

# Preparación de Hemisferios Cerebrales para Disección de Tractos

## Preparation of Cerebral Hemispheres for Tracts Dissection

Marco Guerrero<sup>1,2</sup>; Mariano del Sol<sup>1,3</sup> & Nicolás Ernesto Ottone<sup>1,3,4</sup>

**GUERRERO, M.; DEL SOL, M. & OTTONE, N. E.** Preparación de hemisferios cerebrales para disección de tractos. *Int. J. Morphol.*, 37(2):533-540, 2019.

**RESUMEN:** Desde la antigüedad se han desarrollado técnicas para el estudio del cerebro con fines didácticos o neuroquirúrgicos. Hacia 1934 Josef Klingler desarrolla una técnica de preparación de hemisferios cerebrales que basada en la fijación con formalina y el congelamiento para aislar los tractos cerebrales. El objetivo de la presente artículo ha sido analizar los métodos de preparación utilizados para la disección de tractos en cerebros humanos y de animales. Se realizó una revisión de la literatura en las bases de datos Web of Science, Scopus, Pubmed, Medline y Scielo, utilizando como descriptores: Disección, Cerebro, Tracto, con el operador booleano “AND” entre ellos, en los idiomas inglés y español, hasta junio de 2018. Fueron seleccionados 26 documentos, para el análisis se determinaron las variables: espécimen, número de hemisferios cerebrales, concentración de formalina, tiempo de fijación, temperatura, tiempo de congelamiento y tractos identificados. En la literatura seleccionada, un total de 410 hemisferios cerebrales fueron analizados, 372 de humanos y 38 de animales; 330 fueron conservados en formalina al 10 %, 20 en formalina al 5 % y el resto en otras concentraciones. El tiempo de fijación fue variable entre 10 y 180 días, así como la temperatura y tiempo de congelación (-10 °C y -20 °C, entre 8 y 30 días). En todos los casos se reportó que, en su totalidad o parcialmente, los fascículos cerebrales de asociación fueron aislados. En la preparación de hemisferios cerebrales para disección de tractos, Ludwig & Klingler (1956) recomiendan que en la fijación de los especímenes se utilice formalina al 5 %, sin embargo, el 80 % de los hemisferios utilizados fueron fijados en formalina al 10%, y en esta concentración, el tiempo de fijación, temperatura y tiempo de congelación fue variable, lográndose, en todos los casos analizados, la disección parcial o total de los tractos.

**PALABRAS CLAVE:** Cerebro; Disección de tractos cerebrales; Fijación; Formalina; Congelación.

## INTRODUCCIÓN

El sistema nervioso central (SNC) en los mamíferos ha alcanzado un desarrollo complejo, desconociéndose en la actualidad muchas de las funciones producidas por la enorme interactividad y plasticidad de sus unidades estructurales y funcionales, las neuronas (Standring, 2016). A pesar de la cantidad de información disponible, producto de la investigación científica, se continúa indagando el SNC para conocer más sobre su morfología y funcionamiento, en la búsqueda de hacer frente a muchas enfermedades que son catastróficas e irreversibles, como son el Alzheimer, la demencia senil, la esquizofrenia, el Parkinson, la epilepsia y los tumores, entre otros (Ciccarelli *et al.*, 2008; Schmahmann *et al.*, 2008).

Al explorar macroscópicamente los hemisferios cerebrales, se pueden observar dos partes diferenciadas: la sus-

tancia gris, constituida por los cuerpos celulares de las neuronas y relativamente pocos axones mielinizados; y la sustancia blanca, que se compone, principalmente, de tractos de axones mielinizados con poco contenido de cuerpos celulares (García-Porrero & Hurlé, 2015). La diferencia en la coloración surge principalmente, en el caso de la sustancia blanca, por el color blanquecino que posee la mielina, en cambio, la sustancia gris debe su color a la presencia de ergastoplasma e inclusiones de pigmentos como la melanina. En el tejido vivo, la materia gris en realidad tiene un color gris muy claro con tonalidades amarillentas o rosadas, que provienen de los vasos sanguíneos y los cuerpos de las células neuronales (Geneser *et al.*, 2015).

El interés por la investigación morfológica y funcional del cerebro no es reciente, data desde la antigüedad.

<sup>1</sup> Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>2</sup> Cátedra de Anatomía Normal, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

<sup>3</sup> Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Chile.

<sup>4</sup> Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas, Centro de Investigación en Ciencias Odontológicas (CICO), Departamento Odontología Integral Adultos, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Alcmeón de Crotona, filósofo pitagórico dedicado a la medicina, y que vivió en el siglo V A.C., fue quien sostuvo que el cerebro era el sitio de la conciencia, las sensaciones y el entendimiento, siendo además el que regía todo el cuerpo, es decir que era el órgano central de toda actividad humana. Platón, su discípulo, le dio un lugar privilegiado en el cosmos (Celesia, 2012). Luego vendrían Herófilo y Erasístrato, quienes describieron el sistema nervioso (Romero Reverón, 2008, 2010). En el siglo II de nuestra era aparece Galeno, quien le concede al cerebro las funciones superiores o complejas; sus escritos son la base del aprendizaje anatómico para la formación médica (Duque Parra *et al.*, 2014a). En el siglo XVI surge Vesalio y con su maravillosa obra “*De Humanis Corporis Fabrica*”, en la 4ª lámina del capítulo VII, se puede observar un corte axial del cerebro distinguiendo la sustancia gris y la sustancia blanca (Romero, 2007; Duque Parra *et al.*, 2014b).

