

Evaluación de un Modelo de Isquemia Cerebral Experimental en Ratas

Arango D. César A¹, Pimienta J. Hernán J², Escobar B. Martha I³

Las lesiones vasculares cerebrales continúan ocupando los primeros lugares de morbilidad en el mundo. La ineficacia de los recursos terapéuticos existentes hasta el momento hacen necesario establecer estrategias de investigación básica para poder profundizar en los aspectos fisiopatológicos y farmacológicos. Debido a que los análisis bioquímicos, inmunohistoquímicos, ultramicroscópicos y autoradiográficos entre otros requieren de procesos de fijación rápidos para evitar los cambios postmórtem, se hace muy difícil el estudio fisiopatológico básico en especímenes de cerebro humano, por lo tanto la mayoría de estudios o de hipótesis clínicas se basan en modelos experimentales de isquemia cerebral. El presente trabajo consiste en la implementación y evaluación de un modelo de isquemia cerebral en ratas el cual consiste en la introducción de un nylon monofilamento 4-0 recubierto de poli-L-lisina hasta el origen de la ACM. Se hace un seguimiento de la evolución del compromiso neurológico de las ratas, se comparan las características de la lesión entre los diferentes especímenes en diferentes tiempos de supervivencia y se determinan las manifestaciones histopatológicas y el tamaño de la lesión de acuerdo a diferentes tiempos de reperfusión. Se concluye que este modelo de isquemia cerebral en ratas se constituye en una óptima estrategia para la investigación básica de los fenómenos fisiopatológicos y farmacológicos relacionados con el accidente cerebrovascular isquémico, da la posibilidad de definir tiempos de reperfusión, los cambios neurológicos posteriores a la lesión se pueden predecir, se observa similitud del tamaño de la lesión entre los diferentes especímenes dependiendo del tiempo de reperfusión, la mortalidad es baja y en general se aproxima a la realidad de la lesión vascular focal en el hombre. *Salud UIS 2002;34:195-201*

Palabras Clave: Isquemia cerebral, Modelos experimentales

Cerebrovascular diseases are the first cause of morbimortality in the world. However in the present therapeutic treatments are not effective, so it is necessary to establish new strategies in basic research trying to identify the mechanisms underlying this pathology. Because biochemical, histochemical and autoradiographic studies are difficult in postmórtem human tissue, the use of experimental animal models has been proposed.

In the present paper we evaluate in rats a model of cerebral ischemia used by other researchers after occlusion of the middle cerebral artery by an intraluminal suture (4-0), cover with poli-L-lisina. The ischemic animals were evaluated at different survival times. We concluded that this model is a good strategy to evaluate the physiopathologic and pharmacological mechanisms underlying this condition. The model allows to predict the neurological deficit, its mortality is low and is quite similar to the focal vascular lesion observed in humans. *Salud UIS 2002;34:195-201*

Key Words: Cerebral Ischemia, Experimental model

INTRODUCCIÓN

Las lesiones vasculares cerebrales corresponden a la tercera causa de muerte y la primera causa de incapacidad permanente en los países industrializados, implica altos costos sociales y financieros.¹ La ineficacia de los recursos terapéuticos existentes hasta el momento hacen necesario establecer estrategias de investigación básica para poder

profundizar en los aspectos fisiopatológicos y farmacológicos.² Debido a que los análisis bioquímicos, inmunohistoquímicos, ultramicroscópicos y autoradiográficos entre otros requieren de procesos de fijación rápidos para evitar los cambios postmórtem, se hace muy difícil el estudio fisiopatológico básico en muestras clínicas humanas, por lo tanto, la mayoría de hipótesis clínicas se basan en modelos experimentales de isquemia cerebral.

Los modelos experimentales de isquemia cerebral son ampliamente usados en el mundo.^{3,6} Aunque se utilizan diversos tipos de especies, los roedores, especialmente las ratas, tienen una amplia aceptación en razón de que ofrecen varias ventajas: bajo costo y en virtud a su pequeño tamaño facilidad en la manipulación, menor gasto en los suministros de investigación, relativa homogeneidad genética y rapidez en la procreación, similitud importante con la anatomía y fisiología

¹Psiquiatra. Candidato a Doctorado en Ciencias Biomédicas. Universidad del Valle.

²Profesor Titular. Director del Centro de Estudios cerebrales. Universidad del Valle.

³Profesora Titular. Investigadora del Centro de Estudios Cerebrales. Universidad del valle.

