observado la disposición horizontal a la que los citados autores hacen mención, cuando describen un primer estrato vascular cortical, correspondiente a la zona profunda del estrato molecular, formado por vasos de disposición paralela a la superficie. La zona subpial tiene una anchura media que oscila entre las  $252\mu$ , en el territorio de la arteria cerebral posterior, y las  $374\mu$  en el territorio de la arteria cerebral anterior.

El segundo estrato vascular que hemos diferenciado es la zona capilar superficial, formada por vasos paralelos, y dispuestos perpendicularmente a la superficie de la corteza cerebral. Los vasos capilares que forman esta zona, hemos observado que proceden mayoritariamente de las arterias corticales cortas, y en menor medida de las ramas colaterales primarias de las arterias corticales medias. Los capilares de esta zona tenían un diámetro medio inferior al de otras zonas corticales. Para Duvernoy y cols. (1981) estos vasos se extienden en la parte superficial del estrato piramidal. En nuestro estudio hemos observado que el grosor medio de la zona capilar superficial era marcadamente inferior en la corteza dependiente de la arteria cerebral posterior.

El tercer estrato vascular lo hemos denominado como zona capilar media, y está formado por capilares de mayor diámetro, trayecto sinuoso y multidireccional con respecto a la superficie de la corteza cerebral. Los vasos de este estrato se originan a partir de las ramas colaterales secundarias y de las ramas terminales de las arterias corticales medias, así como de las ramas colaterales secundarias de las arterias corticales largas. Este estrato, junto con el estrato vascular profundo, son los de mayor grosor y densidad vascular (Dunning y Wolff, 1937; Dudley, 1982). Duvernoy y cols. (1981) han correlacionado el tercer estrato vascular con la parte interna del estrato piramidal, la granular interna y la porción externa del estrato ganglionar.

La zona capilar profunda que hemos observado, está formada por capilares de disposición mayoritariamente horizontal, procedentes de las ramas colaterales terciarias y de las ramas terminales de las arterias corticales largas. Para Duvernoy y cols. (1981) son capilares de orientación multidireccional, cuya densidad disminuye a medida que nos acercamos a la sustancia blanca. Nosotros hemos observado que esta zona profunda de la corteza es generalmente una zona altamente vascularizada, con espacios intercapilares cortos.

Asimismo, también hemos observado que la red vascular cortical presenta variaciones entre la parte superior del gyrus y la zona profunda del surco, donde el grosor de dicha red es mínimo.

Duvernoy y cols. (1981) indican que en la red vascular de la corteza cerebral existen densificaciones del lecho capilar en forma de columnas perpendiculares a la superficie. Este hecho no ha sido observado en nuestro estudio, aunque sí hemos puesto de manifiesto la existencia de zonas,

aproximadamente circunferenciales, que se caracterizaban por una marcada disminución de la densidad capilar. Estas zonas podrían corresponder a áreas fisiológicamente cerradas al flujo sanguíneo, ya que en su periferia hemos observado abundantes terminaciones ciegas redondeadas de los moldes vasculares, aunque son hallazgos morfológicos que requieren una confirmación funcional. En este sentido, Duvernoy y cols. (1981), señalan que es posible observar bandas congestivas de la red vascular en la corteza cerebral humana, en relación con los niveles de CO<sub>2</sub> tisular y/o la inervación adrenérgica.

## **5.- DISCUSIÓN SOBRE LA RED VASCULAR ARTERIAL DE LA SUSTANCIA BLANCA.**

Diferentes autores han señalado la desproporción de densidades vasculares existente entre la vascularización de la sustancia blanca y la sustancia gris (Lazorthes y cols., 1976; Weiss y Edelman, 1976; Duvernoy y cols., 1981; Lasjaunias y Berenstein, 1990). Este hecho está en relación con la diferente estructura histológica de ambas zonas, que se manifiesta por una gran concentración de somas neuronales a nivel de la sustancia gris, que provoca que las necesidades metabólicas de ésta sean cinco veces superiores a las de la sustancia blanca (Kennady y Taplin, 1967).

Las arterias de la sustancia blanca, que fueron denominadas por Duret (1874) arterias largas o medulares, han sido el objeto de estudio de un menor número de investigadores (Lazorthes y cols., 1976; Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978; Duvernoy y cols., 1981; Vande Bergh, 1993). Estos autores han señalado que las arterias de la sustancia blanca finalizan su trayecto a través de pequeñas divisiones que se distribuyen en la capa subependimaria.

Nosotros hemos adoptado la nomenclatura de arterias transcorticales, por atravesar todo el córtex cerebral antes de alcanzar su destino final en la sustancia blanca, y en ellas hemos considerado dos tipos de disposiciones. En algunas ocasiones los vasos transcorticales de mayor diámetro se introducían perpendicularmente en la sustancia blanca, dando origen a ramas colaterales de trayecto recurrente o profundo, con capilares de disposición transversal, que en conjunto formaban una malla vascular rectangular de espacios amplios. En muchas ocasiones, las arterias transcorticales se incurvaban 90° en la zona

yuxtaparcortical, donde seguían un trayecto paralelo a la superficie, ocasionalmente marcadamente ondulado. Esta morfología ondulada o "en sacacorchos" es para algunos autores reflejo de las alteraciones que se producen en los vasos durante el proceso de envejecimiento, o en el curso de procesos patológicos vasculares (Campbell y cols., 1938; Wollschlaeger y Wollschlaeger, 1978; Duvernoy y cols., 1981). Sin embargo, nosotros hemos observado esta disposición de forma frecuente, incluso en individuos que no tenían una edad avanzada.

El papel de las arterias transcorticales en la irrigación de la propia corteza cerebral es limitado. En este sentido únicamente hemos observado la presencia de algunas colaterales de estas arterias que se originaban y distribuían en la zona más profunda de la corteza.

Hemos también observado arterias transcorticales de gran calibre en el territorio dependiente de la arteria cerebral anterior, que sin apenas ramificarse durante su recorrido, daban origen a una red vascular muy localizada, de baja densidad, situada a 5 mm de la superficie.



## **6.- DISCUSIÓN SOBRE IMÁGENES DE SUPERFICIE DEL MOLDE DE LA LUZ VASCULAR.**

### **6.1.- IMPRONTAS DETERMINADAS POR LAS CÉLULAS ENDOTELIALES.**

La técnica de los moldes de corrosión vascular se basa fundamentalmente en dos parámetros a la hora de determinar su calidad: la abundancia y la tipología de las terminaciones ciegas, y la presencia de las improntas de los núcleos de las células endoteliales (Schraufnagel, 1987; Christofferson y Nilsson, 1988).

Las improntas de los núcleos de las células endoteliales sobre la superficie de los moldes vasculares ha sido descrita por diferentes autores (Anderson y Anderson, 1978b; Hodde y Nowell, 1980; Lametschwandtner y cols., 1984; Konerding, 1991; Aharinejad y cols., 1993), que coinciden en señalar que a nivel arterial estas imágenes son alargadas o elípticas, orientadas a lo largo del eje longitudinal del vaso, con una relación diámetro mayor/diámetro menor de 2,5 - 4, mientras que a nivel venoso, estas impresiones son más profundas, de morfología redondeada, con una relación diámetro mayor/diámetro menor de 1 - 1,5. Este hecho está bien establecido, y es utilizado durante el estudio de los moldes vasculares para la diferenciación de los vasos arteriales y venosos. Algunos autores incluso han llegado a señalar que la relación longitud/anchura de las impresiones nucleares de los moldes vasculares, puede ser utilizada para la determinación de la dirección del flujo sanguíneo (Konerding, 1991).

En nuestro estudio hemos observado una variación gradual en la

morfología de las impresiones nucleares, desde las grandes arterias de la red pial que presentaban numerosas impresiones nucleares muy alargadas y dispuestas de forma ordenada, paralelas al eje principal del vaso, hasta las arteriolas precapilares y el territorio capilar, donde las impresiones nucleares eran redondeadas o ligeramente ovoideas.

En los diferentes estudios que utilizan la técnica de inyección intravascular y corrosión, la presencia de impresiones que se corresponden con la protusión luminal del núcleo de las células endoteliales está aceptada, y los criterios de diferenciación entre las impresiones nucleares correspondientes a células endoteliales de vasos venosos y arteriales están bien establecidos. No obstante, nosotros hemos también observado ocasionalmente la presencia de surcos lineales y estrechos sobre la superficie de los moldes vasculares, que consideramos se corresponden con los límites de las células endoteliales. Estos surcos formaban un mosaico que representa el negativo de las uniones endoteliales. Lossinsky y cols. (1995), en un estudio experimental realizado mediante microscopio electrónico de barrido, observaron la presencia de pequeñas vellosidades en las zonas de unión entre las células endoteliales, que podrían provocar la aparición de estas imágenes en la superficie del molde vascular.

## 6.2.- ANILLOS PLÁSTICOS.

Una de las estructuras anexas al molde de corrosión vascular que más han llamado la atención de los investigadores son lo que hemos denominado anillos plásticos, que se corresponden con el concepto de *plastic strips* de las publicaciones en lengua inglesa.

Los anillos plásticos, como su nombre indica, son estructuras en forma de anillo o fusiformes formadas por la propia resina, que se encuentran situadas alrededor del molde vascular formando un manguito plástico.

Son muchos los autores que hacen referencia a la existencia de estos artefactos alrededor del molde de corrosión vascular. Sin embargo, la explicación de su origen es controvertida.

Los anillos plásticos se han encontrado en moldes vasculares correspondientes a diferentes órganos y sistemas, tanto en animales de experimentación como en el hombre (Anderson y Anderson, 1978a, 1978b; Hodde y Nowell, 1980; Castenholz y cols., 1982; Schraufnagel, 1987; Christofferson y Nilsson, 1988; Aharinejad y Böck, 1993). Uno de los hallazgos constantes en todos los estudios es la localización de estas estructuras a nivel de moldes correspondientes a arteriolas o pequeñas arterias (Anderson y Anderson, 1978a; Christofferson y Nilsson, 1988). La localización y la morfología de los anillos plásticos ha hecho que la mayoría de los autores consideren estas estructuras como réplicas de las células musculares lisas de la pared de las arteriolas (Anderson y Anderson, 1978a; Hodde y Nowell, 1980; Castenholz y cols., 1982). La observación de imágenes similares a los anillos plásticos, que hemos constatado a través del microscopio láser confocal, tras la tinción inmunocitoquímica de las células musculares lisas de la pared vascular, mediante la utilización de un antisuero contra la proteína  $\alpha$ -actina, estaría de acuerdo con la hipótesis anterior.

Las arteriolas de la corteza cerebral se caracterizan por presentar, desde el punto de vista histológico, una túnica media constituida por una o dos capas

de células musculares lisas orientadas transversalmente, que se encuentran separadas de las células endoteliales por una gruesa lámina basal, formada por colágeno y fibras elásticas. La lámina basal se introduce entre células musculares adyacentes, y separa su superficie exterior de la adventicia (Peters y cols., 1991). A medida que disminuye el diámetro de las arteriolas, las células musculares lisas se hacen más delgadas y disminuyen en número, aumentando el espacio de separación entre las mismas. Las fibras elásticas de la lámina basal forman una membrana elástica interna continua en las grandes arteriolas. Sin embargo, esta membrana se encuentra muy fragmentada en las arteriolas de menor diámetro (Lazorthes y cols., 1976; Anderson y Anderson, 1978a; Lee, 1995), estando a este nivel directamente relacionada la célula muscular lisa con la célula endotelial. La existencia de contactos entre las células musculares lisas de la pared vascular y las células endoteliales ha sido puesta de manifiesto por diferentes autores (Dahl, 1973, Lange y Halata, 1979). Este hecho se ha relacionado con un posible control a través de mediadores químicos de la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral.