Los estudios desarrollados posteriormente para encontrar la función de la corteza cerebral han sido muchos, claro está, no suficientes, sin embargo, en la actualidad se cuenta con un mapa cortical realizado por Brodmann en 1909, el cual ha ido perfeccionándose como un modelo citoarquitectónico, ya que lo funcional es integrado de diversas áreas (Guillery, 2000).

Para el caso de la región subcortical, y más específicamente los tractos de la sustancia blanca en el ser humano, la historia registra que en 1669 Marcelo Malpighi (1628-1694) demostró que la sustancia blanca estaba compuesta de fibras; en 1671, el beato Niels Steensen (1638-1686), utilizando el método de legrado, estudió los tractos de sustancia blanca siguiendo su recorrido, este método fue realizado también con éxito por Raymon Vieussens en 1685 y Félix Vicq d'Azyr en 1786 (Guillery, 2000).

Sin embargo, la conservación de hemisferios cerebrales para la disección de fibras de la sustancia blanca, tiene como principal exponente a Johan Christian Reil (1759-1813), quien fue el primero que desarrolló un método de fijación con alcohol para preservarlos; en 1809 publicó un atlas de disección de fibras en donde se describe detalladamente la corona radiada, el sulcus circularis, el lóbulo de la ínsula, el lemnisco medial y otras estructuras cerebrales (Stagnaro, 2015).

Científicos como Luigi Rolando (1773-1831), Karl Friederich Burdach (1776-1847), Bartholomeo Panizza (1785-1867), Herbert Mayo (1796-1852), Friedrich Arnold (1803-1890), Louis Pierre Gratiolet (1815-1865), Paul Pierre Broca (1824-1880), Jean Baptiste Trolard (1842-1910), Joseph Jules Dejerine (1849-1917), Johan Vilhelm Hultkrantz (1862-1938), Henry Chandler (1862-1978),

Edward James Curran (1872-1962), Loyal Davis (1872-1962), James Papez (1883-1958), Elizabeth Crosby (1888-1983), Wilder Graves Penfield (1891-1976), entre otros, quienes realizaron importantes aportes en la preservación de los hemisferios cerebrales y en la disección de tractos (Makris *et al.*, 2005; Shah *et al.*, 2012; Forkel *et al.*, 2014).

En 1934, Josef Klingler (1888-1963), retirado de sus estudios de medicina, trabajando como técnico de laboratorio y preparador del Instituto de Anatomía de la Universidad de Basel, luego de estudiar con León Laurelle en Bruselas y Henry Rouvière en París, desarrolla su propio método de extracción y preservación de hemisferios cerebrales en formalina, que revolucionaría el proceso de disección de tractos. Klingler propone que para un adecuado proceso de disección de los tractos cerebrales es necesario que el tejido se fije en forma homogénea, especialmente el que se encuentra más profundamente. Por lo tanto, la concentración de formalina disuelta en agua debe ser al 5 %; en esta proporción el líquido fijador penetra bien y rápidamente hasta las profundidades del cerebro. El órgano debe ser guardado de 2 a 3 meses, previamente a ser congelado por 8 a 10 días a temperaturas entre -10 °C y -15 °C, para posteriormente, ser lavado con agua corriente a temperatura ambiente (Agrawal *et al.*, 2011).

El efecto que produce el congelamiento de la compacta estructura cerebral es distenderla y esto se produce probablemente porque la solución de formalina penetra al interior de las fibras mielínicas y permanece entre ellas. Por tanto, con el congelamiento, el agua aumenta su volumen en aproximadamente el 10 %, separando la sustancia gris de la sustancia blanca y las fibras unas de otras, sin que la forma y consistencia cerebral sea afectada, lo cual facilita la disección e identificación de los tractos (Pérez *et al.*, 2008; Agrawal *et al.*; Martino & De Lucas, 2014; Zemmoura *et al.*, 2016). Con este método, Klingler conjuntamente con Eugen Ludwig, en 1956, publican un atlas llamado Atlas Cerebri Humani que contenía 100 láminas de disección del cerebro con nomenclatura de Paris Nomina Anatomica (1955) y la propia dada por Klingler a algunas estructuras cerebrales (Ludwig & Klingler, 1956; Agrawal *et al.*).

En la actualidad, con el método de disección de tractos de la sustancia blanca cerebral de Klingler, se ha podido comprender mejor la organización de los tractos, ya que muestran una visión tridimensional de su trayecto, por tanto el estudio neuroanatómico y neuroquirúrgico ha conitado el interés de los neuroinvestigadores (Fernández-Miranda *et al.*, 2008; Schmahmann *et al.*).

Con la aplicación del método de Klingler ha sido posible identificar con claridad la existencia de tres tipos de

fibras en la sustancia blanca cerebral: de asociación, comisurales y de proyección (Martino & De Lucas).