Correspondencia: Dr. Hernán Pimienta. Centro de Estudios Cerebrales. Universidad del Valle.

Recibido Noviembre 13 de 2002, Aceptado Diciembre 28 de 2002

cerebrovascular del hombre al comparar con otras especies como hámsteres, perros o gatos^{7,10} y gran aceptación en los aspectos ecológicos y éticos.⁹

Los modelos experimentales de isquemia cerebral en ratas se pueden dividir en dos grandes grupos: los que producen una isquemia global en los dos hemisferios y los que ocasionan lesiones isquémicas focales, estos últimos se dividen a su vez en los que ofrecen posibilidad de reperfusión y los que no la ofrecen.

Los modelos de isquemia global en ratas son técnicamente sencillos y con facilidad se pueden replicar. Consisten en impedir temporal o indefinidamente el flujo de sangre por los vasos que irrigan el cerebro como las arterias carótidas y las vertebrales y han sido usados para la observación de los cambios neuroquímicos o morfológicos generales en estructuras corticales o subcorticales y en el estudio de estructuras vulnerables a la isquemia como el sector CA1 del hipocampo.^{11,13} Aunque permiten la reperfusión vascular, tienen la desventaja de que no representan fenómenos de focalización.

Los modelos de isquemia focalizada en ratas son más complicados técnicamente que los modelos de isquemia global, sin embargo, son ampliamente utilizados y han adquirido en los últimos años importante desarrollo.^{3,4} Las técnicas en las que se logra una isquemia del territorio de la Arteria Cerebral Media (ACM) son las que presentan mayor similitud con los infartos focales en el humano^{6,14} en los cuales se conoce que el compromiso de la ACM se observa hasta en el 80% de todas las lesiones vasculares cerebrales.¹ Uno de los modelos de isquemia focal más ampliamente usado, ha sido el desarrollado por Tamura y colaboradores¹⁵ en 1981. Consiste en ligar el segmento proximal de la ACM a través de una craneotomía, esta técnica a pesar de ocasionar un infarto replicable, tiene la desventaja de que no permite la reperfusión vascular, además, la exposición del cerebro produce cambios que pueden alterar las manifestaciones del proceso isquémico como el daño directo del tejido, cambios de la presión intracraneal y espasmo arterial ocasionado por la manipulación directa de la arteria.¹⁶ Para evitar la desventaja ocasionada por la craneotomía se introdujo la técnica de la trombosis fotoquímica (fototrombosis)¹⁷ que consiste en la exposición de la parte proximal de la ACM a un rayo de luz de 560 nm previa inyección intravenosa de rosa de bengala que al reaccionar con la luz genera oxígeno libre que peroxida moléculas lipídicas susceptibles del endotelio vascular y de las células sanguíneas que desencadenan la agregación plaquetaria y la formación de un trombo intraarterial, sin producir lesión térmica. Esta técnica es

muy utilizada pero tampoco permite la reperfusión arterial, puede producir lesión microvascular y alterar la barrera hematoencefálica del sector expuesto, puede desencadenar respuestas vasogénicas y no representa la realidad de la isquemia cerebral en el hombre.⁹

Varios investigadores se han esforzado en crear modelos de isquemia cerebral focal sin craneotomía y con posibilidad de reperfusión vascular. Estos modelos se han constituido en importante estrategia de investigación de la lesión vascular cerebral en los últimos años.^{3,4,6,14,18} La técnica con la que se logra fue desarrollada simultáneamente por Longa y colaboradores⁶ y por Nagasawa y Kogure¹⁶ en 1989 ambos grupos se basaron en el modelo experimental propuesto por Koizumi¹⁹ y colaboradores en 1986. En términos generales la técnica consiste en introducir por vía cervical a través de la arteria carótida interna (ACI) un nylon monofilamento que alcanza el origen de la ACM, mas tarde, dependiendo del tiempo que se determine, el nylon se retira del lecho arterial lo que permite la reperfusión vascular. La técnica de Longa y colaboradores ha sido complementada recientemente por Belayeb y colaboradores³ quienes comprobaron que al recubrir el nylon con poli-L-lisina, un polímero catiónico, se incrementa la adhesión del nylon al endotelio vascular de naturaleza aniónica lo que genera un infarto de mayor tamaño y menos variable entre los diferentes especímenes. Nagasawa y Kogure desde su descripción original de la técnica recubren el nylon con silicona mezclada con una sustancia "endurecedora" que podría producir un mecanismo similar de adhesión del filamento al endotelio vascular.