Aunque la mayor parte de los autores aceptan que los anillos plásticos se deben correlacionar con las células musculares lisas de la túnica media de las arteriolas, existe una importante controversia en cuanto al mecanismo por el cual se produce la imagen. Algunos autores señalan que los anillos plásticos son la consecuencia de una falta de corrosión de la pared vascular. Así, Schraufnagel (1987) considera que los anillos plásticos aparecen cuando existe una corrosión parcial, provocada por una cierta resistencia de la elastina de la membrana elástica interna a la digestión por parte de los álcalis. Christofferson y Nilsson (1988) también consideran a los anillos plásticos como el resultado de una corrosión incompleta. Sin embargo, estos mismos autores señalan que continúan

siendo una incógnita las cuestiones que hacen referencia a la unión de los anillos a la superficie del molde de corrosión vascular, y su localización específica a nivel de las arteriolas.

Aharinejad y Böck (1993), en un estudio acerca de los artefactos que se observan en los moldes de corrosión intravascular, desarrollan la hipótesis que denominan de infiltración o momificación, para dar explicación a la aparición de los anillos plásticos. Según esta teoría, un componente todavía sin identificar de la resina es capaz de penetrar en las células endoteliales, los hematíes y estructuras vecinas o anexas, como los miocitos o los pericitos. Este componente de la resina, que ha infiltrado material biológico, soporta el proceso de maceración y provoca la momificación de estas estructuras. Según estos autores, el proceso de polimerización, que conlleva un incremento de la temperatura, facilitaría la difusión de este componente. En su estudio señalan que cuando estas estructuras se estudian mediante microscopio óptico, existen restos de tejido adheridos a la superficie del molde, que no son la consecuencia de una corrosión insuficiente, ya que el estudio de estos moldes mediante microscopía electrónica de transmisión revela la presencia de resina en el interior de estos restos. Según este estudio, en la periferia de los moldes se observaba que la resina infiltraba el citoplasma de la célula endotelial, provocando su momificación, y haciéndola resistente al proceso de corrosión. El mismo proceso fue observado para células vecinas cercanas al endotelio. El fenómeno de la momificación fue puesto de manifiesto en las células sanguíneas que quedan atrapadas en el interior de la luz vascular. Según Aharinejad y Böck (1993), el fenómeno de infiltración y momificación está relacionado con la naturaleza de la resina. Es un hecho frecuente cuando se utiliza Plastoid® y es raro con la utilización de Mercox® diluído con metil-metacrilato. Sin embargo, nosotros hemos observado la

aparición de anillos plásticos de morfología similar, tanto con la utilización de Araldit como con la utilización de Mercocox<sup>®</sup>, diluído o no con metil-metacrilato.

Castenholz y cols. (1982) consideran que los anillos plásticos se forman por la ocupación del espacio subendotelial por parte de la resina, que rechazaría periféricamente la célula muscular lisa contra la membrana basal, ocupando el espacio que delimitan la lámina basal y el endotelio. Es lo que se denomina con el nombre de hipótesis de separación.

Para nosotros la presencia de comunicaciones bien delimitadas entre el molde de corrosión y los anillos plásticos, la perfecta delimitación de éstos, la buena definición de las comunicaciones entre anillos contíguos o próximos, y la homogeneidad de estas imágenes a lo largo de las diferentes muestras estudiadas, nos hacen rechazar la hipótesis de una falta de corrosión del tejido, así como el postulado acerca de la momificación de las células musculares lisas. Por el contrario, la existencia de una lámina basal que envuelve también externamente las células musculares lisas, separándolas de las células adyacentes (Peters y cols., 1991), unido a la existencia de uniones mioendoteliales, y la discontinuidad de la membrana elástica interna en arteriolas de pequeño diámetro (Anderson y Anderson, 1978a), podría favorecer el desarrollo de un espacio virtual que envuelve la célula muscular lisa tras el paso de resina a través de las uniones entre células endoteliales (Hodde y Nowell, 1980), y hacia la túnica media a través de las uniones mioendoteliales.

La existencia de una lámina elástica interna fuertemente desarrollada a nivel de las arterias cerebrales y sus ramas colaterales de la superficie cerebral (Stephens y Stilwell, 1969; Rhodin, 1977; Dudley 1982; Lee, 1995), podrían

explicar la ausencia de este tipo de estructuras en los vasos arteriales de primer y segundo orden de la red pial, y su aparición ocasional y en forma de anillos incompletos en las arterias superficiales de tercer orden, así como en las grandes arterias transcorticales.

### **6.3.- ESTRUCTURAS ANEXAS SIMILARES A PERICITOS.**

A medida que las arteriolas intracerebrales se introducen en el córtex y disminuyen su diámetro, se observa una pérdida de la túnica media formada por células musculares lisas, así como una fusión o aposición de la lámina basal de las células endoteliales y la limitante glial (*glia limitans*). Asociado a la pérdida de las células musculares lisas, se observa la aparición de pericitos, característicos de los vasos capilares, que también se han encontrado a nivel de las vénulas postcapilares (Rennels y Nelson, 1975; Díaz-Flores y cols., 1991; Peters y cols., 1991).

Los pericitos son células que están situadas en el espacio perivascular de los capilares, envueltos completamente por un desdoblamiento de la lámina basal. Presentan una serie de procesos citoplásmicos que se extienden alrededor de la pared del capilar, y que también se encuentran envueltos por la membrana basal (Peters y cols., 1991).

Entre los artefactos que hemos observado dispuestos de forma anexa a los moldes de corrosión vascular, se encuentran estructuras que hemos asociado con los pericitos. Estas estructuras se han observado únicamente a nivel capilar, y son morfológicamente muy similares a las descripciones histológicas de los pericitos,

con una zona dilatada que se correspondería con el cuerpo celular, y que se encuentra adosado a la superficie externa del molde vascular, y la presencia a partir de éste de una serie de prolongaciones que pueden llegar a envolver totalmente el molde capilar.

Así como al endotelio vascular y a las células musculares lisas se les ha prestado una gran atención durante las dos últimas décadas, actualmente respecto a los pericitos sigue existiendo una gran confusión en lo referente a su forma y distribución en el sistema nervioso central (Farrell y cols., 1987), a su metabolismo, a su función y a su patología (Tilton, 1991). Estas células se han asociado a diferentes funciones como la de ser capaces de regular el flujo sanguíneo capilar gracias a su potencial capacidad contráctil (Rouget, 1873; Zimmermann, 1923; Wallow y Burnside, 1980; Castejón, 1984; Joyce y cols., 1984; Díaz-Flores y cols., 1991), la de ser células que participan en los procesos de inflamación y reparación tisular (Díaz-Flores y cols., 1991), la de contribuir a la estabilidad de la pared del capilar (Aharinejad y Böck, 1992; Gaudio y cols., 1992), la de participar en la función de control y crecimiento de la célula endotelial (Tilton, 1991; Fujimoto, 1995), la de tener una actividad fagocitaria (Castejón, 1984; Sims, 1986; Farrell y cols., 1987; Díaz-Flores y cols., 1991), y la tener una función de síntesis y transporte de sustancias a través de la pared del vaso (Del Río-Hortega, 1921; Majno y Palade, 1961; Tilton, 1991).

Los pericitos se han observado en la mayoría de las secciones histológicas de capilares pertenecientes a diferentes tejidos. Sin embargo, el número de pericitos y el grado de cobertura de la circunferencia capilar por parte de éstos, muestra diferencias dependiendo de la localización topográfica, del tipo de vaso y del estadio de desarrollo. En este sentido, se ha observado que la superficie de



los capilares corticales en el adulto se encuentra menos cubierta que la de los capilares corticales inmaduros durante el desarrollo embrionario, hecho que se ha relacionado con la maduración de la barrera hematoencefálica (Díaz-Flores y cols., 1991).

El origen de los pericitos es controvertido (Roggendorf y cols., 1978), y se pone de manifiesto cuando se revisan los diferentes nombres que han recibido: células perivasculares, células periendoteliales, células musculares primitivas, células adventicias no definidas, células derivadas de microglía, etc. No obstante, generalmente se considera que son células de origen mesodérmico (Díaz-Flores y cols., 1991). Zimmerman (1923) señaló que se trataba de células musculares lisas modificadas, capaces de disminuir el diámetro capilar. En este sentido, Rhodin (1967) y Sims (1986) indican que existe un continuo entre la morfología de las células perivasculares a nivel del segmento arterial de la microcirculación, desde las verdaderas células musculares que rodean las arteriolas terminales, hasta los pericitos que rodean los vasos capilares. Nosotros hemos observado en los moldes de corrosión vascular formas transicionales a nivel de las arteriolas terminales, con anillos plásticos que presentaban terminaciones ramificadas que apoyan la idea anteriormente explicitada. A nivel histológico existe una transición gradual entre los pericitos y las células musculares lisas, con un incremento progresivo de miofilamentos, placas y cuerpos densos (Díaz-Flores y cols., 1991).

Williamson y cols. (1980) desarrollaron una técnica de visualización de los pericitos capilares, mediante la tinción con inmunofluorescencia de la membrana basal vascular, a nivel del músculo esquelético y de la retina. La

envoltura por parte de la membrana basal, tanto del cuerpo como de los procesos de estas células (Plenk, 1927; Rennels y Nelson, 1975; Aharinejad y Böck, 1992), evidenciaba la morfología de estas células, que resultaba ser muy similar a las imágenes que se observan en los moldes de corrosión, tanto en nuestro estudio como en trabajos llevados a cabo por otros autores (Díaz-Flores y cols., 1991; Tilton, 1991).

Este tipo de estructuras anexas al molde de corrosión han sido objeto de un menor número de estudios y desarrollo de hipótesis acerca de su aparición, si se las compara con el fenómeno de los anillos plásticos. En este sentido, diferentes estudios histológicos evidencian la presencia de uniones de tipo gap, y ocasionalmente tight junctions, entre las membranas de las células endoteliales y los procesos de los pericitos, en puntos donde la membrana basal se interrumpe (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Castejón, 1984; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991). En los moldes de corrosión vascular hemos observado estrechos puentes de resina que unían de forma constante estas formaciones con la superficie del molde. Del mismo modo que acontece a nivel de los anillos plásticos, la existencia de estas comunicaciones estrechas y la buena definición de estas estructuras, nos hace considerar la hipótesis de la salida de la resina a través de las uniones endoteliales y pericito-endoteliales, para envolver estas células y sus prolongaciones dentro del desdoblamiento de la membrana basal que ocupan.

La obtención de imágenes superponibles a la de los moldes de corrosión, que hemos conseguido con la inyección de la resina mezclada con naranja de acridina y observación mediante microscopio láser confocal, así como la visualización de comunicaciones emisoras de fluorescencia bien delimitadas, entre

la luz vascular y la estructura anexa, apoyarían la hipótesis de la separación de Castenholz y cols. (1982), en el sentido de que se produce un recubrimiento de estas células por parte de la resina. Por otro lado, la obtención de una doble fluorescencia en estas estructuras anexas, pensamos que debe interpretarse en un sentido similar a la hipótesis de infiltración de Aharinejad y Böck (1993), en el sentido de que la resina, o algún componente de la misma, tras rodear la célula ocupando el espacio delimitado por el desdoblamiento de la membrana basal, penetraría en el interior de la célula entrando en contacto con los ácidos nucleicos, y produciéndose en consecuencia un cambio en la longitud de onda de su emisión fluorescente.

## **7.- DISCUSIÓN SOBRE LAS CONSTRICCIONES DEL MOLDE VASCULAR.**

Diferentes autores han recogido el hecho de la presencia de constricciones en los moldes de corrosión vascular del sistema nervioso central y de otros órganos, relacionándolos con la contracción de las células musculares lisas de la pared vascular (Christofferson y Nilsson, 1988; Konerding y cols., 1988; Aharinejad y Böck, 1992; Aharinejad y cols., 1993).