Las fibras de asociación conectan giros y lóbulos de un mismo hemisferio cerebral. Se distinguen en fibras cortas y largas. Son cortas, aquellas que interconectan giros adyacentes y se encuentran superficiales, son las fibras en “U” (De Benedictis *et al.*, 2012). Las fibras largas forman los fascículos de asociación intrahemisféricos. Son más profundos que los fascículos entre giros, están anatómicamente bien definidos y pueden ser reconocidos por disección de tractos (Martino & De Lucas). Aquí encontramos principalmente:

El fascículo longitudinal superior, que conecta los lóbulos temporal, parietal y frontal. Está constituido por una vía directa, que corresponde al fascículo arqueado, el cual transcurre por encima de la ínsula; y la vía indirecta, que consiste en dos segmentos: uno anterior u horizontal, que conecta la corteza frontal lateral con el giro parietal inferior; y otro posterior o vertical, que conecta el giro parietal inferior con el lóbulo temporal (Türe *et al.*, 2000; Martino *et al.*, 2011; Maldonado *et al.*, 2012).

El fascículo fronto-occipital inferior, que atraviesa el lóbulo de la ínsula y conecta el lóbulo frontal con los lóbulos occipital, parietal y temporal. Cuando llega a la ínsula atraviesa la porción anteroinferior de la cápsula externa, cápsula extrema y claustro. Al llegar al lóbulo temporal se sitúa por encima y lateral a las radiaciones ópticas (Forkel *et al.*).

El fascículo longitudinal inferior, se origina en el polo del lóbulo temporal y se dirige en dirección posterior, lateral al cuerno temporal y atrio del ventrículo lateral, terminando en el lóbulo occipital. Tiene dos porciones: una directa, constituida por fibras largas, y una indirecta, constituida por fibras cortas (Catani *et al.*, 2003; Ashtari, 2012; Ortibus *et al.*, 2012; Martino & De Lucas).

El fascículo uncinado, que conecta la parte anterior del lóbulo temporal con la cara orbitaria del lóbulo frontal, tiene forma de gancho y atraviesa la ínsula por el limen (Martino & De Lucas).

El fascículo del cíngulo, pertenece al lóbulo límbico que conecta la región prefrontal medial (áreas paraolfatoria y terminal) con el complejo hipocampal y el giro parahipocampal (Shah *et al.*).

El objetivo del presente artículo, ha sido analizar las técnicas y métodos anatómicos de fijación y disección, que se utilizan con mayor frecuencia, para la demostración de tractos de asociación laterales y medial, en cerebros humanos y de animales.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una revisión de la literatura utilizando las siguientes bases de datos: Web of Science, Scopus, Pubmed, Medline y Scielo. Se utilizaron como descriptores: Disección, Cerebro, Tracto, con el operador booleano “and” entre ellos, en los idiomas inglés y español, hasta junio del 2018.

Se encontraron 236 artículos científicos, los cuales fueron sometidos a análisis bajo las consideraciones de los siguientes criterios de inclusión: que se haya realizado disección de tractos de asociación en cerebros de cadáveres humanos o animales; que refieran la técnica de fijación usada para la preservación de los cerebros; que describan la técnica de preparación de los cerebros para disección de tractos; que detallen el abordaje de los tractos y su identificación. Se excluyeron aquellos escritos científicos que contenían estudios experimentales, el abordaje neuroquirúrgico de alguna patología o solamente el estudio de tractos por tensor de difusión de imagen (DTI). La selección dio como resultado 44 documentos científicos. Fueron excluidos aquellos que solo referían revisiones bibliográficas y sistemáticas, como así también los artículos repetidos, quedando finalmente 26 documentos científicos para el desarrollo de este trabajo.

Para el efecto del análisis se determinaron las siguientes variables: espécimen, número de hemisferios cerebrales estudiados, concentración de formalina para la fijación, tiempo de fijación, concentración de formalina para congelamiento, temperatura de congelamiento, tiempo de congelamiento, inicio del procedimiento de disección, tractos identificados. Se establecieron frecuencias relativas respecto a las variables correspondientes susceptibles de medición.

## RESULTADOS

De los 26 documentos científicos revisados, el total de hemisferios cerebrales analizados fue de 410, de los cuales 372 eran de humanos (90,73 %), 10 de porcinos (2,43 %), 10 de caninos (2,43 %), 8 de bovinos (1,95 %), 6 de equinos (1,46 %), y 4 de felinos (0,98 %).

En cuanto a la concentración de formalina utilizada, 330 (80,49 %) hemisferios cerebrales estaban conservados en formalina al 10 %; 40 (9,76%) se habían conservado en formalina al 5 %; 20 (4,88 %) se guardaron en formalina al 9 %; 10 (2,43 %) se conservaron en formalina al 12 % y otros 10 (2,43 %) en formalina al 4 %. En la Tabla I se aprecia el tipo de cerebro con las características de la fijación y congelación para la disección de tractos.

Tabla I. Variables del método de fijación, conservación y preparación de los especímenes para la disección de tractos cerebrales de asociación, según autores.