El presente trabajo consiste en la implementación y evaluación del modelo experimental de isquemia cerebral en ratas desarrollado por Longa y colaboradores y perfeccionado por Belayeb y colaboradores el cual consiste en la introducción de un nylon monofilamento 4-0 recubierto de poli-L-lisina hasta el origen de la ACM. Se hace un seguimiento de la evolución del compromiso neurológico de las ratas, se comparan las características de la lesión entre los diferentes especímenes en diferentes tiempos de supervivencia y se determinan las manifestaciones histopatológicas y el tamaño de la lesión de acuerdo a diferentes tiempos de reperfusión.

METODOLOGÍA

Muestra

32 ratas machos Wistar adultas con un peso entre 250 y 300 gramos y con una edad entre 90 y 110 días, fueron intervenidas quirúrgicamente con el fin de producir

isquemia cerebral focal unilateral con reperfusión vascular y tiempos de supervivencia diferentes. El procedimiento experimental fue evaluado y autorizado por el comité de ética de la Escuela de Ciencias Básicas de la Universidad del Valle. Se delimitaron 5 grupos experimentales y los controles (Ver tabla 1).

Cada una de las ratas se anestesió con hidrocloreuro de ketamina (60 mg/kg) y atropina (0.1 mg/kg) vía intraperitoneal. Durante el procedimiento quirúrgico se evaluó regularmente la función cardiorrespiratoria y la temperatura rectal. Se mantuvo la temperatura a 37 °C mediante una lámpara de calor.

Bajo microscopio quirúrgico se realiza una incisión longitudinal en la línea media del cuello. Después de disecar y separar la piel y el tejido celular subcutáneo se disecan y retraen con separadores el músculo digástrico, esternomastoideo y homohioideo. Después se divulsiona este último para permitir visualizar el paquete vasculonervioso del cuello. Se localiza la Arteria Carótida Común (ACC) la cual se disecciona y se separa cuidadosamente del nervio vago, rostralmente se localiza la bifurcación, se disecciona la arteria carótida externa (ACE) y se ligan con propileno 6-0 sus ramificaciones: la arteria occipital, la tiroidea superior, la faríngea ascendente, la maxilar y la lingual, quedando así libre la ACE y ligada en su extremo en forma de fondo de saco. Posteriormente se localiza la porción más rostral extracraneal de la ACI cerca a la base del cráneo, con el fin de ligar con propileno 6-0 la arteria pterigopalatina. Así se logra que la ACI sea el único remanente de la ACC.

Un segmento de nylon monofilamento 4-0 de 3.5 cm de longitud se redondea en uno de sus extremos con calor y se baña en una solución de poli-l-lisina (0.1% peso/vol en agua deionizada) y es incubado a 60°C durante una hora. Se coloca un clamp a la ACC y se controla el flujo retrógrado con un cordón de caucho que rodea la ACI, el nylon monofilamento se introduce por el extremo del fondo de saco correspondiente a la ACE teniendo como parámetro la bifurcación carotídea hasta una longitud de 17.5 mm y se fija con polipropileno 6-0 el cual debe

quedar circundando el extremo de la ACE evitando así el sangrado. En este momento se cierra la herida quirúrgica y se deja el extremo del nylon rebosando, la rata se recupera de la anestesia y se le permite libre acceso a agua y alimentación. Al cabo de dos horas y media a las ratas de los grupos C, D y E se les hala el nylon a través de la herida quirúrgica y se deja alojado su extremo en el fondo de saco de la ACE, de esta forma se inicia la reperfusión sin necesidad de anestesiarse nuevamente al animal, a las ratas de los grupos A y B no se les extrae el nylon por lo cual no se produce la reperfusión.

A las ratas control se les realiza todo el procedimiento descrito a excepción de que el nylon monofilamento 4-0 no se introduce hasta el nivel de la ACM sino que se deja en el fondo de saco de la ACE.