Las constricciones consisten en una disminución localizada del diámetro del molde vascular, generalmente con recuperación del calibre vascular original distalmente a la constricción.

Christofferson y Nilsson (1988) señalan que las imágenes de constricciones en los moldes vasculares se corresponden con espasmos arteriolares. Sin embargo, nosotros también hemos observado la presencia de constricciones en moldes correspondientes a vasos de mayor calibre. Nakai y cols. (1981) encontraron, en moldes vasculares de la corteza cerebral de rata, la presencia de constricciones anulares en el origen de las arteriolas corticales a partir de las arterias piales, así como en los puntos de división de arteriolas de pequeño diámetro (15-30 $\mu$ ). Estos autores correlacionaron estas constricciones de los puntos de división de las arteriolas con la presencia de esfínteres precapilares.

Motti y cols. (1987) realizaron un estudio de las constricciones de los moldes vasculares a nivel de los vasos cerebrales en la rata. Estos autores definen las constricciones como fenómenos vasoespásticos, señalando que dichos fenómenos pueden variar desde anillos profundos aislados, vasos de superficie coarrugada con constricciones circulares, y agrupaciones de constricciones y dilataciones.

Asimismo, señalan que la mayoría de los fenómenos vasoespásticos se observaron a nivel de los vasos de la red arterial pial.

Christofferson y Nilsson (1988) clasifican en tres tipos las imágenes de constricciones vasculares. El primer tipo está formado por bandas de constricción, o hemiconstricciones, y las sitúa en el origen de pequeñas ramas colaterales, es decir, en puntos de división asimétricos de las arteriolas. Nosotros hemos observado estas bandas de constricción a nivel del origen de colaterales de la red pial, así como en el origen de algunas colaterales en el trayecto de las arteriolas corticales.

Kardon y cols. (1982), en un estudio histológico experimental en rata, encontraron la presencia de protusiones de la pared arterial hacia la luz vascular, que denominaron cojinetes intraarteriales. Estos cojinetes eran máximos en respuesta a estimulación  $\alpha$ -adrenérgica y a otros agentes vasoconstrictores como la fenilefrina, pudiendo jugar un papel en el control del flujo sanguíneo. Las bandas de hemiconstricción de los moldes vasculares podrían relacionarse con este tipo de estructuras. También Lange y Halata (1979), en un estudio experimental en dos especies de mamíferos sobre la ultraestructura de los vasos de la corteza del cerebelo, encontraron en los puntos de origen de ramas colaterales una estructura a modo de esfínter, formada por un cojín muscular que rodeaba el origen de la rama colateral, y que hacía protusión hacia el interior de la luz vascular.

El segundo tipo de constricciones definido por Christofferson y Nilsson (1988) está constituido por constricciones arteriolas localizadas, que producen una reducción de la luz vascular entre el 30 y el 50%. Este tipo de constricciones

las hemos observado en los vasos piales, en las arteriolas corticales, y a nivel capilar. En algunas ocasiones hemos constatado cómo dichas constricciones coincidían con una agrupación de anillos plásticos, fenómeno que también ha sido observado por Motti y cols. (1987).

El tercer tipo de constricciones de Christofferson y Nilsson (1988) está representado por segmentos vasculares en los que aparecen ondas de contracción y dilatación, con una reducción de la luz vascular del 5 al 20%. La longitud de este segmento vascular oscila entre 20 y 100 $\mu$ , y ha sido denominado con el nombre de área esfinteriana precapilar cuando se localiza a nivel de las arteriolas terminales, ya que según Nicoll (1971) y Anderson y Anderson (1978a) este segmento controlaría la presión de entrada al lecho capilar y el flujo sanguíneo de dicho territorio. También nosotros hemos observado la presencia de constricciones y dilataciones de forma alterna, no únicamente en el territorio precapilar, sino también a nivel superficial en el trayecto inicial de las arterias corticales.

A nivel de estos esfínteres precapilares la célula muscular lisa se dispone en forma circular, rodeando por completo la pared del vaso (Rhodin, 1967). Según este autor, el concepto de esfínter precapilar debe asignarse a la disposición circular de las células musculares lisas alrededor del origen de las ramas colaterales de las arteriolas terminales, donde la presencia de uniones mioendoteliales es mucho mayor que en el resto del trayecto de las arteriolas.

En este sentido, y a partir de nuestros resultados destacamos una variación en la morfología de los anillos plásticos entre las grandes arteriolas y las arteriolas precapilares. Mientras que en las primeras predominan las formas

fusiformes, a nivel precapilar predomina la morfología circular envolvente de la totalidad del molde vascular, hecho que está en consonancia con la disposición de las células musculares lisas a nivel de las arteriolas terminales y el área esfinteriana precapilar.

## **8.- DISCUSIÓN SOBRE LAS TERMINACIONES CIEGAS DEL MOLDE VASCULAR.**

Las terminaciones ciegas son un fenómeno que se observa con relativa frecuencia en los moldes de corrosión vascular. Los factores que pueden ser responsables de su aparición están en relación con las propiedades físicas de la resina que se inyecta, y con el estado fisiológico o patológico de la pared vascular y del tejido perivascular (Weiger y cols., 1986; Christofferson y Nilsson, 1988; Konerding, 1991).

La mayoría de los autores incluyen el fenómeno de las terminaciones ciegas dentro de los signos objetivables de un llenado incompleto del lecho vascular (Ohtani y Murakami, 1992). No obstante, esta replección incompleta puede no ser debida únicamente a un defecto metodológico del llenado vascular (elevada viscosidad del medio, burbujas de aire), sino que puede ser causado por obstrucciones localizadas del flujo (Hodde y Nowell, 1980).

Konerding (1991) clasificó las terminaciones ciegas en cuatro grupos:

- a) terminaciones ciegas causadas por un llenado incompleto del lecho vascular;
- b) terminaciones ciegas producidas por fragmentación del molde vascular;
- c) terminaciones ciegas producidas por una compresión del lecho vascular;
- d) terminaciones ciegas asociadas a brotes de proliferación capilar.

Christofferson y Nilsson (1988) realizan una clasificación morfológica de las terminaciones ciegas de los moldes vasculares, relacionando cada uno de los tipos con su fisiopatogenia. Según estos autores, las terminaciones ciegas debidas a un llenado incompleto del lecho vascular son redondeadas, lisas y convexas.



Nosotros hemos observado este tipo de terminaciones generalmente en el territorio precapilar o capilar, y ocasionalmente se ponía en evidencia la presencia de una o dos constricciones anulares en el trayecto vascular previo a la terminación ciega. Las imágenes de impresiones nucleares sobre la superficie de algunos de estos moldes en la proximidad de la terminación ciega, pensamos que pone en duda que estas terminaciones sean causadas por un defecto de replección vascular.

Las terminaciones ciegas producidas por fragmentación del molde vascular tienen una morfología característica, en forma de una ausencia de resina en el molde, de aparición brusca y perpendicular al eje principal del vaso.

Christofferson y Nilsson (1988) señalan que existen una serie de terminaciones ciegas que se producen como consecuencia de un fenómeno de vasoespasmó de la pared vascular. Este tipo de terminaciones se caracterizan por una disminución brusca del diámetro vascular y un extremo afilado, estando generalmente situadas a nivel de las arteriolas. Asimismo, señalan que este tipo de terminaciones son más frecuentes en aquellas muestras que fueron sometidas a una prefijación del lecho vascular. Sin embargo, nosotros hemos observado terminaciones de estas características que se encontraban situadas a nivel de arteriolas corticales cortas, y que aparecían poco después de su incurvación en superficie. La superficie de los moldes de estos vasos presentaba anillos plásticos, que se extendían hasta el inicio de la terminación ciega, así como impresiones nucleares cuya morfología era similar a la observada en otros vasos del mismo calibre, y que revelaban una correcta replección del lecho vascular.

En el trayecto de las arteriolas corticales hemos observado, en algunas

ocasiones, agrupaciones de anillos transversales de constricción, separados por pequeños pliegues, que recuerdan la morfología del negativo de los anillos plásticos, y que podrían corresponder a áreas de contracción de las células musculares lisas.

La posibilidad de la aparición de terminaciones ciegas producidas por fenómenos vasoespásticos de la pared vascular ha sido también reflejada por otros autores (Motti y cols., 1987; Naka y cols., 1987; Konerding y cols., 1988; Lametschwandtner y Lametschwandtner, 1992).

Lossinsky y cols. (1995) han observado fenómenos de vasoespasmo en un estudio experimental en rata, tras realizar una inyección intracarotídea de solución de arabinosa hipertónica. Mediante punto crítico de las muestras y observación con microscopia electrónica de barrido, estos autores señalan que las imágenes de vasoespasmo se caracterizan por la presencia de arrugas o crestas longitudinales en la superficie del endotelio, debido a la contracción circunferencial de las células musculares lisas. Estas características morfológicas del vasoespasmo han sido también puestas de manifiesto por Clower y cols. (1994), que en un estudio experimental señalan la presencia de vasos con endotelio plegado longitudinalmente (vasos coarrugados) tras una hemorragia subaracnoidea.

Nosotros hemos observado moldes vasculares a nivel del territorio arteriolar cortical, cuya superficie se caracterizaba por la presencia de abundantes pliegues gruesos longitudinales de  $4-5\mu$  de anchura. La superficie de estos moldes mostraban impresiones nucleares como signo de buena replección, aunque éstas eran más alargadas y estrechas. A su vez, estos moldes se encontraban rodeados

en muchas ocasiones por anillos plásticos. Nosotros intuimos, de acuerdo con Nakai y cols. (1980), que estas imágenes de plegamientos longitudinales pueden ser el negativo de vasos con un endotelio coarrugado por posibles fenómenos vasoespásticos.

Las imágenes de moldes vasculares coarrugados se extendía ocasionalmente al territorio capilar, donde se asociaba a terminaciones ciegas redondeadas. A este nivel no existen células musculares lisas capaces de producir vasoespasmo, pero sí células perivasculares del tipo de los pericitos cuyas prolongaciones hemos observado que podían envolver la práctica totalidad de la pared capilar, y cuya función contráctil ha sido postulada por diferentes autores (Zimmermann, 1923; Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Cuevas y cols., 1984; Sims, 1986; Farrell y cols., 1987; Díaz-Flores y cols., 1991; Tilton, 1991; Aharinejad y Böck, 1992; Aharinejad y cols., 1993). Por este motivo valoramos como hipótesis el papel autorregulador de los pericitos en la microcirculación de la corteza cerebral humana.

Chritofferson y Nilsson (1988) han hecho referencia a otros tres tipos de terminaciones ciegas: a) terminaciones ciegas producidas por coágulos sanguíneos, que presentan una morfología muy irregular en forma de "corazón de manzana"; b) terminaciones ciegas en moldes obtenidos con resinas de muy baja viscosidad, que se caracterizan por ser redondeadas y cóncavas debido al alto grado de retracción; c) terminaciones ciegas producidas por edema del endotelio, que provoca una disminución del calibre del molde vascular de aspecto ondulado. Nosotros hemos observado las dos primeras de forma ocasional, y no hemos constatado en ningún caso la presencia de terminaciones ciegas que se asemejen a las producidas por edema de las células endoteliales.

## **9.- DISCUSIÓN SOBRE OTROS HALLAZGOS O ARTEFACTOS DE LOS MOLDES VASCULARES.**

Lazorthes y cols. (1976) han señalado la existencia de vasa vasorum, que participan en la nutrición de la pared arterial, a nivel de las grandes arterias cerebrales. Según estos autores, la nutrición de los vasos de la red pial se realiza por difusión.