Autor	Espécimen	Nº de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Baydin <i>et al.</i> (2017)	Humano	20	10 %	21	-16	15	Fascículo del cíngulo Fascículo uncinado Fascículo longitudinal inferior Fascículo longitudinal superior
De Benedictis <i>et al.</i> (2012)	Humano	10	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo uncinado
De Benedictis <i>et al.</i> (2014)	Humano	8	10 %	40	-15	15	Fibras cortas en U. Fascículo longitudinal superior Fascículo longitudinal inferior Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior
Ebeling & von Cramon (2010)	Humano	10	10 %	30	-10	30	Fascículo Arqueado Fascículo Uncinado Fascículo fronto-occipital inferior
Goryainov <i>et al.</i> (2017)	Humano	18	10 %	30	-20	8	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal inferior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo uncinado Fascículo longitudinal medio
Latini <i>et al.</i> (2017)	Humano	10	12 %	2	-20	8	Fascículo longitudinal superior
Maldonado <i>et al.</i> (2012)	Humano	10	10 %	90	-20	14	Fascículo longitudinal superior
Martino <i>et al.</i> (2010)	Humano	14	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo Arqueado Fascículo Uncinado Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal inferior
Martino <i>et al.</i> (2011)	Humano	30	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal inferior Fascículo uncinado
Martino <i>et al.</i> (2013b)	Humano	12	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior
Martino <i>et al.</i> (2013a)	Humano	4	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal medio Fascículo longitudinal inferior Fascículo fronto-occipital inferior
Pascalau & Szabo (2017)	Porcino	10	4 %	180	-20	14	Fibras cortas en U Fascículo del cíngulo Fascículo longitudinal superior Fascículo longitudinal inferior Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior
Pascalau <i>et al.</i> (2016)	Canino Equino Felino	Canino n:10 Equino n:6 Felino n:4	10 %	90	-15	14	Fascículo del cíngulo Fascículo uncinado Fascículo occipito frontal superior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal superior Fascículo longitudinal inferior
Pascalau <i>et al.</i> (2018)	Humano	20	9 %	90	-20	15	Fibras en U Fascículo del cíngulo Fascículo longitudinal superior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo Uncinado
Pérez <i>et al.</i> (2008)	Humano	30	5 % (n: 26) 10 % (n: 4)	30	-15(22) -40(4) No se congelaron(4)	8	Fascículo fronto-occipital superior Fascículo longitudinal superior y su Fascículo arqueado Fascículo longitudinal inferior Fascículo del cíngulo
Peuskens <i>et al.</i> (2004)	Humano	17	10 %	30	-12	30	Fascículo del cíngulo Fascículo uncinado con sus partes ventromedial y dorsolateral Fascículo fronto-occipital inferior
Ribas <i>et al.</i> (2015)	Humano	14	5 %	30	-10	8	Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior

Autor	Espécimen	Nº de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Sarubbo <i>et al.</i> (2013)	Humano	10	10 %	40	-15	15	Fibras cortas en U Fascículo longitudinal superior y su fascículo arqueado Fascículo fronto-occipital inferior
Shah <i>et al.</i> (2012)	Humano	10	10 %	30	-10	30	Fascículo del cíngulo
Silva & Andrade (2016)	Humano	8	10 %	30	-15	30	Fibras cortas en U Fascículo longitudinal superior. Fascículo uncinado Fascículo del cíngulo.
Türe <i>et al.</i> (2000)	Humano	40	10 %	2	-15	8	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior
Vergani <i>et al.</i> (2014)	Humano	3	10 %	3	-15	15	Fibras del stratum calcarinum Fibras del stratum proprium cunei Fibras del stratum verticalis convexitatis Fibras del stratum sagittale
Verhaeghe <i>et al.</i> (2017)	Humano	20	10 %	60	-10	30	Fibras cortas en U Fascículos longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo del cíngulo
Wu <i>et al.</i> (2016)	Humano	4	10 %	40	-16	15	Fibras cortas en U Fascículo longitudinal superior con todos sus componentes Fascículo arqueado Fascículo longitudinal medial Fascículo fronto-occipital inferior
Yagmurlo <i>et al.</i> (2015)	Humano	50	10 %	90	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal medio Fascículo longitudinal inferior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo uncinado
Yaman <i>et al.</i> (2014)	Bovino	8	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo uncinado Fascículo longitudinal inferior

## DISCUSIÓN

Según Klingler, el método original para la preparación de cerebros con fines de disección es el siguiente: después de la extracción del cerebro de un cadáver fresco, de manera prioritaria sobre cualquier otro procedimiento, debe suspenderse por la arteria basilar colocándose en 5 litros de formalina comercial, en una concentración al 5 % en agua destilada, por un periodo óptimo de 1 año o más. Antes de colocarse a congelación, el cerebro debe ser lavado en agua corriente durante varias horas. El proceso de congelación debe realizarse entre -8 °C y -10 °C, durante 8 días, luego de lo cual los autores recomiendan sumergir el cerebro en agua corriente para iniciar la disección. También se puede conservar en solución de formalina al 5 % (Ludwig & Klingler).

