

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



\* 5 3 0 9 5 7 8 3 9 2 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

DESARROLLO POSTNATAL DE LA ASTROGLIA  
MEDULAR EN RATON BLANCO  
"APODEMUS APODEMUS"

Tesis que para optar al grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas  
presenta D. Arsenio LAZARO GARCIA

MADRID, JULIO 1991

*Milicio J. J. J. J.*  
*LA*



ARSENIO LAZARO GARCIA

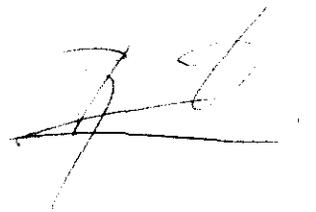
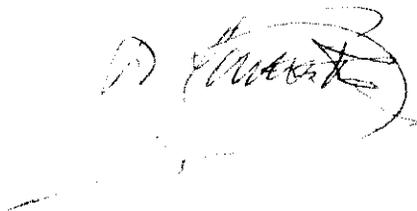
D. Alfredo CARRATO IBAÑEZ, Profesor Emérito y Catedrático del Departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid

Y

D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ, Catedrático del Departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN: que la Tesis Doctoral que lleva por título DESARROLLO POSTNATAL DE LA ASTROGLIA MEDULAR EN RATON BLANCO "APODEMUS APODEMUS", de la que es autor D. Arsenio LAZARO GARCIA, ha sido realizada bajo nuestra dirección, en el DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid.

Los directores



Madrid, 30 de Julio, 1991

Le dedico "ESTE LIBRO" a mi hija Gloria

**A Gloria.**

**A mi padre y hermanos.**

## AGRADECIMIENTOS

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento especialmente al Prof. Dr. D. Benjamín Fernández Ruíz, director de esta tesis doctoral. Maestro y a la vez amigo. A él le debo la realización de este trabajo.

También deseo expresar mi agradecimiento especialmente al Prof. Dr. D. Alfredo Carrato Ibáñez, del que continuamente recibo inolvidables lecciones científicas y humanas; y cuya inestimable codirección, estímulo y ayuda ha hecho posible la consecución de este trabajo.

A la Prof. Dra. D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Teresa Solas Alados, profesora titular del Departamento de Biología Celular, por su amistad y dedicación a que esta tesis sea una realidad.

Al Prof. Dr. D. Agustín Zapata González, director del Departamento de Biología Celular, por las facilidades obtenidas en el Departamento para realizar este trabajo y su desinteresada ayuda humana.

A la Prof. Dra. D<sup>a</sup> Isabel Suárez Nájera, profesora titular del Departamento de Biología Celular y Genética de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Alcalá de Henares, a quien debo útiles sugerencias y correcciones en la realización de este trabajo.

A la Prof. Dra. D<sup>a</sup> Marimela Bullón, profesora titular del Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, por su enseñanza y orientación sobre las técnicas inmunocitoquímicas de este trabajo.

A D. Agustín Fernández Larios, Técnico del Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad Complutense, por su amistad y continua ayuda en las técnicas histológicas y de Microscopía Electrónica.

A todos mis compañeros y amigos del Departamento de Biología Celular, que siempre de una u otra manera me han prestado su ayuda, especialmente los Doctores, Lourdes Jimenez, Marta Torroba, Elvira Garrido, Marcelino Bañuelos y Amparo Landete.

A mis antiguos compañeros de laboratorio D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Teresa López Herrero y José M<sup>a</sup> Cuesta; y a Elisa León, Mercedes Hernández y Marga Nieto por su incondicional amistad.

A Pepa de Cos García, por su ayuda y comprensión al mecanografiar este trabajo.

A todos los becarios y personal auxiliar con los que he tenidos la gran suerte de convivir durante mi estancia en el Departamento.

Al Vicerrectorado de Investigación cuya beca ha hecho menos gravosa la realización de esta tesis.

Al Centro de Microscopia Electrónica de la Universidad Complutense de Madrid por su desinteresado ayuda en la realización de este trabajo.

A Gloria, a ti te agradezco sobre todo, el haber soportado esta tesis.