Todas las ratas son sometidas a una evaluación neurológica conductual a las 2 horas, 8 horas y cada 24 horas hasta el tercer día. El déficit se define de acuerdo con la escala de Zea Longa: ⁶ grado 0: sin déficit neurológico, grado 1: no contrae la pata anterior izquierda completamente, grado 2: movimientos circulares a la izquierda, grado 3: inclinación permanente hacia el lado izquierdo con respuesta motora a estímulos y grado 4: nivel de conciencia deprimido sin respuesta motora a estímulos. Al tiempo correspondiente las ratas de los grupos experimentales y de los grupos control se sacrifican por decapitación, los cerebros se retiran rápidamente del cráneo y se congelan con hielo seco pulverizado para ser almacenados a -70°C. Se practican cortes coronales de 1.21mm de espesor en el criostato entre bregma 1.20 a -0.30 mm (Atlas de Paxinos y Watson²⁰). Los cortes se fijan en formol, se lavan con agua destilada y se recubren de hematoxilina de Harris durante tres minutos, se lavan con agua destilada y se deshidratan en dos cambios con alcohol de 50° y 70° por tres minutos cada uno para así teñir con eosina alcohólica durante tres minutos, se deshidrata con dos cambios de alcohol al 96% y se aclaran con creosota. Las muestras así obtenidas son fotografiadas y escaneadas para introducirlas al sistema de procesamiento de imágenes JAVA (Jandel Video Análisis Software) el cual detecta las diferentes intensidades y calidades del color y permite establecer el porcentaje de área lesionada con relación al área del corte coronal. Los resultados se procesan estadísticamente teniendo en cuenta la desviación estándar de la muestra total de cada grupo.

RESULTADOS

El déficit neurológico conductual postisquémico a las 2 horas, 8 horas y cada 24 horas durante los primeros tres

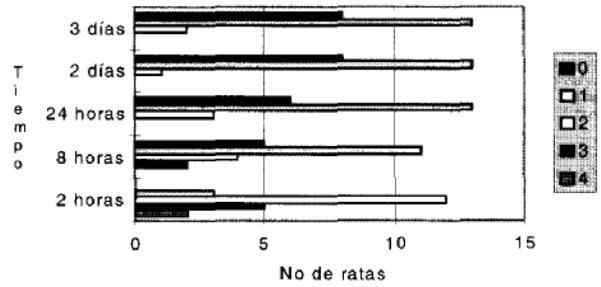
Tabla 1. Grupos experimentales y controles

Grupo	Tiempo de supervivencia	Reperfusion Vascular (tiempo)	Número de ratas
A	12 h	No	2
B	80 h	No	2
C	80 h	2 :30 h	10
D	10 d	2 :30 h	7
E	20 d	2 :30 h	5
	80 h	Control	2
	10 d	Control	3
	20 d	Control	1

días puede observarse en la Figura 1. Nótese que todos los animales presentaron déficit a las dos horas de isquemia, al iniciarse la reperfusión vascular se observa una importante tendencia a la mejoría, a partir de las 24 horas la mayoría de animales se sitúan entre el grado 0 y 1 de la escala. Las ratas de los Grupos A y B, que no tuvieron reperfusión vascular se situaron todas entre los ítems 3 y 4 de la escala. En cuanto a las ratas control, ninguna presentó déficit.

El hallazgo histológico con hematoxilina-eosina en las áreas lesionadas, consiste como previamente se ha descrito²¹ en alteraciones de la morfología celular que incluye tumefacción celular, eosinofilia citoplasmática, picnosis nuclear, cariólisis y cariórrexis; en los sectores más comprometidos áreas necróticas basófilas con espacios “vacíos” consistentes en la denominada necrosis colicuativa del tejido nervioso.

Las cuatro ratas de los Grupos A y B (sin reperfusión) presentaron lesión derecha evidente, muy similar en todos los casos, con un área promedio comprometida proporcional al total del corte coronal de $40.1 \pm 1.89\%$, que incluye caudatoputamen, corteza frontoparietal e hipocampo (Figura 2 B y 2 D). De las 10 ratas del Grupo C (3 días de supervivencia postisquemia) muestran necrosis colicuativa 8 (80%) en un área proporcional al corte coronal del $30.8 \pm 6.25\%$, los sectores necróticos en todos los casos se localizan en el caudatoputamen y la mitad lo muestran en la corteza frontoparietal (Figura 2 A y 2 C).



Grado 0: No déficit neurológico observable
 Grado 1: No contrae la pata anterior izquierda completamente
 Grado 2: Movimientos circulares a la izquierda
 Grado 3: Inclinación permanente hacia el lado izquierdo, respuesta motora a estímulos
 Grado 4: Nivel de conciencia deprimido, no se mueve incluso ante estímulos

Figura 1. Déficit neurológico postisquémico (n=22 Grupos C, D y E), a las dos horas todas las ratas presentan algún tipo de compromiso neurológico, en el lapso de tres días la recuperación es notable.