Una vez iniciado el proceso de disección es necesario conservar el material siempre húmedo sumergiéndolo en agua corriente o solución de formalina al 2 % entre cada sesión (Ludwig & Klingler). Una exitosa disección de tractos

cerebrales, requiere un conocimiento exhaustivo y preciso de la anatomía cerebral, tener mucha destreza con las manos, paciencia y constancia.

Klingler recomienda utilizar una pinza de acero de relojero con puntas muy finas, una espátula de madera fina, blanda y elástica. La utilización del escalpelo se restringe a retirar grandes fragmentos de tejido cerebral. Sugiere también utilizar lentes de aumento con lámpara y reflector frontal (Ludwig & Klingler).

Por otra parte, Ludwig & Klingler recomiendan recurrir contenedores para conservar las piezas diseccionadas; desde cubetas con formalina al 2 % o 3 %, montaje con catgut en placas de vidrio, en solución diluida de azúcar, la inclusión en plexiglás o la ejecución de vaciados.

En relación a los artículos revisados, Ribas *et al.*

(2015), utilizaron 14 hemisferios cerebrales humanos y aplicaron estrictamente la técnica de Klingler, excepto por la preservación de la pieza en alcohol al 70 %; Pérez *et al.*, utilizaron 26 hemisferios cerebrales humanos, siguieron la técnica de Klingler sumergiendo los especímenes en formalina al 5 % durante 30 días para luego ser congelados por 8 días a -15 °C; y Pascalau & Szabo (2017) sumergieron 10 hemisferios cerebrales porcinos en formalina al 4 %, durante 6 meses, y después estos fueron congelados a -20 °C durante 14 días, y utilizaron para ello formalina al 9 %, durante esta fase del proceso.

Según Klingler, la inmersión de los hemisferios cerebrales en una solución de formalina al 5 % permite que la fijación del tejido sea uniforme, de tal manera que estructuras como tractos y núcleos que se encuentran en la profundidad pueden ser fácilmente identificados y separados, cuando se someten después al proceso de congelación para su disección (Agrawal *et al.*).

Los trabajos de preparación de los cerebros realizados siguiendo estrictamente la técnica original de Klingler (Ludwig & Klingler) han permitido la identificación de estructuras profundas como las radiaciones ópticas, la cápsula interna, el tracto subcallosal, las partes del fascículo longitudinal superior y otros. Sin embargo, el 80 % de los hemisferios utilizados para la disección de tractos fueron sumergidos en formalina al 10 %, y en esta concentración, el tiempo de fijación varía entre 40 y 180 días con cerebros de porcino, canino, equino, felino y bovino (Pascalau *et al.*, 2016; Pascalau & Szabo; Yaman *et al.*, 2014), y con cerebros humanos desde 90 días (Vergani *et al.*, 2014), 60 días (Türe *et al.*; Verhaeghe *et al.*, 2017), 40 días (Martino *et al.*, 2010, 2011, 2013a,b; De Benedictis *et al.*, 2012, 2014; Sarubbo *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2016), 30 días (Ebeling & von Cramon, 1992; Peuskens *et al.*, 2004; Pérez *et al.*; Maldonado *et al.*; Shah *et al.*; Ribas *et al.*; Yagmurlu *et al.*, 2015; Silva & Andrade, 2016; Goryainov *et al.*, 2017; Pascalau *et al.*, 2018), 21 días (Baydin *et al.*, 2017) y 10 días (Latini *et al.*, 2017). En este último caso, se utilizó la técnica de perfusión carotídea de formalina al 12 % para la fijación cerebral, lo cual, según los autores, reduce el riesgo de deformación o alteración del cerebro al momento de la extracción.

En esta revisión encontramos que la temperatura de congelación variaba entre -10 °C y -20 °C para cerebros humanos, y entre -15 °C y -20 °C para cerebros de animales. Solo hubo un caso en donde 4 hemisferios cerebrales fueron congelados a -40 °C (Pérez *et al.*) lo cual, comparado con los cerebros congelados a -15 °C, no produce mayores cambios en el tejido, sino más bien dificultad para retirar la corteza cerebral y el aislamiento de los tractos. De igual mane-

ra, el tiempo de congelación varía entre 8 y 30 días; la utilización de 15 días es más frecuente en esta parte del proceso.

Con esta variedad de técnicas de fijación y congelamiento utilizadas, los autores han podido identificar, aislar, fotografiar y hasta conservar los hemisferios cerebrales, con los diferentes tractos cerebrales de asociación laterales y medial como son: los fascículos en U, el fascículo longitudinal superior con todas sus partes, el fascículo longitudinal inferior, el fascículo fronto-occipital inferior, el fascículo uncinado, y el fascículo del cíngulo.

**Limitaciones.** La diversidad en la concentración de formalina para la fijación de las hemisferios cerebrales, así como del tiempo y temperatura de congelamiento, por una parte, y la escasa información que proporcionan los investigadores en sus trabajos respecto a este aspecto, ha hecho muy difícil encontrar un patrón común que permita establecer una estandarización del método de conservación para la disección de tractos.

## CONCLUSIONES

La disección de tractos cerebrales constituye una importante herramienta para el aprendizaje de la sustancia blanca cerebral, sea esta realizada con fines didácticos en la enseñanza de la neuroanatomía o para la adquisición de destrezas neuroquirúrgicas; en cualquier caso, es imperativo que el espécimen esté en muy buenas condiciones, las técnicas utilizadas para preparar los hemisferios cerebrales sean las correctas y sobre todo exige un conocimiento profundo de la anatomía cerebral.