## ABREVIATURAS

a.	=	astrocito
a.e.	=	astrocito periependimario
a.g.	=	astrocito gemelo
a.i.	=	astrocito interneuronal
a.n.	=	astrocito perineuronal
a.n.s.	=	astrocito perineuronal satélite
a.v.	=	astrocito perivascular
a.v.s.	=	astrocito perivascular satélite
c.	=	cilio
c.d.	=	cuerpo denso
c.e.	=	célula endotelial
c.g.	=	comisura gris
C.P.	=	Cordón Posterior
d.	=	desmosoma
e.	=	ependimocitos
E.	=	Epéndimo
E.M.L.	=	Espacio Maginal de Lissauer
f.	=	gliofibrillas
F.M.	=	Fisura Media
g.	=	glucógeno
G.	=	Golgi
h.	=	hematie
h.f.	=	haz de gliofibrillas
L.	=	laminillas astrocitarias
l.g.	=	limitante glial
l.	=	leptomeninges
m.	=	mitocondria
m.b.	=	membrana basal
m.p.	=	membrana plasmática
m.t.	=	microtúbulo
n.	=	neurona
N.S.C.	=	Núcleo de Stilling-Clarke
n.u.	=	núcleo
N.W.	=	Núcleo de Waldeyer
n.t.	=	neurotúbulo
o.	=	oligodendrocito
p.	=	pericito
p.a.	=	prolongación astrocitaria
p.ch.	=	pie chupador
p.e.	=	prolongación endimaria
p.e.l.	=	prolongación endimaria laminar
p.e.t.	=	prolongación endimaria triangular
p.n.	=	poro nuclear

r.	=	ribosoma
r.e.r.	=	retículo endoplásmico rugoso
s.a.	=	soma astrocitario
S.B.	=	Sustancia Blanca
S.G.	=	Sustancia Gris
S.G.R.	=	Sustancia Gelatinosa de Rolando
S.P.	=	Surco Paramedular
S.M.D.	=	Surco Medio Dorsal
T.	=	Tanicito
v.	=	vaso sanguíneo

## INDICE

	<u>Págs.</u>
 <u>INTRODUCCION</u>	
I. Antecedentes históricos y caracteres estructurales de la neuroglía .....	1
II. Proteína Gliofibrillar ácida .....	15
III. Concepto y Estructura básica de la médula cervical .....	17
IV. Justificación del Trabajo .....	20
 MATERIAL Y METODOS .....	 21
I. Microscopía Optica .....	22
II. Inmunotinción para la G.F.A.P. ....	23
III. Microscopía Electrónica .....	29
 RESULTADOS OBTENIDOS	
I. En Microscopía óptica .....	31
A. Sustancia Gris .....	35
<u>Astas ventrales</u> .....	36
Núcleo medial .....	36
Núcleo ventral .....	38
Núcleo lateral .....	39
<u>Astas laterales</u> .....	41
Núcleo latero ventral .....	41
Núcleo lateral intermedio .....	42
Núcleo latero dorsal .....	42
<u>Astas dorsales</u> .....	43
Núcleo de Stilling-Clarke .....	43
Núcleo Propio .....	44
Sustancia gelatinosa de Rolando .....	44
Núcleo de Waldeyer .....	45
Zona marginal de Lissauer .....	45

B.	Epéndimo y Areas periependimarias .....	45
C.	Sustancia Blanca .....	49
	Zona Ventral	
	Limitante Subpial .....	50
	Fisura Media Ventral .....	53
	Zonas Laterales	
	Zona lateral limitante (franja subpial externa) .....	56
	Zona lateral que contacta con sustancia gris .....	57
	Zona lateral media .....	58
	Zona Dorsal	
	Zona limitante dorsal (astas dorsales).	59
	Surco medio dorsal .....	60
	Surcos paramedulares o intermedios ....	60
	Haz de Goll .....	60
	Haz de Burdach .....	60
II.	Cronología de la aparición de la G.F.A.P. en los estadios postnatales del ratón .....	62
	Estadio 0 .....	62
	Estadio 1 .....	65
	Estadio 2 .....	68
	Estadio 3 .....	73
	Estadio 4 .....	76
	Estadio 5 .....	78
	Estadio 6 .....	82
	Estadio 7 .....	85
III	En Microscopía electrónica .....	89
A.	Astrocitos y prolongaciones con gliofilamentos .....	90
	Astrocitos perivascuales .....	91
	Oligodendrocitos y mielina .....	91
	Laminillas astrocitarias .....	92
	DISCUSION .....	94
	CONCLUSIONES .....	118
	BIBLIOGRAFIA .....	121