Sin embargo, nosotros hemos observado excepcionalmente sobre la superficie de algunos moldes correspondientes a arterias superficiales de primer orden, la presencia de moldes de corrosión vascular de muy pequeño diámetro ( $6-7\mu$ ), que se podrían correlacionar con capilares. Estos vasos presentaban un trayecto aracniforme muy cercano a la superficie del molde de la arteria superficial, con el que se encontraban comunicados a través de estrechos puentes de resina escalonados, y por lo tanto los podríamos interpretar como vasa vasorum.

Otra imagen que hemos observado ocasionalmente, y que nos ha llamado la atención, ha sido la disposición enroscada de algunos moldes vasculares de arteriolas corticales. Esta disposición la hemos observado a lo largo de trayectos de  $200 - 250\mu$ , en arteriolas corticales cortas o medias, o bien a nivel de la división terminal de colaterales de dichas arterias. Esta disposición ha sido también reflejada en el estudio de Duvernoy y cols. (1981), postulando que podrían representar alteraciones patológicas de los vasos.

Para Saunders y Bell (1971) esta disposición de los vasos favorecería el flujo sanguíneo. Por el contrario, Hassler (1965, 1967) valora estos vasos como

patológicos, señalando que pueden ser responsables de una reducción del flujo sanguíneo local. En este sentido, nosotros no hemos observado una disminución de la densidad de la red capilar dependiente de este tipo de vasos. Del mismo modo, la presencia de impresiones nucleares en su superficie reflejaba una correcta replección del lecho vascular.

Duvernoy y cols. (1981) han observado la presencia de ovillos glomerulares en los moldes de las arterias corticales del lóbulo occipital. Este tipo de formaciones no han sido observadas por nosotros en el estudio mediante microscopia electrónica de barrido, aunque sí las hemos observado en superficie y de forma esporádica, en aquellos casos que hemos estudiado mediante la inyección intravascular de látex. Sin embargo, su aparición podría estar en relación con el proceso de microdissección.

## **10.- DISCUSIÓN SOBRE LA AUTORREGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL: EL PAPEL DE LOS MOLDES DE CORROSIÓN VASCULAR EN SU ESTUDIO.**

El metabolismo del parénquima cerebral es extremadamente dependiente del aporte continuado de sangre oxigenada. Este hecho comporta que la regulación de la perfusión arterial cortical juegue un papel muy importante en la fisiología cerebral, de tal modo que el cerebro es un órgano capaz de mantener una perfusión constante, a pesar de que se produzcan importantes variaciones en la presión arterial, venosa o intracraneal, fenómeno que se denomina mecanismo de autorregulación del flujo sanguíneo cerebral (Lazorthes y cols., 1976; Motti y cols., 1986; Lasjaunias y Berenstein, 1990).

La autorregulación del flujo sanguíneo se efectúa a través de la capacidad de los componentes de la pared vascular arterial, y probablemente también capilar, para aumentar o disminuir el calibre de los vasos, es decir la vasomotricidad (Stephens y Stilwell, 1969). La vasomotricidad depende de factores estructurales de la propia pared, factores nerviosos y factores humorales o metabólicos (Lasjaunias y Berenstein, 1990).

Entre los factores estructurales que se han implicado en el control del flujo sanguíneo cerebral, se encuentran las células musculares lisas a nivel arterial y arteriolar, y los pericitos y el propio endotelio a nivel capilar .

Lazorthes y cols. (1976) señalan que en la pared arterial se observan agrupaciones de células musculares en forma de anillo, o a modo de cojinete, que protuyen hacia la luz vascular. Estas agrupaciones son especialmente importantes

a nivel de las bifurcaciones arteriales o en el origen de ramas colaterales, y se les ha atribuído un papel funcional en la regulación del flujo sanguíneo local, a través del cierre o la disminución del flujo hacia un área determinada (Benninghoff, 1930; Lazorthes y cols., 1976).

En el territorio precapilar de algunos órganos, diferentes autores hacen referencia a la existencia de agrupaciones de células musculares lisas en forma de anillo (área esfinteriana precapilar), que serían responsables de variaciones del flujo sanguíneo hacia el lecho capilar (Rhodin, 1967; Nicoll, 1971; Lazorthes y cols., 1976; Anderson y Anderson, 1978a; Lange y Halata, 1979).

En el territorio capilar se puede también incrementar o disminuir el flujo sanguíneo en respuesta a variaciones en la demanda celular funcional (Craigie, 1945; Weiss y Edelman, 1976; Duvernoy y cols., 1981). A este nivel, las estructuras celulares que se han implicado en el control del flujo sanguíneo son los pericitos y las propias células endoteliales.

La hipótesis de la contractilidad de los pericitos, y su participación en la regulación del flujo capilar local, ha sido su función más postulada desde su descripción por Rouget en 1873 y posteriormente en los trabajos de Sims, 1986, Díaz-Flores y cols., 1991 y Tilton, 1991. Los hallazgos que están a favor del posible papel contráctil y regulador de la microcirculación son: a) la gran extensión que pueden abarcar sus procesos citoplásmicos, que ocasionalmente hemos observado que formaban un red alrededor del molde capilar (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991; Tilton, 1991); b) la estrecha asociación entre pericitos y células endoteliales a través de la membrana basal, así como la existencia de uniones específicas pericito-

endoteliales (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Castejón, 1984; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991); c) la existencia de terminaciones simpáticas en la proximidad de los pericitos (Rennels y Nelson, 1975; Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982); d) la presencia en su citoplasma de haces de filamentos ordenados de actina, así como de cantidades significativas de algunas proteínas importantes en la regulación de la contracción, como el GMP<sub>c</sub> dependiente de proteín-kinasa y la tropomiosina (Mazanet y Franzini-Armstrong, 1982; Castejón, 1984; Sims, 1986; Díaz-Flores y cols., 1991; Tilton, 1991).

Por otro lado, algunos autores han señalado el posible papel contráctil de las células endoteliales, así como su implicación en la regulación del flujo sanguíneo capilar (Lazorthes y cols., 1976; Ragan y cols., 1988; Boswell y cols., 1992; Aharinejad y cols., 1993).

La regulación de la capacidad contráctil de estas estructuras celulares puede venir dada por factores mecánicos como las variaciones de la propia presión arterial (Harder y cols., 1989; Rosenblum y cols., 1994), factores nerviosos, a través de la existencia de terminaciones a nivel de las arterias intracerebrales (Lazorthes 1949; Pease y Molinari, 1960; Nelson y Rennels, 1970; Lazorthes y cols., 1976; Reiss, 1979), y próximas a los capilares (Rennels y Nelson, 1975), y factores humorales o metabólicos, principalmente el CO<sub>2</sub> y el O<sub>2</sub>, aunque en este sentido se han implicado otros factores como las endotelinas, los aminoácidos excitadores a través del receptor NMDA, o el óxido nítrico (Bonvento y cols., 1994; Feger y cols., 1994; Huang y cols., 1994; Iadecola y Zhang, 1994; Morino y cols., 1994; Salom y cols., 1995).

La existencia de uniones mio-endoteliales y pericito-endoteliales (Rhodin,



1967; Lange y Halata, 1979; Díaz-Flores y cols., 1991; Fujimoto, 1995), así como la presencia de uniones de tipo gap entre células endoteliales adyacentes (Wagner y Kachar, 1995) estarían en consonancia con un posible control metabólico de la regulación del flujo sanguíneo cerebral. Este tipo de uniones podrían explicar la aparición, en los moldes de corrosión vascular, de estructuras anexas que representarían las células musculares lisas en la pared arteriolar y los pericitos en los capilares.

Algunos autores han cuestionado la utilización de moldes de corrosión vascular en el estudio de la fisiología de la circulación sanguínea (Lametschwandtner y Lametschwandtner-Albrecht, 1983). Sin embargo, son numerosos los trabajos que, tanto a nivel experimental como en humano (Anderson y Anderson, 1978a,b; Nakai y cols., 1980, 1981, 1989; Duvernoy y cols., 1981, 1983; Stroinska-Kusiowa, 1981; Motti y cols., 1986; Maccotta y cols., 1989) estudian el lecho vascular mediante la inyección intravascular y la obtención de moldes de corrosión. Nakai y cols. (1980) señalan que los moldes plásticos pueden representar los cambios morfológicos que acontecen durante la fisiología de la pared vascular. En este sentido estos autores interpretan los anillos de constricción de los moldes vasculares como producidos por estructuras vasoconstrictoras.

Nosotros pensamos que el estudio de la morfología de los moldes de corrosión vascular, así como de sus estructuras anexas, pueden ayudar a un mejor conocimiento de la fisiología de la microcirculación. La presencia de constricciones en los moldes, a nivel del origen de ramas colaterales, las agrupaciones de constricciones en el trayecto de los vasos corticales, las terminaciones ciegas en arteriolas, la distribución de los anillos plásticos y su

morfología, la disposición de los pericitos y sus prolongaciones, las imágenes de vasos coarrugados, las constricciones y terminaciones ciegas a nivel capilar, las áreas de aumento o disminución de la densidad de la red capilar, etc, son hallazgos morfológicos de los moldes vasculares que pueden mejorar la comprensión de la regulación del flujo sanguíneo cortical.

***Conclusiones***

1.- La técnica de obtención de moldes de microcorrosión y visualización mediante microscopia electrónica de barrido para el estudio de la vascularización de la corteza cerebral humana, nos permite valorar la distribución tridimensional de la angioarquitectura, así como extrapolar aspectos morfo-funcionales reguladores de la misma.

2.- La aplicación complementaria de técnicas de fluorescencia, y estudio mediante microscopio láser confocal de estas muestras, es de gran utilidad para valorar estructuras anexas al molde intravascular a nivel de la microcirculación de la corteza cerebral humana.

3.- La red arterial pial es el primer eslabón en la irrigación arterial de la corteza cerebral humana. Está constituida por arterias cerebrales de primer, segundo y tercer orden, y exenta de vasos capilares. En el territorio tributario de la arteria cerebral posterior existe la mayor densidad vascular, constituida fundamentalmente por arterias superficiales de primer y segundo orden.

4.- Las anastomosis arterio-arteriales a nivel de la red pial son excepcionales, y no hemos observado anastomosis arterio-venosas.

La presencia de constricciones y anillos plásticos en las arterias superficiales de tercer orden nos permiten valorar su posible papel regulador del flujo arterial cortical.

5.- La red arterial propiamente cortical procede fundamentalmente de las arterias superficiales de tercer orden, y son vasos penetrantes en la corteza cerebral cuyo diámetro oscila entre las 20 y las 90 $\mu$ , con un calibre medio de 50 $\mu$ , que terminan ramificándose en capilares. Dependiendo de la profundidad que alcanzan estas arterias en la corteza cerebral, las clasificamos en arterias corticales cortas, medias y largas, así como arterias intracorticales.

6.- Las anastomosis arterio-arteriales entre las arterias corticales son infrecuentes, encontrándose en la mayoría de las ocasiones en su trayecto inicial. No hemos observado la presencia de anastomosis arterio-venosas. Sin embargo, la red capilar a la que dan lugar sus ramas colaterales y terminales es una red vascular continua con frecuentes anastomosis.

7.- En el trayecto de las arterias corticales se observan frecuentemente imágenes de constricciones y de anillos plásticos, que se relacionan con estructuras morfológicas reguladoras de áreas vasculares funcionales intracorticales. En este sentido valoramos también las abundantes terminaciones ciegas observadas a nivel capilar.

8.- La densidad vascular cortical se sistematiza en cuatro estratos de diferente densidad capilar, y variables en relación al grosor del córtex cerebral humano.

El primer estrato o estrato subpial está desprovisto de capilares y es de mayor extensión en el territorio de la arteria cerebral anterior.

El segundo estrato o estrato superficial tiene capilares de pequeño diámetro, y es más estrecho en el territorio de la arteria cerebral posterior.

El tercer estrato o medio presenta abundantes capilares, y se corresponde con la zona más vascularizada.