Al parecer, la concentración de formalina al 10 % para preservar los tejidos cerebrales es la más comúnmente utilizada, la cual no altera mayormente la identificación de los tractos, en relación a la concentración de formalina utilizada originalmente por Klingler para este propósito.

De igual manera, con temperatura y tiempo de congelación variables en los rangos estipulados en esta revisión, se logra buenos resultados para el aislamiento de los tractos.

---

**GUERRERO, M.; DEL SOL, M. & OTTONE, N. E.** Preparation of cerebral hemispheres for tracts dissection. *Int. J. Morphol.*, 37(2): 533-540, 2019.

**SUMMARY:** Since ancient times, techniques for the study of the brain have been developed for didactic or neurosurgical purposes. By 1934, Josef Klingler developed a cerebral hemisphere preparation technique based on formalin fixation and freezing to

isolate the cerebral tracts. The aim of this article was to analyze the preparation methods used for tracts dissection in human and animal brains. A review of the literature using Web of Science, Scopus, Pubmed, Medline and Scielo databases, with the following descriptors: Dissection, Brain, Tract, with the boolean operator "AND" among them, also in spanish, until June 2018. Twenty-six documents were selected, and we analyzed the following variables: specimen, number of cerebral hemispheres, formalin concentration, fixing time, temperature, freezing time and tracts. In the selected literature, a total of 410 cerebral hemispheres were analyzed, 372 from humans and 38 from animals; 330 were preserved in 10 % formalin, 20 in 5 % formalin and the rest in other concentrations. The fixation time was variable between 10 and 180 days, as well as the temperature and freezing time (-10 °C and -20 °C, between 8 and 30 days). In all cases it was reported that, in whole or in part, the cerebral fascicles of association were isolated. In the preparation of cerebral hemispheres for dissection of tracts, Klingler recommend that 5 % formalin for the fixation of specimens; however, 80 % of the hemispheres used were fixed in 10 % formalin, and in this concentration, the time of fixation, temperature and time of freezing was variable, achieving, in all the cases analyzed, the partial or total dissection of the tracts.