## INTRODUCCION

## ANTECEDENTES HISTORICOS Y CARACTERES ESTRUCTURALES DE LA NEUROGLIA

Virchow (1846) definió la neuroglía como el conjunto de células de tejido conjuntivo especial, de origen ectodérmico, emigrado entre los elementos nerviosos . En 1858 le dio el nombre de Kitt-nerven-substanze, diciendo que este material intersticial tenía forma estrellada, y era muy difícil su distinción de las fibras nerviosas, al mismo tiempo que se interpone entre el tejido nervioso y los vasos sanguíneos.

Arnold (1844), Wagner (1854), Golgi (1855) Bidder (1857), Shultze y Kölliker (1867), y Henle (1868) al igual que Virchow (1858), también afirman con mayor o menor coincidencia, que entre los elementos nerviosos, existe una sustancia fundamental y que esta era tejido conjuntivo especial, siendo sus células muy parecidas a las del tejido conjuntivo laxo.

En (1863) Kölliker, afirma que la trama fibrillar de la sustancia gris y blanca de los centros nerviosos, es una red formada por entrecruzamientos de las expansiones fibrillares de las células de neuroglía; ésta hipótesis también la ratifica Golgi en (1886). Sin embargo, fue Deiters (1865) el que califica a la neuroglía como conjunto de células en forma de araña (spinnzelle), para hacer referencia a sus múltiples prolongaciones.

Otros como Kölliker (1880), Retzius (1893), Andriezen (1893) y Weigert (1895), distinguen varios tipos celulares en la neuroglía, como corpúsculos de radiaciones largas, cortas o ausentes. Ranvier (1893) afirma que estos radios no tienen ni principio ni fin y se continúan unos con otros, no siendo el cuerpo celular su lugar de origen, sino el punto donde se entrecruzan fibras que llegan de distintas partes. También, Weigert (1895), confirma esta teoría.

Sin embargo, Golgi (1895), Cajal (1897) y Martinotti (1899), afirman que las fibras de neuroglía convergen hacia el soma o cuerpo, con su núcleo y citoplasma perinuclear. Estas fibras tienen terminaciones libres, siendo con el

cuerpo celular neuróglíco, una unidad celular concreta. Cajal a partir de (1899), llama indistintamente a estos elementos, células de glía o de Deiters.

Han sido fundamentalmente importantes los trabajos, de Cajal (1913), Achucarro (1915) y Río Hortega (1918), que gracias al empleo de métodos nuevos de impregnación argéntica, posibilitaron una clasificación histológica muy precisa y útil en cuanto a la estructura global del sistema nervioso, tanto central como periférico, así como en lo referente al componente glial.

Cajal, con su método al oro-sublimado, (1913, b, 1916) clasificó a las células de neuroglía según la clase de tejido nervioso donde se encontraban ya que modifican su morfología adaptándose a esta circunstancia, de este modo distinguió, para la sustancia blanca cuatro tipos diferentes:

- 1º) estrellado,
- 2º) aplanado o perivascular (ya descrito por Andriezen en 1893),
- 3º) bifasciculado,
- 4º) unifasciculado, (ya descrito por Martinetti en 1889).

En la sustancia gris, encuentra una gran diferencia respecto a las de la sustancia blanca, distinguiendo siete tipos celulares:

- 1º) perivasculares,
- 2º) células estrelladas independientes,
- 3º) pediculadas,
- 4º) cometarias,
- 5º) en horquilla,
- 6º) perineurocitarias,
- 7º) células de neuroglía mixta.

Cajal mismo, resumió todos estos tipos en dos: la neuroglía de la sustancia blanca y la neuroglía de la sustancia gris. En la sustancia blanca las prolongaciones son largas y delgadas, terminando a bastante distancia del soma celular; las de la sustancia gris son de cortas radiaciones, muy ramificadas y muy abundantes. Poco después distinguió Cajal, una nueva estirpe de células gliales que en conjunto constituyeron el llamado "tercer elemento" o

componente apolar de los centros nerviosos, en el que solo se tenía el núcleo y una pequeña banda de citoplasma.