El cuarto estrato o profundo está constituido por abundantes capilares de disposición horizontal.

**9.-** Las arterias transcorticales son de mayor diámetro que las arterias propiamente de la corteza cerebral. Las arterias de mayor calibre atraviesan el córtex sin dar origen a colaterales, pudiéndose incurvar 90° en la zona yuxtsubcortical, donde siguen un trayecto paralelo a la superficie y frecuentemente ondulado.

**10.-** Las imágenes de anillos plásticos y de pseudopericitos, situados en la superficie de los moldes de corrosión intravascular, los correlacionamos con el llenado del espacio que ocupan en la pared vascular las células musculares lisas y los pericitos, respectivamente. Ambas estructuras tendrían comunicación directa con las células endoteliales, y funcionalmente serían reguladoras locales del flujo sanguíneo precapilar y capilar de la corteza cerebral.

**11.-** Las imágenes de constricciones y de pliegues longitudinales en los moldes de corrosión sin estructuras anexas a su alrededor, las relacionamos con

fenómenos de vasoespasmo.

## *Bibliografía*



Aharinejad, S. y Böck, P. (1992) Luminal constrictions on corrosion casts of capillaries and postcapillary venules in rat exocrine pancreas correspond to pericyte processes. *Scanning Microsc.* 6: 877-886.

Aharinejad, S. y Böck, P. (1993) Mercox-methylmethacrylic acid mixture penetrates into cells. A scanning and transmission electron microscopic study. *Scanning Microsc.* 7: 295-304.

Aharinejad, S.; MacDonald, I.C.; Schmidt, E.E.; Böck, P.; Hagen, D. y Groom, A.C. (1993) Scanning and transmission electron microscopy and high resolution intravital video-microscopy of capillaries in the mouse exocrine pancreas, with special emphasis on endothelial cells. *Anat. Rec.* 237: 163-177.

Aharinejad, S.; Lametschwandner, A.; Böck, P. y Firbas, W. (1994) Microangioarchitecture of the guinea pig common bile duct and duodenal papilla: a scanning electron and light microscopic study. *Anat. Rec.* 239: 280-286.

Alpers, B.J.; Berry, R.G. y Paddison R.M. (1959) Anatomical studies of the circle of Willis in normal brain. *Arch. Neurol. Psychiatr.* 81: 409-418.

Anderson, B.G. y Anderson, W.D. (1978a) Scanning electron microscopy of microcorrosion casts. Intracranial and abdominal microvasculature in domestic animals. *Am. J. Anat.* 153: 523-536.

Anderson, B.G. y Anderson, W.D. (1978b) Shunting in intracranial microvasculature demonstrated by SEM of corrosion casts. *Am. J. Anat.* 153: 617-624.

Aschoff, L. (1924) Das retikuloendotheliale system. *Ergeb. Inn. Med. Kinderheilkd.* 26: 2-11.

Auer, L.M.; Ishiyama, N.; Hodde, K.C.; Kleinert, R. y Pucher, R. (1987) Effect of intracranial pressure on bridging veins in rats. *J. Neurosurg.* 76: 263-268.

Bacallao, R.; Kiai, K. y Jesaitis, L. (1995) Guiding principles of specimen preservation for confocal fluorescence microscopy. En: Pawley, J.B. ed. *Handbook of biological confocal microscopy*. New York: Plenum Press.

Baldy-Moulinier, M. y Frerebeau, Ph. (1968) Citado por Lazorthes y cols. (1976).

Bär, Th. (1980) The vascular system of the cerebral cortex. En: *Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology*. Berlin: Springer.

Bayliss (1902) Citado por Lazorthes y cols. (1961).

Benninghoff, A. (1930) Citado por Tilton (1991).

Betz, A.L.; Goldstein, G.W. y Katzman, R. (1994) Blood-brain-cerebrospinal fluid barriers. En: Siegel, G.H.; Agranoff, B.W.; Albers, R.W. y Molinoff, P.B. eds. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects*. New York: Raven Press.

Betz, E. y Heuser, D. (1967) Cerebral cortical blood flow during changes of acid-base equilibrium of the brain. *J. Appl. Physiol.* 23: 726.

Blackwood, W. (1963) Citado por Stephens y Stilwell (1969).

Bonvento, G.; Seylaz, J. y Lacombe, P. (1994) Widespread attenuation of the cerebrovascular reactivity to hypercapnia following inhibition of nitric oxide synthase in the conscious rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 14: 699-703.

Bosman, F.T. y Kruseman, A.C.N. (1979) Clinical applications of the enzyme labelled antibody method: immunoperoxidase methods in diagnostic histopathology. *J. Histochem. Cytochem.* 27: 1140.

Boswell, C.A.; Majno, G.; Joris, I. y Ostrom, K.A. (1992) Acute endothelial cell contraction in vitro: a comparison with vascular smooth muscle cells and fibroblasts. *Microvasc. Res.* 43: 178-191.

Bradford-De Long, W. (1973) Anatomy of the middle cerebral artery: the temporal branches. *Stroke* 4: 412-418.

Burger, P.C.; Chandler, D.B. y Klintworth, G.K. (1983) Corneal neovascularization as studied by scanning electron microscopy of vascular casts. *Lab. Invest.* 48: 169-180.

Campbell, A.C.P.; Alexander, L. y Putnam, T.J. (1938) Vascular pattern in various lesions of the human central nervous system. Studies with the benzidine stain. *Arch. Neurol. Psychiatr.* 39: 1152-1202.

Cancilla, P.A.; Baker, R.N; Pollock, P.S. y Frommes, S.P. (1972) The reaction of pericytes of the central nervous system to exogenous protein. *Lab. Invest.* 26: 376-383.

Carretero, A. (1993) Morfogénesis vascular del mesonefros y del metanefros en el embrión de pollo. Tesis Doctoral. U.A.B.

- Carretero, A.H.; Ditrich, H.; Splechtna, H.; Navarro, M. y Ruberte, J. (1993) Technical improvements in corrosion casting of small specimens: A study on mesonephric tubules and vessels of chicken embryos. *Scanning Microsc.* 7:1333-1338.
- Castejón, O.J. (1984) Submicroscopic changes of cortical capillary pericytes in human perifocal brain edema. *J. Submicrosc. Cytol.* 16: 601-618.
- Castenholz, A. (1995) Approach to combine confocal laser scanning microscopy with casting techniques of SEM. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 71: 389-392.
- Castenholz, A.; Zolter, H. y Erhardt, H. (1982) Structures imitating myocytes and Pericytes in corrosion casts of terminal blood vessels. A methodical approach to the phenomenon of "plastic strips" in SEM. *Mikroskopie(Wien)* 39: 95-106.
- Champy, C. y Louvel, J. (1939) Faits histologiques sur le mécanisme de réglage de la circulation coronarienne. *Presse Med.* 45: 857.
- Charpy, A. (1901) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Christofferson R.H. y Nilsson B.O. (1988) Microvascular corrosion casting with analysis in the scanning electron microscope. *Scanning* 10: 43-63.
- Christofferson R.H. y Nilsson B.O. (1992) Microvascular corrosion casting in angiogenesis research. En: Motta, P.M.; Murakami, T. y Fujita, H. eds. *Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications*. Kluwer Academic Publishers.
- Cid, F. (1990) Breve historia de las ciencias médicas. Barcelona: Espaxs S.A.
- Clark, E.R. y Clark, E.L. (1925) The relation of Rouget cells to capillary contractility. *Am. J. Anat.* 35: 265-282.
- Clark, E.R. y Clark, E.L. (1940) Microscopic observations on the extra-endothelial cells of living mammalian blood vessels. *Am. J. Anat.* 66: 1-49.
- Clark, G. (1981) Neurological Staining Methods. En: Clark, G. Ed. *Staining procedures*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Clark, S.L. (1934) Innervation of the choroid plexuses and the blood vessels within the central nervous system. *J. Comp. Neurol.* 60: 21-35.

- Clower B.R.; Yamamoto Y.; Cain L.; Haines D.E. y Smith R.R. (1994) Endothelial injury following experimental subarachnoid hemorrhage in rats: effects on brain blood flow. *Anat. Rec.* 240: 104-114.
- Cobb, S. (1931) The cerebral circulation. The question of "end arteries" of the brain and the mechanism of infarction. *AMA Arch. Neurol. Psychiat.* 25: 273-280.
- Cobb, S. y Talbott, J. (1937) Studies on cerebral circulation. II. Quantitative study of cerebral capillaries. *Trans. Ass. Am. Phys.* 42: 255-272.
- Connell, C.J. y Mercer, K.L. (1974) Freeze-fractured appearance of the capillary endothelium in the cerebral cortex of mouse brain. *Am. J. Anat.* 140: 595-600.
- Congdon, E.D. (1922) Transformation of the aortic arch system during the development of the human embryo. *Contrib. Embryol.* 14: 47-110.
- Cohnheim, J. (1872) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Craigie, E.H. (1921) The vascularity of the cerebral cortex of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* 33: 193-212.
- Craigie, E.H. (1945) The architecture of the cerebral capillary bed. *Biol. Rev.* 20: 133-146.
- Cuevas, P.; Gutierrez, J.A.; Reimers, D.; Dujovny, M.; Díaz, F.G. y Ausman, J.I. (1984) Pericyte endothelial gap junctions in human cerebral capillaries. *Anat. Embryol.* 170: 155-159.
- Dahl, E.; Flora, G. y Nelson, E. (1965) Electron microscopic observations on normal human intracranial arteries. *Neurology (Minneap.)* 15: 132-140.
- Dahl, E. (1973) The fine structure of intracerebral vessels. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 145: 577-586.
- Del Rio Hortega, P. (1919) El "tercer elemento" de los centros nerviosos. *Bol. Soc. Espan. Biol.* 9: 69-120.
- Del Rio Hortega, P. (1921) Estudios sobre la neuroglia. La glía de escasas radiaciones (oligodendroglia). *Bol. Real Soc. Espan. Hist. Nat.* 21: 63-92.
- Díaz-Flores, L.; Gutierrez, R.; Varela, H.; Rancel, N. y Valladares, F. (1991) Microvascular pericytes: a review of their morphological and functional characteristics. A review. *Histol. Histopathol.* 6: 269-286.

- Dietrich, H.H. y Dacey, R.G. (1994) Effects of extravascular acidification and extravascular alkalinization on constriction and depolarization in rat cerebral arterioles in vitro. *J. Neurosurg.* 81: 437-442.
- Ditrich, H. y Splechtna, H. (1986) Functional aspects of renal glomeruli based on scanning electron microscopy of corrosion casts, with special emphasis on reptiles and birds. *Scanning Microsc.* 2: 591-597.
- Ditrich, H. y Splechtna, H. (1989) The Oppisthonephric blood vascular system of the chicken embryo as studied by scanning electron microscopy of microvascular corrosion casts and critical point dried preparations. *Scanning Microsc.* 2: 559-568.
- Dudley, A.W., Jr. (1982) Cerebrospinal blood vessels: normal and diseased. En: Haymaker, W. y Adams, R.D. eds. *Histology and histopathology of the nervous system.* Illinois: Springfield.
- Dunning, H.S. y Wolff, H.G. (1937) The relative vascularity of various parts of the central and peripheral nervous system of the cat and its relation to function. *J. Comp. Neurol.* 67: 433-450.
- Duret, H. (1874) Recherches anatomiques sur la circulation de l'encéphale. *Arch. Phys. Norm. Pah.* 2(1): 60-91, 316-354, 664-693, 919-957.
- Duvernoy, H.M.; Delon S. y Vannson J.L.(1981) Cortical blood vessels of the human brain. *Brain Res. Bull.* 7: 519-579.
- Duvernoy, H.M.; Delon S. y Vannson J.L.(1983) The vascularization of the human cerebellar cortex. *Brain Res. Bull.* 11: 419-480.
- Ehrlich, P. (1885) Citado por Schlosshauer (1993).
- Espagno, J. y Lazorthes, Y. (1967) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Farrell, C.R.; Stewart, P.A.; Farrell, C.L. y Del Maestro, R.F. (1987) Pericytes in human cerebral microvasculature. *Anat. Rec.* 218: 466-469.
- Fawcett, D.W. (1959) *The Microcirculation.* Illinois: University of Illinois Press.
- Fay, T. (1925) The cerebral vasculature. *J.A.M.A.* 84: 1729-1731.
- Fazio, C. (1971) Citado por Lazorthes y cols. (1976).