**KEY WORDS: Brain; Dissection of cerebral tracts; Fixation; Formalin; Freezing.**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, A.; Kapfhammer, J. P.; Kress, A.; Wichers, H.; Deep, A.; Feindel, W.; Sonntag, V. K.; Spetzler, R. F. & Preul, M. C. Josef Klingler's models of white matter tracts: influences on neuroanatomy, neurosurgery, and neuroimaging. *Neurosurgery*, 69(2):238-54, 2011.
- Ashtari, M. Anatomy and functional role of the inferior longitudinal fasciculus: a search that has just begun. *Dev. Med. Child Neurol.*, 54(1):6-7, 2012.
- Baydin, S.; Gungor, A.; Tanriover, N.; Baran, O.; Middlebrooks, E. H. & Rhoton, A. L. Jr. Fiber tracts of the medial and inferior surfaces of the cerebrum. *World Neurosurg.*, 98:34-49, 2017.
- Catani, M.; Jones, D. K.; Donato, R. & Ffytche, D. H. Occipito-temporal connections in the human brain. *Brain*, 126(Pt. 9):2093-107, 2003.
- Celesia, G. G. Alcmaeon of Croton's observations on health, brain, mind, and soul. *J. Hist. Neurosci.*, 21(4):409-26, 2012.
- Ciccarelli, O.; Catani, M.; Johansen-Berg, H.; Clark, C. & Thompson, A. Diffusion-based tractography in neurological disorders: concepts, applications, and future developments. *Lancet Neurol.*, 7(8):715-27, 2008.
- De Benedictis, A.; Duffau, H.; Paradiso, B.; Grandi, E.; Balbi, S.; Granieri, E.; Colarusso, E.; Chioffi, F.; Marras, C. E. & Sarubbo, S. Anatomic-functional study of the temporo-parieto-occipital region: dissection, tractographic and brain mapping evidence from a neurosurgical perspective. *J. Anat.*, 225(2):132-51, 2014.
- De Benedictis, A.; Sarubbo, S. & Duffau, H. Subcortical surgical anatomy of the lateral frontal region: human white matter dissection and correlations with functional insights provided by intraoperative direct brain stimulation: laboratory investigation. *J. Neurosurg.*, 117(6):1053-69, 2012.
- Duque Parra, J. E.; Barco Ríos, J. & Duque Quintero, V. Historic view of the structure and function of the nerve. Pregalenic and Galenic view. *Int. J. Morphol.*, 32(3):987-90, 2014a.
- Duque Parra, J. E.; Barco Ríos, J. & Morales Parra, G. In vivo dissection (vivisection): a historical viewpoint. *Int. J. Morphol.*, 32(1):101-5, 2014b.
- Ebeling, U. & von Cramon, D. Topography of the uncinate fascicle and adjacent temporal fiber tracts. *Acta Neurochir. (Wien)*, 115(3-4):143-8, 1992.
- Fernández-Miranda, J. C.; Rhoton, A. L. Jr.; Alvarez-Linera, J.; Kakizawa, Y.; Choi, C. & de Oliveira, E. P. Three-dimensional microsurgical and tractographic anatomy of the white matter of the human brain. *Neurosurgery*, 62(6 Suppl. 3):989-1026, 2008.
- Forkel, S. J.; Thiebaut de Schotten, M.; Kawadler, J. M.; Dell'Acqua, F.; Danek, A. & Catani, M. The anatomy of fronto-occipital connections from early blunt dissections to contemporary tractography. *Cortex*, 56:73-84, 2014.
- García-Porrero, J. A. & Hurlé, J. *Neuroanatomía Humana*. Madrid, Médica Panamericana, 2015.
- Geneser, F.; Brüel, A.; Christensen, E. I.; Trandum-Jensen, J. & Qvortrup, K. *Geneser Histología*. 4ª ed. Ciudad de México, Médica Panamericana, 2015.
- Goryainov, S. A.; Kondrashov, A. V.; Goldberg, M. F.; Batalov, A. I.; Sufianov, R. A.; Zakharaova, N. E.; Pronin, I. N.; Gol'bin, D. A.; Zhukov, V. Y.; Dobrovolsky, G. F.; Shelyakin, S. Y.; Vorob'ev, V. N.; Dadykin, S. S. & Potapov, A. A. Long association tracts of the human white matter: an analysis of 18 hemisphere dissections and in vivo HARDI-CSD tractography. *Zh. Vopr. Neurokhir. Im. N. N. Burdenko*, 81(1):13-25, 2017.
- Guillery, R. W. Brodmann's 'Localisation in the Cerebral Cortex'. *J. Anat.*, 196(Pt. 3):493-6, 2000.
- Latini, F.; Mårtensson, J.; Larsson, E. M.; Fredrikson, M.; Åhs, F.; Hjortberg, M.; Aldskogius, H. & Ryttefors, M. Segmentation of the inferior longitudinal fasciculus in the human brain: A white matter dissection and diffusion tensor tractography study. *Brain Res.*, 1675:102-15, 2017.
- Ludwig, E. & Klingler, J. *Atlas Cerebri Humani*. Basel, Buchdruckerei Friedrich Reinhardt A. G., 1956.
- Makris, N.; Kennedy, D. N.; McInerney, S.; Sorensen, A. G.; Wang, R.; Caviness, V. S. Jr. & Pandya, D. N. Segmentation of subcomponents within the superior longitudinal fascicle in humans: a quantitative, in vivo, DT-MRI study. *Cereb. Cortex*, 15(6):854-69, 2005.
- Maldonado, I. L.; Mandonnet, E. & Duffau, H. Dorsal fronto-parietal connections of the human brain: a fiber dissection study of their composition and anatomical relationships. *Anat. Rec. (Hoboken)*, 295(2):187-95, 2012.
- Martino, J. & De Lucas, E. M. Subcortical anatomy of the lateral association fascicles of the brain: A review. *Clin. Anat.*, 27(4):563-9, 2014.
- Martino, J.; Brogna, C.; Robles, S. G.; Vergani, F. & Duffau, H. Anatomic dissection of the inferior fronto-occipital fasciculus revisited in the lights of brain stimulation data. *Cortex*, 46(5):691-9, 2010.
- Martino, J.; da Silva-Freitas, R.; Caballero, H.; Marco de Lucas, E.; García-Porrero, J. A. & Vázquez-Barquero, A. Fiber dissection and diffusion tensor imaging tractography study of the temporoparietal fiber intersection area. *Neurosurgery*, 72(1 Suppl. Operative):87-97, 2013a.
- Martino, J.; De Witt Hamer, P. C.; Berger, M. S.; Lawton, M. T.; Arnold, C. M.; de Lucas, E. M. & Duffau, H. Analysis of the subcomponents and cortical terminations of the perisylvian superior longitudinal fasciculus: a fiber dissection and DTI tractography study. *Brain Struct. Funct.*, 218(1):105-21, 2013b.
- Martino, J.; De Witt Hamer, P. C.; Vergani, F.; Brogna, C.; de Lucas, E. M.; Vázquez-Barquero, A.; García-Porrero, J. A. & Duffau, H. Cortex-sparing fiber dissection: an improved method for the study of white matter anatomy in the human brain. *J. Anat.*, 219(4):531-41, 2011.
- Ortibus, E.; Verhoeven, J.; Sunaert, S.; Casteels, I.; de Cock, P. & Lagae, L. Integrity of the inferior longitudinal fasciculus and impaired object recognition in children: a diffusion tensor imaging study. *Dev. Med. Child Neurol.*, 54(1):38-43, 2012.
- Pascalau, R. & Szabo, B. Fibre dissection and sectional study of the major porcine cerebral white matter tracts. *Anat. Histol. Embryol.* 46(4):378-90, 2017.