Estudiando este componente apolar de Cajal, Río Hortega (1921) distinguió dos variantes fundamentales: 1º) una que corresponde a la mesoglia o células que Robertson (1900), había teñido con cloruro de platino y las había denominado células de microglía de origen mesodérmico. Esta estirpe tiene una función fagocítica y defensiva de los centros nerviosos. También pueden corresponder a la descritas por Nissl (1899), como células en bastoncillo, encontradas en la parálisis general progresiva y que Río Hortega las interpretó como microglía patológica. 2º) Oligodendroglía, Río Hortega (1921), es el tipo celular que difiere de las de astroglía, por presentar un núcleo denso, citoplasma escaso, ausencia de fibrillas y escasas prolongaciones.

En la actualidad, las técnicas de impregnación metálica de Cajal y Río Hortega siguen siendo válidas para distinguir con detalle los diferentes tipos celulares ya reseñados y han hecho posible el desarrollo de la síntesis clasificatoria siguiente:

**NEUROGLIA  
DE ORIGEN  
ECTODERMICO**

**\* En el Sistema Nervioso Central**

- Glía Angiotropa: Astrocitos Fibrosos  
Astrocitos Protoplásmicos
  
- Glía Ependimaria: Ependimocitos  
Tanicitos  
Glial radial (Limitante externa)  
Rakic, 1982
  
- Glía Neurotrópica: Oligodendrocitos  
interfasciculares  
Oligodendrocitos perineuronales  
o satélites.
  
- Glía Especiales: Células Bergmann, en horquilla  
(cerebelo)  
Células de Fañanás (Cerebelo)  
Células de Müller (Retina)  
Pituicitos, (Neurohipófisis)

**\* En el Sistema Nervioso Periférico**

- Células satélites que rodean las neuronas ganglionares
- Células Schwann, (homólogas a los oligodendrocitos del Sistema Nervioso Central)
- Teloglía. En las terminaciones nerviosas periféricas.

**NEUROGLIA**

**DE ORIGEN**

**MESODERMICO**

- \* Microglía**

Para nuestro trabajo nos vamos a centrar en el estudio de la astrología principalmente, si bien de manera colateral consideraremos otros componentes gliales.

Son muchas las diversas clases de astrocitos que se han propuesto a lo largo de los años, pero no se ha podido determinar si representan realmente distintos tipos celulares, o son formas transicionales correspondientes a distintos estadios de maduración o diversas expresiones de una célula de gran plasticidad y capacidad de adaptación a los distintos territorios del Sistema Nervioso, Rakic (1982). Así por ejemplo, la llamada glía radial, por las relaciones que establece con la superficie subpial es hoy considerada como subcategoría de los astrocitos fibrosos, Schmeckel y Rakic (1973, 1979a, 1979b), Choi y Lapham (1978, 1980), Choi (1981).

Con la técnica del oro-sublimado de Cajal (1913) se puso en evidencia que el soma de los astrocitos es asteriforme, con un núcleo esferoidal o ligeramente ovoide, claro y pobre en cromatina, con un diámetro que oscila entre cuatro y seis  $\mu$ . Las prolongaciones citoplasmáticas alcanzan entre las veinte y las cincuenta  $\mu$ . de longitud; que salen del cuerpo celular en disposición radial dando a la célula un aspecto aracniforme.

Este tipo celular es fácilmente alterable, y en un principio se pensó, con preparaciones pobremente fijadas, que su citoplasma era acuoso, hasta que con tejidos bien fijados de material normal, se comprobó que no es así, sino que sus mitocondrias estaban con un grado de turgencia hidrópica que las hacía desintegrarse por estallido. En material bien fijado las organelas están normalmente distribuidas por todo el citoplasma, como en células de otros tejidos, Mugnaini y Walberg (1964), Kruger y Maxwell (1967), Vaughn y Peters (1967, 1971), Palay y Chan-Palay (1974).