Entre las siete ratas del Grupo D (10 días de supervivencia postisquemia) seis (86%) tienen evidencia de lesión necrótica en caudatoputamen, de estas, dos muestran también compromiso de la corteza frontoparietal, el tamaño de la lesión se observa menor que el de las ratas del Grupo C observándose un área de lesión del $21.6 \pm 3.01\%$ con relación al corte coronal. Solo en una rata del Grupo E (20 días de supervivencia postisquemia) se observa lesión histológica clara de cavitación que corresponde a un pequeño sector lateral y ventral del

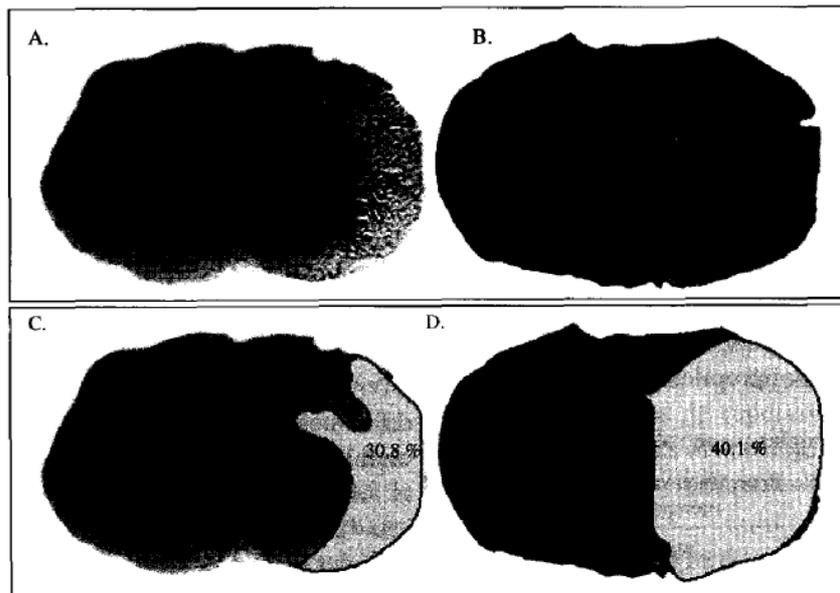
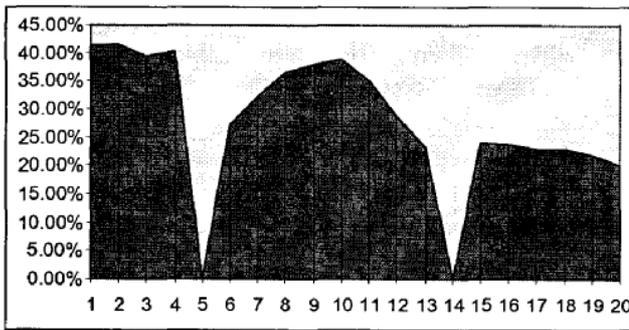


Figura 2. Cortes coronales de corteza cerebral de rata sometidas a isquemia del territorio de la arteria cerebral media derecha por sutura intraluminal sacrificadas al tercer día: se observa un espécimen que tuvo reperfusión a los 90 minutos y en B un espécimen al que no se le instauró reperfusión. En C y D se señala el porcentaje de área lesionada con relación al total del área del corte coronal. (laboratorio de Histología de la Universidad del Valle).



Grupo A-B: 40.1±1.89% (sin reperusión 12 horas y tres días de supervivencia)

Grupo C: 30.2±6.25% (con reperusión y tres días de supervivencia)

Grupo D: 21.6±3.01% (con reperusión y diez días de supervivencia)

Figura No 3. Se muestra el porcentaje visible de lesión postisquémica con relación al total del área del corte coronal. El primer sector corresponde a lesiones del Grupo A y B (n=4). El segundo sector corresponde al Grupo C (n=8). El tercer sector al Grupo D (n=6)

caudatoputamen y lateral de la corteza frontoparietal. La figura 3 muestra el porcentaje visible de lesión isquémica con hematoxilina de Harris en los grupos experimentales A, B, C y D.

Si consideramos el total de ratas de los Grupos A a D, se observan con lesión histológica 18 de los 21 animales intervenidos, lo que corresponde al 85.7% del total, las tres ratas restantes a pesar de haber estado sometidas al mismo procedimiento incluso mostrando déficit neurológico, no presentaron lesión visible con hematoxilina eosina. La mortalidad del procedimiento fue del 30% excluyendo la mortalidad por hemorragia.