- Feger, G.I.; Schilling, L.; Ehrenreich, H. y Wahl, M. (1994) Endothelin-induced contraction and relaxation of rat isolated basilar artery: effect of BQ-123. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 14: 845-852.
- Feneis, H. (1994) *Nomenclatura anatómica ilustrada*. Barcelona: Ed. Científicas y Técnicas, S.A.
- Fieschi, C. (1967) Fisiologia della circolazione cerebrale. 28 Congresso della Soc. Ital. di Cardiologia 1: 63-94.
- Florey, H. (1925) Microscopical observations on the circulation of the blood in the cerebral cortex. *Brain* 48: 43-64.
- Foix, Ch. y Levy, M. (1927) Les ramollissements sylviens. *Rev. Neurol.* 2: 1-51.
- Fontaine, C. Y Drizenko, A. (1996) Les nerfs de la tête et du cou. En: Chevrel, J.P. y Fontaine, C. eds. *Anatomie Clinique* vol. 3. Paris: Springer-Verlag.
- Forbes, H.S. y Cobb, S. (1938) Vasomotor control of cerebral vessels. *Res. Publ. Ass. Res. Nerv. Ment. Dis.* 18: 201-217.
- Forbes, M.S.; Rennels, M.L. y Nelson, E. (1977) Innervation of myocardial microcirculation; terminal autonomic axons associated with capillaries and postcapillary venules in mouse heart. *Am. J. Anat.* 149: 71-92.
- Franz, P. Y Aharinejad, S. (1994) The microvasculature of the larynx: a scanning electron microscopic study. *Scanning Microsc.* 8: 125-131.
- Frasca, J.M.; Carter, H.W. y Schaffer, W.A. (1978) An improved latex injection method for replicating the pulmonary microvasculature. *Scann. Electron Microsc.* II: 485-489.
- Fryczkowski, A.W.(1992) Blood vessels of the eye and their changes in diabetes. En: Motta, P.M.; Murakami, T. y Fujita, H. eds. *Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications*. Boston: Kluwer Academics Publishers.
- Fujimoto, K. (1995) Pericyte-endothelial gap junctions in developing rat cerebral capillaries: a fine structural study. *Anat. Rec.* 242: 562-565.
- Gannon, B.J. (1981) Preparation of microvascular corrosion casting media: Procedure for partial polymerization using ultraviolet light. *Biomed. Res.* 2(suppl.): 227-233.

Gaudio, E.; Pannarale, L.; Caggiati, A.; Maggioni, A.; Marinozzi, G. y Motta, P.M. (1992) Pericyte topography of the microvasculature of skeletal muscle: correlated analysis of corrosion casts and KOH digested specimens. En: Motta, P.M.; Murakami, T. y Fujita, H. eds. Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications. Boston: Kluwer Academics Publishers.

Gaudio, E.; Onori, P.; Pannarale, L. y Marinozzi, G. (1993) Microcirculation of the extrahepatic biliary tree: a scanning electron microscopy study of corrosion cast. *J. Anat.* 182: 37-44.

Gillilan, L.A. (1959) Significant superficial anastomoses in the arterial blood supply to the human brain. *J. Comp. Neurol.* 112: 55-74.

Gillilan, L.A. (1974) Potential collateral circulation to the human cerebral cortex. *Neurology* 24: 941-948.

Gloger, S.; Gloger, A.; Vogt, H. y Kretschmann, H.J.(1994a) Computer-assisted 3D reconstruction of terminal branches of the cerebral arteries. I. Anterior cerebral artery. *Neuroradiology* 36: 251-257.

Gloger, S.; Gloger, A.; Vogt, H. y Kretschmann, H.J.(1994b) Computer-assisted 3D reconstruction of the terminal branches of the cerebral arteries. II. Middle cerebral artery. *Neuroradiology* 36: 181-187.

Gloger, S.; Gloger, A.; Vogt, H. y Kretschmann, H.J.(1994c) Computer-assisted 3D reconstruction of the terminal branches of the cerebral arteries. III. Posterior cerebral artery and circle of Willis. *Neuroradiology* 36: 173-180.

Gorelova, E.; Loesch, A.; Bodin, P.; Chadwick, L.; Hamlyn, P.J. y Burnstock, G. (1996) Localisation of immunoreactive factor VIII, nitric oxide synthase, substance P, endothelin-1 and 5-hydroxytryptamine in human postmortem middle cerebral artery. *J. Anat.* 188: 97-107.

Grocki, K. y Dermietzel, R. (1984) A method for preparation of cerebral blood vessels. *J. Microsc.* 133: 95-98.

Grote, J. (1967) Citado por Lazorthes y cols. (1976).

Haggendal, E. (1965) Blood flow autoregulation of the cerebral grey matter with comments on its mechanism. International Symposium Lund, R.C.B.F. *Acta Neurol. Scand.* (suppl.) 14:104.

- Hancock, W.W.; Becker, G.J. y Alkins, R.C.A. (1982) A comparison of fixatives and immunohistochemical techniques for use with monoclonal antibodies to cell surface antigens. *Am. J. Clin. Pathol.* 78: 825-831.
- Harder, D.R.; Kauser, K.; Roman, R.J. y Lombard, J.H. (1989) Mechanisms of pressure-induced myogenic activation of cerebral and renal arteries: role of the endothelium. *J. Hypertension* 7(4): 11-15.
- Hassin, G.B. (1929) The nerve supply of the cerebral blood vessels: a histologic study. *Arch. Neurol. Psychiat.* 2: 375.
- Hassler, O. (1961) Morphological studies on the large cerebral arteries, with reference to the aetiology of subarachnoid haemorrhage. *Acta Psych. Neurol. Scand.* 36 (suppl. 154): 1-145.
- Hassler, O. (1962) The windows of the internal elastic lamella of the cerebral arteries. *Virchows Arch. Path. Anat. Physiol.* 335: 127-132.
- Hassler, O. (1965) Citado por Duvernoy y cols. (1981)
- Hassler, O. (1967) Arterial deformities in senile brains. *Acta Neuropathol.* 8: 219-229.
- Heyderman, E. y Monaghan, P. (1979) Immunoperoxidase reactions in resin embedded sections. *Invest. Cell. Pathol.* 2: 119-122.
- Hodde, K.C. y Nowell, J.A. (1980) SEM of microcorrosion casts. *Scann. Electron Microsc.* 2: 88-106.
- Hodde, K.C.; Nordborg, C. y Johansson, B.B. (1984) Pial artery casts of normotensive and hypertensive rats. *BEDO* 17: 209-214.
- Hodes, P.F.; Campoy, F.; Riggs, H.E. y Bly, P. (1953) Cerebral angiography. *Fundamentals in anatomy and physiology.* *Am. J. Roentg. Rad. Ther.* 70: 61-82.
- Holden, C.A.; Spaul, J.; Williams, R.; Spry, C.J.F.; Jones, R.R. y Jones, E.W. (1986) The detection of endothelial cell antigens in cutaneous tissue using methacarn and periodate lysine paraformaldehyde fixation. *J. Immunol. Meth.* 91: 45-52.
- Hovelacque, A. (1927) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Hoyer, S.; Pisco, K. y Stoeket, H. (1972) CBF and metabolism in patients with acute brain injury with regard to autoregulation. *Europ. Neurol.* 8: 174-180.



- Huang, Q.F.; Gebrewold, A.; Zhang, A.; Altura, B.T. y Altura, B.M. (1994) Role of excitation amino-acids in regulation of rat pial microvasculature. *Am. J. Physiol.* 266: R158-R163.
- Huber, G.C. (1899) Observations on the innervation of the intracranial vessels. *J. Comp. Neurol.* 9: 1-58.
- Humphreys, S.P. (1939) Anatomical relations of cerebral vessels and perivascular nerves. *Arch. Neurol. Psychiat.* 41: 1207-1221.
- Hunziker, O.; Frey, H. y Schulz, U. (1974) Morphometric investigations of the capillaries in the brain cortex of the cat. *Acta Cardiol. (suppl. XIX):* 227-238.
- Hutchings, M.; Weller, R.O. y Path, F.R.C. (1986) Anatomical relationships of the pia mater to cerebral blood vessels in man. *J. Neurosurg.* 65: 316-325.
- Iadecola, C. y Zhang, F. (1994) Nitric oxide-dependent and -independent components of cerebrovasodilation elicited by hipercapnia. *Am J Physiol* 266: 546-552.
- Illig, L. (1957) Capillar contractilitat, capillar sphincter und zentralkanale C A.-V. bridges. *Klin. Wochenschr.* 35: 7-22.
- International Anatomic Nomenclature Committee (1989) *Nomina Anatomica*, 6<sup>a</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Jeynes, B. (1985) Reactions of granular pericytes in a rabbit cerebrovascular ischemia model. *Stroke* 16:121-125.
- Jones, E.G. (1970) On the mode of entry of blood vessels into the cerebral cortex. *J. Anat.* 106: 507-520.
- Joyce, N.C.; DeCamilli, P. y Boyles, J. (1984) Pericytes, like vascular smooth muscle cells, are immunocytochemically positive for cyclic GMP-dependent protein kinase. *Microvasc. Res.* 28: 206-219.
- Kalaria, R.N. y Hedera, P. (1995) Differential degeneration of the cerebral microvasculature in Alzheimer's disease. *NeuroReport* 6: 477-480.
- Kasten, F.H. (1981) *Methods for Fluorescence Microscopy*. En: Clark, G. ed. *Staining Procedures*. Baltimore: Williams and Wilkins.

- Kardon, R.H.; Farley, D.B.; Heidger, P.M. y Van Orden, D.E. (1982) Intraarterial cushions of the rat uterine artery: a scanning electron microscope evaluation utilizing vascular casts. *Anat. Rec.* 203: 19-29.
- Kennady, J.C. y Taplin, G.V. (1967) Shunting in cerebral microcirculation. *Am. Surg.* 33: 763-771.
- Kety, S.S. (1972) Physiology of the cerebral circulation. En: Vinken, P.J. y Bruyn, G.W. eds. *Handbook of Clinical Neurology*. New York: Elsevier.
- Kohler, G. y Milstein, C. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of pre-defined specificity. *Nature* 256: 495-497.
- Kolliker, A.V. (1893) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Konerding, M.A. (1991) Scanning electron microscopy of corrosion casting in medicine. *Scanning Microsc.* 5: 851-865.
- Konerding, M.A.; Lehmann, M. Y Blank, M. (1988) The vascularization of the peripheral nerve of chicken and rat. *Scanning Microsc.* 2: 1021-1026.
- Krogh, A. (1919) The number and distribution of capillaries in muscles with calculations of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue. *J. Physiol. (Lond.)* 52: 409-415.
- Lafarga, M. y Palacios, G. (1975) Ultrastructural study of pericytes in the rat supraoptic nucleus. *J. Anat.* 120: 433-438.
- Lain Entralgo, P. (1982) *Historia de la Medicina*. Barcelona: Salvat Editores S.A.
- Lametschwandtner, A. y Lametschwandtner-Albrecht, U. (1983) Scanning electron microscopy of corrosion casts of the cerebral vessels. Advantages and limitations. En: Auer, L.M. y Loew, F. eds. *The cerebral veins - an experimental and clinical update*. Wien: Springer-Verlag.
- Lametschwandtner, A.; Lametschwandtner, U. y Weiger, T. (1984) Scanning electron microscopy of vascular corrosion cast. Technique and applications. *Scann. Electron Microsc.* 2: 663-695.
- Lametschwandtner, A. y Lametschwandtner, U. (1992) Historical review and technical survey of vascular casting and scanning electron microscopy. En: Motta, P.M.; Murakami, T. y Fujita, H. eds. *Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications*. Kluwer Academic Publishers.