- Pascalau, R.; Aldea, C. C.; Padurean, V. A. & Szabo, B. Comparative study of the major white matter tracts anatomy in equine, feline and canine brains by use of the fibre dissection technique. *Anat. Histol. Embryol.*, 45(5):373-85, 2016.
- Pascalau, R.; Popa Staˆnilaˆ, R.; Sfrângeu, S. & Szabo, B. Anatomy of the limbic white matter tracts as revealed by fiber dissection and tractography. *World Neurosurg.*, 113:e672-89, 2018.
- Pérez, C. J. C.; Gallegos, S. S. P.; Garduño, P. P.; Reyes, S. G.; Valderrama, G. M. R.; Herrera, V. I.; Arteaga, M. S. M.; Herrera, S. P. & Delgado, R. L. Estandarización del método Klingler y su visualización tridimensional. *Rev. Hosp. Juárez Méx.*, 75(2):99-108, 2008.
- Peuskens, D.; van Loon, J.; Van Calenbergh, F.; van den Bergh, R.; Goffin, J. & Plets, C. Anatomy of the anterior temporal lobe and the frontotemporal region demonstrated by fiber dissection. *Neurosurgery*, 55(5):1174-84, 2004.
- Ribas, E. C.; Yagmurlu, K.; Wen, H. T. & Rhoton, A. L. Jr. Microsurgical anatomy of the inferior limiting insular sulcus and the temporal stem. *J. Neurosurg.*, 122(6):1263-73, 2015.
- Romero Reverón, R. Erasistratus of Ceos (310-250 A.C.). Pioneer of the anatomical studies. *Int. J. Morphol.*, 26(4):823-4, 2008.
- Romero Reverón, R. Herophilus, Vesalius y Vargas: Aspectos históricos en la disección anatómica humana. *Rev. Soc. Venez. Hist. Med.*, 59(1-2):60-3, 2010.
- Romero, R. R. Andreas Vesalius (1514-1564). Andreas Vesalius (1514-1564). Founder of the modern human anatomy. *Int. J. Morphol.*, 25(4):847-50, 2007.
- Sarubbo, S.; De Benedictis, A.; Maldonado, I. L.; Basso, G. & Duffau, H. Frontal terminations for the inferior fronto-occipital fascicle: anatomical dissection, DTI study and functional considerations on a multi-component bundle. *Brain Struct. Funct.*, 218(1):21-37, 2013.
- Schmahmann, J. D.; Smith, E. E.; Eichler, F. S. & Filley, C. M. Cerebral white matter: neuroanatomy, clinical neurology, and neurobehavioral correlates. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1142:266-309, 2008.
- Shah, A.; Jhavar, S. S. & Goel, A. Analysis of the anatomy of the Papez circuit and adjoining limbic system by fiber dissection techniques. *J. Clin. Neurosci.*, 19(2):289-98, 2012.
- Silva, S. M. & Andrade, J. P. Neuroanatomy: The added value of the Klingler method. *Ann. Anat.*, 208:187-93, 2016.
- Stagnaro, J. C. Los aportes de Johann Christian Reil al nacimiento de la psiquiatría. *Asclepio*, 67(2):p108, 2015.
- Standing, S. (Ed.). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 41<sup>st</sup> ed. Edinburgh, Elsevier Health Sciences, 2016.
- Türe, U.; Yasargil, M. G.; Friedman, A. H. & Al-Mefty, O. Fiber dissection technique: lateral aspect of the brain. *Neurosurgery*, 47(2):417-26, 2000.
- Vergani, F.; Mahmood, S.; Morris, C. M.; Mitchell, P. & Forkel, S. J. Intralobar fibres of the occipital lobe: a post mortem dissection study. *Cortex*, 56:145-56, 2014.
- Verhaeghe, A.; Decramer, T.; Naets, W.; Van Paesschen, W.; van Loon, J. & Theys, T. Posterior quadrant disconnection: a fiber dissection study. *Oper. Neurosurg. (Hagerstown)*, 14(1):45-50, 2017.
- Wu, Y.; Sun, D.; Wang, Y.; Wang, Y. & Wang, Y. Tracing short connections of the temporo-parieto-occipital region in the human brain using diffusion spectrum imaging and fiber dissection. *Brain Res.*, 1646:152-9, 2016.
- Yagmurlu, K.; Vlasak, A. L. & Rhoton, A. L. Jr. Three-dimensional topographic fiber tract anatomy of the cerebrum. *Neurosurgery*, 11 Suppl. 2:274-305, 2015.
- Yaman, M. E.; Izdes, M.; Sentürk, S.; Ozturk, Y. & Kazanci, A. Fiber dissection training model for neurosurgical practice: white matter fiber dissection with Klingler's technique in bovine brain. *J. Neurol. Sci.*, 31(4):783-9, 2014.
- Zemmoura, I.; Blanchard, E.; Raynal, P. I.; Rousselot-Denis, C.; Destrieux, C. & Velut, S. How Klingler's dissection permits exploration of brain structural connectivity? An electron microscopy study of human white matter. *Brain Struct. Funct.*, 221(5):2477-86, 2016.

Dirección para correspondencia:  
 Dr. Nicolás Ernesto Ottone  
 Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas  
 Facultad de Odontología (CICO)  
 Universidad de La Frontera  
 Temuco  
 CHILE

E-mail: nicolas.ottone@ufrontera.cl

Recibido : 10-09-2018

Aceptado: 02-01-2019