DISCUSIÓN

Los modelos de isquemia cerebral focal transitoria en ratas por obstrucción de la ACM con sutura intraluminal han adquirido en los últimos tiempos importancia para el estudio de los fenómenos subyacente al insulto isquémico, especialmente por su similitud con la lesión humana.^{3,4,6,10,15} Aunque se discute éste modelo en cuanto a la congruencia del tamaño de la lesión en los diferentes especímenes, se llama la atención en que los resultados dependen de la confluencia de varios aspectos, como son el peso de las ratas,⁵ la longitud intraluminal de la sutura,^{5,3,6} el tipo de nylon utilizado,²² la temperatura intraoperatoria y el tiempo de reperusión entre otros.^{5,6,8}

Belayeb y colaboradores³ comprobaron que al recubrir la sutura con poli-l-lisina se incrementa la adhesión del

endotelio vascular a la superficie de la sutura por interacción de los sitios catiónicos de la primera con los sitios aniónicos de la superficie celular, por lo tanto se hace más consistente la lesión. Al comparar los resultados del tamaño de la lesión obtenida inicialmente por Longa y colaboradores⁶ quienes utilizan la sutura sin el recubrimiento de poli-l-lisina, con los resultados obtenidos por Belayeb y colaboradores, se encuentra en este último mas similitud en los resultados, con un coeficiente de variación del 8% en comparación al reportado previamente por Longa y colaboradores que corresponde al 54%.

Nosotros obtuvimos un porcentaje de área lesionada con relación al total del área del corte coronal de 40.1±1.89% para las ratas que no tuvieron reperusión vascular y de 30.2±6.25% para las ratas a las que se le permitió reperusión a los 180 minutos y se les permitió una supervivencia de tres días. Longa y colaboradores reportan para estos mismos grupos 37.6±5.5% y 21.9±14.5% respectivamente. Nuestros datos corroboran los resultados de Belayeb y colaboradores^{3,4} quienes refieren que el recubrimiento de la sutura con poli-l-lisina incrementa el tamaño del infarto y disminuye la variación del mismo.

En los cerebros de las ratas que tuvieron 10 días de supervivencia también se observaron lesiones del 21.6±3.01%, lo que muestra una tendencia a la disminución del tamaño de la lesión. De las ratas experimentales que se les permitió una supervivencia de 20 días se pudo observar lesión histológica con hematoxilina de Harris solo en una de ellas.

La recuperación neurológica de las ratas en nuestro experimento es muy semejante a la descrita en la literatura.^{3,23,24} Las que no presentaron reperusión vascular se situaron en los grados 3 o 4 de la escala de evaluación, mientras que las que presentaron reperusión se recuperaron rápidamente y a las 80 horas se situaron en los grados 1 y 2.

Belayeb y colaboradores³ encontraron lesión en todas las ratas intervenidas, en nuestra serie el 14.3% no presentaron lesión al examen histológico, desconocemos la causa de este resultado. Sin embargo, a pesar de no demostrarse lesión histológica con hematoxilina de Harris en algunos de los especímenes, la serie general de respuesta a nuestro procedimiento es significativa con una diferencia estadísticamente válida con relación al control ($p < 0.01$), además, no presenta mayor variación en cuanto al tamaño, pues nosotros encontramos una $sd = 1.89$ en ratas sin

reperusión y $sd=6.25$ en ratas con reperusión y tres días de supervivencia; Longa y colaboradores reportan la $sd=5.5$ y 14.5 respectivamente en grupos similares.

En nuestra serie, 8 ratas del Grupo C (3 días de supervivencia postisquemia) muestran necrosis colicuativa en el caudatoputamen y la mitad lo muestran en la corteza frontoparietal, seis ratas del Grupo D (10 días de supervivencia postisquemia) tienen evidencia de lesión necrótica en caudatoputamen, de estas, dos muestran también compromiso de la corteza frontoparietal y solo una rata del Grupo E (20 días de supervivencia postisquemia) muestra lesión histológica clara de cavitación que corresponde a un pequeño sector lateral y ventral del caudatoputamen. Estos resultados son congruentes con los encontrados por algunos autores quienes consideran que los mecanismos fisiopatológicos de la lesión cortical y la lesión del estriado son diferentes, se señala una mayor vulnerabilidad de los ganglios basales a la isquemia y una evolución diferente.^{16,25,26} El incremento de la lesión isquémica ocasionada por la hipotensión arterial es más marcada en la corteza que en el cuerpo estriado¹⁸ lo que corrobora los diferentes mecanismos fisiopatológicos en las dos estructuras.