- Lang, J. (1983) *Clinical Anatomy of the head*. Berlin: Springer.
- Lange, W. y Halata, Z. (1979) Comparative studies on the pre and postterminal blood vessels in the cerebellar cortex of Rhesus Monkey, cat and rat. *Anat. Embryol.* 158: 51-62.
- Larson, D.M.; Carson, M.P. y Haudenschild, C.C. (1987) Junctional transfer of small molecules in cultured bovine brain microvascular endothelial cells and pericytes. *Microvasc. Res.* 34: 184-199.
- Lassen, N.A. (1974) Control of cerebral circulation in health and disease. *Circ. Res.* 34: 749-760.
- Lasjaunias, P. y Berenstein, A. (1990) *Surgical neuroangiography. Vol. 3: Functional vascular anatomy of brain, spinal cord and spine*. Berlin: Springer.
- Lazorthes, G. (1949) *Le Système Neurovasculaire*. Paris: Masson.
- Lazorthes, G. (1961) *Vascularisation et circulation cérébrales*. Paris: Masson.
- Lazorthes, G. y Reis, R. (1942) L'innervation des artères du cou et de la portion extracrânienne de la tête. *Toulouse Méd.* 2: 1-21.
- Lazorthes, G.; Poulhès, J. y Gaubert, J. (1955) Les collatérales centrales de l'artère cérébrale antérieure. La vascularisation de l'hypothalamus. *C.R. Ass. Anat.* 91: 889-896.
- Lazorthes, G. y Gouazé, A. (1968) Les voies anastomotiques de suppléance (ou systèmes de sécurité) de la vascularisation artérielle de l'axe cérébro-médullaire. *C.R. Ass. Anat.* 139bis: 1-222.
- Lazorthes, G.; Gouazé, A. y Salamon, G. (1976) *Vascularisation et circulation de l'encephale*. Paris: Masson.
- Lee, R.M.K.W. (1995) Morphology of cerebral arteries. *Pharmac. Ther.* 66: 149-173.
- Legait, E. (1948) Quelques facteurs intracrâniens de régulation de la circulation cérébrale. *Rev. Méd. de Nancy* 338-350.
- Levesque, H.J.; Cornhill, J.F. y Nerem, R.M. (1979) Vascular casting. A new method for the study of the arterial endothelium. *Atherosclerosis* 34: 457-467.

Lewis, O.J. (1957) The form and development of the blood vessels of the mammalian cerebral cortex. *J. Anat.* 91: 40-48.

Lippert, H. y Pabst, R. (1985) *Arterial variations in man*. New York: Springer.

López Piñero J.M. (1986) *La medicina en la historia*. Barcelona: Salvat Editores S.A.

Lossinsky, A.S.; Vorbrodt, A.W. y Wisniewski, H.M. (1995) Scanning and transmission electron microscopic studies of microvascular pathology in the osmotically impaired blood-brain barrier. *J. Neurocytol.* 24: 795-806.

Maccotta, V.; Broggi, G.; Torre, C. y Orsi, R. (1989) Injection-corrosion cast study of the microcirculation of the brain in haemorrhagic and ischaemic disorders. Preliminary investigation. *J. Neurosurg. Sci.* 33: 157-160.

Majno, G. y Palade, G.E. (1961) Studies on inflammation. I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11: 571-605.

Margolis, M.T.; Newton, T.H. y Hoyt, W.F. (1971) Cortical branches of the posterior cerebral artery. Anatomic-radiologic correlation. *Neuroradiology* 2: 127-135.

Mato, M. y Ookawara, S. (1981) Influences of age and vasopression on the uptake capacity of fluorescent granular perithelial cells (FGP) of small cerebral vessels of the rat. *Am. J. Anat.* 162: 45-53.

Maximow, A. (1927) Citado por Tilton (1991).

Maxwell, D.S. y Kruger, L. (1965) Small blood vessels and the origin of phagocytes in the rat cerebral cortex following heavy particle irradiation. *Exp. Neurol.* 12: 33-54.

Mazanet, R. y Franzini-Armstrong, C. (1982) Scanning electron microscopy of pericytes in rat red muscle. *Microvasc. Res.* 23: 361-369.

Meyer, J.S.; Mathew, N.T.; Hrastnik, F.; Miyakawa, Y.; Ishira, N. y Itoh, Y. (1975) Vasospasm versus "break through" in the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. En: Harper, A.M.; Jennett, W.B.; Miller, J.D. and Rowan, J.O. eds. *Blood flow and metabolism in the brain*. Edinburgh, London: Churchill Livingstone.

Michels, N.A. (1936) The structure of capillaries and the un-myogenic character of Rouget cells (pericytes) in the omentum of rabbits and in the web of living frogs. *Anat. Rec.* 65: 99-125.

- Millen, J.W. y Woollam, D.H.M. (1961) On the nature of the pia mater. *Brain* 84: 514-520.
- Miodonsky, A.; Kus, J. y Tyrankiewick, R. (1981) Citado por Carretero (1993).
- Morino, M.; Maeda, M.; Nakai, M.; Krieger, A.J. y Sapru, H.N. (1994) Effects of microinjection of N-methyl-D-aspartic acid into the nucleus tractus solitarii on cerebral blood flow in anesthetized rats. *J. Anat. Nerv. Sys.* 49: 159-170.
- Motti, E.D.F.; Imhof, H.G. y Yasargil, M.E. (1986) The terminal vascular bed in the superficial cortex of the rat. An SEM study of corrosion casts. *J. Neurosurg.* 65: 834-846.
- Motti, E.D.F.; Imhof, H.G.; Martinez-Garza, J. y Yasargil, G.M. (1987) Vasospastic phenomena on the luminal replica of rat brain vessels. *Scanning Microsc.* 1: 207-222.
- Murakami, T. (1971) Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. *Arch. Histol. Jap.* 32: 445-454.
- Naka, Y.; Itakura, T.; Nakai, K.; Nakakita, K.; Imai, H.; Okuno, T.; Kamei, I. y Komai, N. (1987) Microangiarchitecture of the feline spinal cord. Three dimensional observation of blood vessel corrosion casts by scanning electron microscopy. *J. Neurosurg.* 66: 447-452.
- Nakai, K.; Imai, H.; Kamei, I.; Ikatura, T.; Komai, N.; Kimura, H.; Nagai, T. y Maeda, T. (1980) Scanning electron microscopic investigation on the plastic cast model of small cerebral blood vessels. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)* 20: 155-161.
- Nakai, K.; Imai, H.; Kamei, I.; Ikatura, T.; Komai, N.; Kimura, H.; Nagai, T. y Maeda, T. (1981) Microangioarchitecture of rat parietal cortex with special reference to vascular sphincters. *Stroke* 12: 653-659.
- Nakai, K.; Naka, Y.; Yokote, H. Ikatura, T.; Imai, H.; Komai, N. y Maeda, T. (1989) Vascular sphincter and microangioarchitecture in the central nervous system: constriction of intraparenchymal blood vessels following a treatment of vasoconstrictive neurotransmitter. *Scanning Microsc.* 3: 337-341.
- Nelson, E. y Rennels, M.L. (1970) Innervation of intracranial arteries. *Brain* 93: 475-490.
- Neumayer (1931) Citado por Hodde (1981).

- Neuwelt, E.A.; Frenkel, E.P.; Diehl, J.; Vu, L.H.; Rapoport, S. y Hill, S. (1980) Reversible osmotic blood-brain barrier disruption in humans: implications for chemotherapy of malignant brain tumors. *Neurosurgery* 7: 44-52.
- Nicoll, P.A. (1971) MCS Symposium on "The Precapillary Sphincter". *Microvasc. Res.* 3: 426-427.
- Nolte, J. (1994) *El cerebro humano*. Madrid: Mosby/Doyma.
- Nowell, J.A.; Pangborn, J. y Tyler, W.S. (1970) Scanning electron microscopy of the avian lung. *Scann. Electron Microsc.* 2: 249-256.
- Nowell, J.A.; Pangborn, J. y Tyler, W.S. (1972) Stabilization and replication of soft tubular and alveolar systems. A SEM study of the lung. *Scann. Electron Microsc.* 2: 305-312.
- Ohta, Y.; Okuda, H.; Suwa, F.; Okada, S. y Toda, I. (1990) Plastic injection method for preparing microvascular corrosion casts for SEM and its practical application. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 66: 301-312.
- Ohtani, O. y Murakami, T. (1992) Routine methods for vascular casting and SEM. En: Motta, P.M.; Murakami, T. y Fujita, H. eds. *Scanning electron microscopy of vascular casts: methods and applications*. Kluwer Academic Publishers.
- Orlandini, G.E.; Ruggiero, C.; Orlandini, S.Z. y Gulisano, M. (1985) Blood vessel size of *Circulus arteriosus cerebri* (Circle of Willis): a statistical research on 100 human subjects. *Acta Anat.* 123: 72-76.
- Orts Llorca, F. (1986) *Anatomía humana*. Vol. 2. Madrid: Científico-Médica.
- Overbeeke, J.J van; Hillen, B. y Vermeij-Keers, Ch.R. (1994) The arterial pattern at the base of arhinencephalic and holoprosencephalic brains. *J. Anat.* 185: 51-63.
- Padget, D.H. (1948) The circle of Willis. Its embryology in human body. *Cont. Embryol. Carneg. Instit.* 32: 205-261.
- Peao, M.N.D.; Aguas, A.P.; De Sa, C.M. y Grande, N.R. (1994) Neof ormation of blood vessels in association with rat lung fibrosis induced by bleomycin. *Anat. Rec.* 238: 57-67.
- Pease, D.C. y Molinari, S. (1960) Electron microscopy of muscular arteries; pial vessels of the cat and monkey. *J. Ultrastruct. Res.* 3: 447-468.

- Peerless, S.J. y Yasargil, M.G. (1971) Adrenergic innervation of the cerebral blood vessels in the rabbit. *J. Neurosurg.* 35: 148-154.
- Penfield, W. (1932) Citado por Peters y cols. (1991).
- Peters, A.; Palay, S.L. y Webster, H. deF. (1991) *The fine structure of the nervous system.* New York: Oxford University Press.
- Pfeifer, R.A. (1928) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Pfeifer, R.A. (1930) Citado por Lazorthes y cols. (1976).
- Phillis, J.W. (1994) A radical view of cerebral ischemic injury. *Prog. Neurobiol.* 42: 441-448.
- Plate, K.H.; Breier, G. y Risau, W. (1994) Molecular mechanisms of development and tumor angiogenesis. *Brain Pathology* 4: 207-218.
- Plenk, H. (1927) Über argyrophile Fasern (Gitterfasern) und ihre Bildungszellen. *Ergeb. Anat. Entwicklungsgesch.* 27: 302-412.
- Puchades-Orts, A.; Nombela-Gomez, M. y Ortuno-Pacheco, G. (1976) Variation in form of circle of Willis: some anatomical and embryological considerations. *Anat. Rec.* 185: 199-224.
- Purkinje, J.E. (1845) Mikroskopisch-neurologische Beobachtungen. *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.* 281-295.
- Ragan, D.M.S.; Schmidt, E.E.; McDonald, I.C. y Groom, A.C. (1988) Spontaneous cyclic contractions of the capillary wall in vivo, impeding red cell flow: a quantitative analysis. Evidence for endothelial contractility. *Microvascular Research* 36: 13-30.
- Rapela, C.E. y Green, H.D. (1964) Autoregulation of canine cerebral blood flow. *Circ. Res.* 15(suppl. 1): 205-211.
- Reiss, D.J. (1979) Nervous control of cerebral blood flow in normal health and in relationship to cerebrovascular disease. En: Baillier, J.B. ed. *Cerebrovascular diseases.* Paris: Masson.
- Rennels, L.M. y Nelson, E. (1975) Capillary innervation in the mammalian central nervous system: an electron microscopic demonstration. *Am. J. Anat.* 144: 233-241.

- Rhodin, J.A.G. (1967) The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters. *J. Ultrastruct. Res.* 18: 181-223.
- Rhodin, J.A.G. (1977) *Histology. A text and atlas.* New York: Oxford University Press.
- Riggs, H.E. (1937) Citado por Hodes y cols. (1953).
- Riggs, H.E. y Rupp, C. (1963) Variations in form of circle of Willis. *Arch. Neurol.* 8: 24-30.
- Risberg, J. y Ingvar, D.H. (1970) Regional variations in cerebral blood volume during mental activity in normals and in psychiatric patients. En: Meyer, J.S.; Reivich, M.; Lechner, H. y Eichhorn, O. eds. *Research on the Cerebral Circulation: Fourth International Salzburg Conference.* Springfield.
- Robinson, G.; Ellis, I.O. y MacLennan, K.A. (1990) Immunocytochemistry. En: Bancroft, J.D. y Stevens, A. eds. *Theory and practice histological techniques.* London: Churchill Livingstone.
- Rodríguez-Baeza, A. (1989) Determinación mediante técnicas de corrosión, diafanización y microscopía electrónica de barrido de los territorios vasculares arteriales, con especial referencia a la irrigación de la médula espinal. *Rev. Real Acad. Med. Barcelona* 4: 29-38.
- Rodríguez-Baeza, A.; Ruberte, J; Carretero, A.; Ferreira, B.; Navarro, M; Pérez, X.; Soldado, F.; García, Y. y Hernández, F. (1995) Araldit® ayuda a estudiar el sistema vascular del hombre y de los animales. *Ciba Polímeros* 34: 18-20.
- Rogers, P.A.W. y Gannon, B.J. (1983) The microvascular cast as a three-dimensional tissue skeleton: visualization of rapid morphological changes in tissues of the rat uterus. *J. Microsc.* 131: 241-247.
- Roggendorf, W.; Cervós-Navarro, J. y Lazaro-Lacalle, M.D. (1978) Ultrastructure of venules in the cat brain. *Cell. Tiss. Res.* 192: 461-474.
- Rosenblum, W.I.; Nelson, G.H. y Shimizu, T. (1994) Endothelium dependent constriction by angiotensin II demonstrated in vivo in mouse brain arterioles. *Endothelium* 3: 63-66.
- Rouget, C. (1873) Mémoire sur le développement, la structure et les propriétés physiologiques des capillaires sanguins et lymphatiques. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.* 5: 603-663.



- Rouvière, H y Delmas, A. (1991) Anatomía humana. Descriptiva, topográfica y funcional. Vol. 3. Barcelona: Masson S.A.
- Ruberte, J.; Sautet, J.Y.; Giné, J.M.; López, C.; Ordoñez, G. y Rodríguez, A. (1991) Communications lymphatico-veineuses dans la glande mammaire de la chienne. *Anat. Anz.* 172: 331-339.
- Russell Jones, R. ; Sapull, J. Spry, C. Y Wilson Jones, E. (1986) Histogenesis of Kaposi's sarcoma in patients with and without acquired immuno deficiency syndrome (AIDS). *J. Clin. Pathol.* 39: 742-749.
- Sahuquillo, J.; Rodríguez-Baeza, A.; Baguena, M.; Reina, F.; Campos, L. y Rubio, E. (1996) Autoregulación cerebral: conceptos fisiopatológicos y metodología para su valoración en el paciente neurotraumatizado. *Med. Intensiva* 20: 69-78.
- Sahuquillo, J.; Rodríguez-Baeza, A.; Reina, F.; Poca, M.A.; Ferrer, A.M. y Báguena, M. ( en prensa -a-) Alteraciones en la reactividad al CO<sub>2</sub> y la autorregulación en los traumatismos craneoencefálicos. Implicaciones terapéuticas.
- Sahuquillo, J.; Rodríguez-Baeza, A.; Pedraza, S.; Munar, F.; Poca, M.A. y Rubio, E. ( en prensa -b-) Alteraciones de la microcirculación y de la barrera hematoencefálica en los traumatismos craneoencefálicos. Fisiopatología del edema cerebral postraumático.
- Salamon, G. (1971) Atlas de la vascularisation arterielle du cerveau chez l'homme. Paris: Sandoz Editions.
- Salamon, G. y Huang, Y.P. (1976) Radiologic anatomy of the brain. Berlin: Springer.
- Salom, J.B.; Torregrosa, G. y Alborch, E. (1995) Endothelins and the cerebral circulation. A review. *Cerebrovasc. Metab. Rev.* 7: 131-152.
- Sasaki, K.; Pabst, R. y Rothkötter, H.J. (1994) Development of the high endothelial venule in rat lymph node autografts. *Anat. Rec.* 238: 473-479.
- Saunders, R.L. de C.H. y Bell, M.A. (1971) X-ray microscopy and histochemistry of the human cerebral blood vessels. *J. Neurosurg.* 35: 128-140.
- Scharrer, E. (1940) Arteries and veins in the mammalian brain. *Anat. Rec.* 78: 173-196.
- Scharrer, E. (1962) Citado por Duvernoy y cols. (1981).

Schlosshauer, B. (1993) The blood brain barrier: morphology, molecules, and neurothelin. *BioEssays* 15: 341-346.

Schmidt, E. McDonald, I. Y Groom, A. (1988) Microcirculatory pathways in normal human spleen, demonstrated by scanning electron microscopy of corrosion casts. *J. Anat.* 181: 253-266.

Schraufnagel, D.E. (1987) Microvascular corrosion casting of the lung. A state-of-the-art review. *Scanning Microsc.* 1: 1733-1747.

Schummer (1935) Citado por Hodde (1981).

Shiraishi, T.; Sakaki, S y Uheara, Y. (1990) Architecture of the medial smooth muscle of the arterial vessels in the normal human brain: a scanning electron- microscopic study. *Scanning Microsc.* 4: 191-199.

Sims, D.E. (1986) The pericyte. A review. *Tissue and Cell* 18: 153-174.

Sims, P.A. y Albrecht, R.M. (1993) Improved tissue corrosion of vascular casts: a quantitative filtration method used to compare tissue corrosion in various concentrations of sodium and potassium hydroxide. *Scanning Microsc.* 7: 637-643.

Sokoloff, L. (1961) Local cerebral circulation at rest and during altered cerebral activity induced by anesthesia or visual stimulation. En: Kety, S.S. ed. *Regional Neurochemistry*. Long Island City: Pergamon.

Stehbens, W.E. (1972) Citado por Lee (1995).

Stephens, R.B. y Stilwell, D.L. (1969) *Arteries and veins of the human brain*. Charles C. Thomas ed. Illinois: Springfield.

Stöhr, P. (1922) *Über die Innervation der pia matter und des plexus choroideus des Menschen*. *Z. Anat. EntwGesch.* 63: 562-607.

Streeter, G.L. (1918) The developmental alterations in the vascular system of the brain of the human embryo. *Contrib. Embryol.* 8: 5-38.

Stroinska-Kusiowa, B. (1981) Postmortem studies of the cerebrovascular system by the vascular casting method and microangiography. *Neurol. Neurochir. Pol.* 15: 441-445.

Sumner, B.E.H. (1982) A quantitative study of vascular permeability to horseradish peroxidase, and the subsequent fate of the tracer, in rat brains after postcaval anastomosis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 8: 117-133.

Tilton, R.G. (1991) Capillary pericytes: perspectives and future trends. *J. Electron Microsc. Tech.* 19: 327-344.

Tsang, Y.C. (1936) Citado por Craigie (1945).

Umansky, F.; Dujouny, M.; Ausman, J.I.; Diaz, F.G. y Mirchadani, H.G. (1988) Anomalies and variations of the middle cerebral artery: a microanatomical study. *Neurosurgery* 22: 1023-1027.

Vande Berg, B.A. y Sadler, T.W. (1993) Examining the role of the mouse retinoic acid receptor beta in development. *Teratology* 47: 382.

Vander Eecken, H.M. y Adams, R.D. (1953) Anatomical and functional significance of meningeal arterial anastomoses of human brain. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 12: 132-157.

Van Der Bergh, R. (1961) Citado por Lazorthes y cols. (1976).

Van Der Zwan, A. y Hillen, B. (1990) Araldite F as injection material for quantitative morphology of cerebral vascularization. *Anat. Rec.* 228: 230-236.

Van Deurs, B. (1976) Observations on the blood-brain barrier in hypertensive rats, with particular reference to phagocytic pericytes. *J. Ultrastruct. Res.* 56:65-77.

Wagner, R.C. y Hossler, F.E. (1992) SEM of capillary pericytes prepared by ultrasonic microdissection: Evidence for the existence of a pericapillary syncytium. *Anat. Rec.* 234: 249-254.

Wagner, R.C. y Kachar, B. (1995) Linear gap and tight junctional assemblies between capillary endothelial cells in the eel rete mirabile. *Anat. Rec.* 242: 545-552.

Walmsley, J.G.; Campling, M.R. y Chertkow, H.M. (1983) Interrelationships among wall structure, smooth muscle orientation, and contraction in human major cerebral arteries. *Stroke* 13: 781-790.

Wallow, I.H. y Burnside, B. (1980) Actin filaments in retinal pericytes and endothelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 19: 1433-1441.

Weiger, T.; Lametschwandtner, A. y Stockmayer, P. (1986) Technical parameters of plastics (mercox CL-2B and various methylmethacrylates) used in scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. *Scann. Electron Microsc.* 4: 243- 252.

- Weiss, H.R. y Edelman, N.H. (1976) Effect of hypoxia on small vessel blood content of rabbit brain. *Microvascular Research* 12: 305-315.
- Williams, D.J. (1935) The innervation of the cerebral circulation in man; an histological study. M.D. Thesis, Univ. Manchester.
- Williams, P.L. y Warwick, R. (1985) *Gray Anatomía*. Vol. 2. Barcelona: Salvat.
- Williamson, J.R.; Tilton, R.G.; Kilo, Ch. y Yu, S. (1980) Immunofluorescent imaging of capillaries and pericytes in human skeletal muscle and retina. *Microvasc. Res.* 20: 233-241.
- Wolff, J. (1963) Beiträge zur Ultrastruktur der Kapillaren der normalen Grosshirnrinde. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 60: 409-431.
- Wollschlaeger, G. y Wollschlaeger, P.B. (1978) The transcerebral arteries. A postmortem arteriographic study. *Neuroradiology* 13: 249-252.
- Yoshida, K.; Meyer, J.S.; Sakamoto, K. y Honda, J. (1966) Autoregulation of cerebral blood flow. Electromagnetic flow measurement during acute hypertension in the monkey. *Circ. Res.* 19: 726-738.
- Zimmer, A.E.; Kim, I.H. y Schlechter, M.M. (1966) Injection-corrosion casts of the central nervous system. *J. Neurosurg.* 25: 383-394.
- Zimmermann, K.W. (1923) Der feinere han der lotutkcapillaren. *Zeitsch. Anat. Entwickl.* 68: 29-109.
- Zweifach, B.W. (1937) The structure and reactions of the small blood vessels in Amphibia. *Am. J. Anat.* 60: 473-514.