En nuestro trabajo, los grupos experimentales que presentaron mas tiempo de obstrucción de la ACM presentaron una lesión mayor y el déficit neurológico fue más acentuado. La relación entre el tiempo de permanencia del nylon en el lecho vascular al nivel de la ACM y el incremento de células necróticas con un mayor compromiso neurológico ha sido descrito por otros autores.^{25,26} Este resultado permite predeterminar diferentes tamaños de la lesión de acuerdo a las necesidades específicas de los proyectos de investigación.

El modelo de isquemia cerebral focal utilizado por nosotros requieren de la estandarización de parámetros fisiológicos como la presión arterial,¹⁸ la glicemia,²⁷ la temperatura corporal^{3,6} y la edad de las ratas²⁸, también se requiere tener en cuenta aspectos técnicos como la calidad y el grueso del Nylon²² y la longitud intraluminal desde la bifurcación carótida. En esta serie, se utilizó el tipo de sutura recomendada²² con el grosor especificado^{3,6}, se escogieron ratas jóvenes, se controló la temperatura corporal y se hizo un monitoreo global de la función cardiorrespiratoria en la cual se observa estabilidad de estos parámetros fisiológicos durante el acto operatorio. No se controló la presión arterial ni la glicemia, a pesar de esto, los resultados fueron significativos y reproducibles.

Muchos estudios reportan cambios no significativos en estos parámetros fisiológicos durante el procedimiento operatorio.^{3,4,6,18,21,22,24,26}

La mortalidad reportada por Zea Longa y colaboradores⁶ fue del 8,3%, Nagasawa y Kogure¹⁶ señalan una alta mortalidad que alcanza el 92,7% a las doce horas, otros autores reportan muy baja mortalidad,^{3,14} discordancia seguramente asociada a la habilidad técnica de los cirujanos o a la adecuada dosificación de anestésicos. En nuestra serie hubo un 30% de mortalidad excluyendo la hemorragia intraoperatoria.

Con los anteriores resultados podemos concluir que el modelo de isquemia cerebral experimental en ratas que consiste en la introducción de un nylon 4-0 recubierto de poli-L-lisina a través de la ACI hasta alcanzar el origen de la ACM se constituye en una optima estrategia para la investigación básica de los fenómenos fisiopatológicos y farmacológicos relacionados con el accidente cerebrovascular isquémico.^{29,30} La posibilidad de definir tiempos de reperusión y la similitud del tamaño de la lesión dependiente del tiempo de isquemia agrega ventajas con relación a otros modelos y permite evaluaciones aproximadas a la realidad de la lesión vascular focal en el hombre.³¹

REFERENCIAS

1. World Health Organization Task Force on Stroke preventions and other Cerebrovascular Disorders : recommendation on stroke preventions, diagnosis and therapy. *Stroke* 1999 ;20 :1407-1431
2. Ferger D, Kriegelstein J. Cerebral ischemia: pharmacological bases of drug therapy. *Dementia* 1996: 161-168
3. Belayeb L, Alonso OF, Busto R, Zhao W, Ginsberg MD. J occlusion in the rat by intraluminal suture. *Stroke* 1996 ;27:1616-1623
4. Belayeb L.; Zhao W.; Ginsberg D. Transient middle cerebral artery occlusion by intraluminal suture: three dimensional autoradiographic image-analysis of local cerebral glucose metabolism -blood flow interrelationships during ischemia and early recirculation 1997: 17: 1266-1280
5. Laing RJ, Jakubowski J, Laing R W. middle cerebral artery without craniectomy in rats : which method work best?. *Stroke* 1993 ;24 :294-298
6. Longa EZ, Wenstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989 ;20 :84-91
7. Holland JP, Sydserff S, Taylor W, Bell A. Rat model of middle cerebral artery ischemia. *Letters to editor.*

- Stroke 1993 ;24 :1423-1424
8. Molinari G.F, Laurent JP. A classification of experimental models of brain ischemia. *Stroke* 1976;7:14-17
 9. Ginsberg MD, Bustos R. Rodent models of cerebral ischemia. *Stroke* 1989 ;20 :1627-1642
 10. Yamori Y, Horie R, Handa H, Sato M, Fukase M. Pathogenetic similarity of strokes in rats and humans. *Stroke* 1986; 17: 738-743
 11. Schmidt-Kastner R, Freund T F. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience* 1991 ;40 :599-636
 12. Kirino T, Tamura A, Sano K. A reversible type of neuronal injury following ischemia in the gerbils hippocampus. *Stroke* 1986 ;17 :455-459
 13. Kitagawa K, Matsumoto M, Niinobe M, Micoshiba K, Hata R, Ueda H, Handa N, Fukunaga R, Isaka Y, Kimura K, Kodama T. Microtubule-associated protein 2 a sensitive marker for cerebral ischemic damage, immunohistochemical investigation of dendritic damage. *Neuroscience* 1989 ; 31 :401-411
 14. Zhao W, Belayeb L, Ginsberg D. Transient middle cerebral artery occlusion by intraluminal suture: neurological deficit, and pixel-based correlation of histopathology with local blood flow and glucose utilization. *J cereb blood flow and metabolism* 1997: 17: 1281-1290
 15. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale G M. Focal cerebral ischemia in the rat : 1. Description of the technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow and Metab* 1981; 1 :53-60
 16. Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 1989 ;20 :1037-1043
 17. Markgraf C, Kraidy S, Prado R, Watson B, Dietrich W, Ginsberg M. Comparative histopathologic consequences of photothrombotic occlusion of the distal middle cerebral artery in rats. *Stroke* 1993; 24: 286-293.
 18. Osborne K, Shigeno T, Balarsky A, Ford I, McCulloch J, Teasdale G, Graham D. Quantitive assessment of early brain damage in a rat model of cerebral ischemia. *J of Neurol Neurophysy and Psychiatry* 1987;50:402-410
 19. Koizumi J, Nakazawa T, Yoshida Y. Reperfusible brain infarct model in the rat. Proceeding of the 10 meeting of the Japanese stroke society. 1985; April 18-19: 159
 20. Paxinos G, Watson Ch. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press California, second edition. 1986
 21. Robbins CK. *Inflamación y reparación. Patología Estructural y Funcional*. Editorial Interamericana, 4a edición. 1990 ;39-86
 22. Kuge Y, Minematsu K, Yamaguchi T, Miyake Y. Nylon monofilament for intraluminal middle cerebral artery occlusion in rat. *Stroke* 1995; 26: 1655-1658
 23. Rogers D, Campbell C, Stretton J, Mackay K. Correlation between Motor impairment and infarct volume after permanent an transient middle cerebral artery occlusion. *Stroke* ; 1997: 2060-2066
 24. Markgraf C, green E, Watson B, McCabe P, Schneiderman N, Dietrich D, Ginsberg M. Recovery of sensorimotor function after distal middle cerebral artery occlusion in rat. *Stroke* 1994; 25: 153-159
 25. García JH. A reliable method to occlude a middle cerebral artery in Wistar rats. *Letters to editor. Stroke* 1993 ;24 :1423-1424
 26. Dereski M, Chopp M, Knight R, Rodolosi R, Gracia J. The heterogeneous temporal evolution af focal ischemic neuronl damage in the rat. *Acta Neuropathologica* 1993; 85: 327-333
 27. Yanahara T, Brengman JM, Mushynki WE. Differential vulnerability of microtubule components in cerebral ischemia. *Acta Neuropathol* 1990 ;80 :499-505
 28. Yoshimi K, Takeda M, Nishimura T, Kudo T, Nakamura Y, Tada K, Iwata N. An immunohistochemical study of MAP2 and clathrin in gerbils hippocampus after cerebral ischemia. *Brain Res* 1991 ;560 :149-158
 29. Pimienta H, Arango C, Pedroza C, Escobar M. Respuesta neurobiológica a la lesión cerebral isquémica: zona de infarto, zona de penumbra y regiones exofocales. *Neurociencias en Colombia* 2000; 8: 13-25
 30. Arango C, Pimienta H, Escobar M. Aproximación clínica y fisiopatológica a la depresión postisquemia cerebral. *Revista Colombiana de Psiquiatría* 2000; 29: 321-332
 31. Hunter A, Mackay K, Rogers D. To wath extent functional studies of ischaemia in animals been useful in the assessment of potential neuroprotective agents? *Trends in Pharmacological Sciences* 1998; 19: 59-66