También se observó en las expansiones y estructuras somáticas en torno al núcleo de los astrocitos fibrosos unas gliofibrillas dispuestas longitudinalmente, dándoles el significado de estructuras esqueléticas citoplásmicas específicas de estas células, observables con microscopio óptico.

Con M.E. se han observado también en el seno del citoplasma, gliofilamentos de 8 nm. de diámetro frecuentemente asociados a microtúbulos, granos de glucógeno, un número moderado de mitocondrias y de cisternas del retículo endoplásmico rugoso, un aparato de Golgi poco desarrollado, lisosomas primarios y secundarios, así como cuerpos residuales (granos de lípofuscina), análogos a los de las neuronas. Peters A., Palay S.L., Webster H.F., (1976), Varon y Somjen (1979), Polak y cols, (1982).

Las membranas de las prolongaciones citoplasmáticas de un astrocito con astrocitos vecinos desarrollan uniones intercelulares (uniones estrechas o maculae adherens). Estas uniones son compatibles con el paso de sustancias al muy sutil espacio intercelular y corresponden de hecho a zonas de acoplamiento electrofisiológico. Brightman y Reese (1969). Las prolongaciones de los astrocitos y las neuronas están separadas por un espacio intercelular muy estrecho, de un espesor alrededor de más, menos 12 nm.

Este espacio contiene una sustancia polianiónica muy poco densa a la radiación electrónica; se trata probablemente de un mucopolisacárido ácido (Landis y Reese 1974a)

Además de las típicas prolongaciones somáticas astrocitarias, en estudios con M.E. se encontraron otros

sistemas complejos de expansiones laminares más finas, que no contienen en su interior orgánulos citoplásmicos y constituyen expansiones muy sutiles de la propia membrana astrocitaria, estas fueron denominadas lamelas astrocitarias Palay (1965), Wolff (1965), Chan-Palay., Palay (1972), Güldner., Wolff, (1973), Meininger., Dadoune (1975)., Gayoso y cols. (1977), Wolff (1965, 1968, 1970). Estas estructuras posteriormente fueron estudiadas en hipotálamo de hamster, Fernández B. y cols. (1978, 1980), Suárez, I. y cols. (1980), Fernández B. y cols. (1984).

Cada capilar está separado del componente neuronal del tejido nervioso por un componente glial que se denomina "pies vasculares". Las membranas plasmáticas de los astrocitos y las células endoteliales están separadas por un espacio de 40 a 100 nm., de espesor; este espacio está recorrido por la lámina basal perivascular. Las membranas de los pies de los astrocitos están unidas por uniones estrechas; pero el espacio intercelular es permeable y deja pasar sustancias que han conseguido atravesar el endotelio vascular. Stensaas y Stensaas (1968) Schonbach. (1969).

Los astrocitos fibrosos a M.E. tienen un núcleo arriñonado o irregular mostrando en el contorno nuclear algunos pliegues. Su nucleosoma es de baja densidad y pueden existir algunos acúmulos de cromatina en posición adyacente a la membrana nuclear interna. También se puede observar ocasionalmente algún nucleolo. En su citoplasma se encuentra un retículo endoplásmico rugoso, que tiene un pequeño número de cisternas y estas son más cortas de lo normal, estando en contacto con un gran número de ribosomas, pero también algunos de estos ribosomas se encuentran libres y han podido ser visualizados en la superficie citoplasmática adosados a la membrana nuclear externa.

El aparato de Golgi suele concentrarse en zonas citoplásmicas de las que no parte ninguna prolongación; sus dictiosomas contienen pocas cisternas apiladas. Los lisosomas fueron primero visualizados como cuerpos densos homogéneos, pero posteriormente Mugnaini y Walberg (1964) demostraron que eran heterogéneos Holtzman y cols. (1973), establecieron las distintas variantes y estructuras de lisosomas.

Gránulos de glucógeno de 20 a 40 nm., se encuentran libremente distribuidos por todo el citoplasma. Son muy difíciles de fijar, y en principio se pensó que solo se encontraban en los pies vasculares; la perfusión del fijador llega a los pies vasculares antes que al resto de los somas astrocitarios. El tipo de anestésico utilizado influye en el número de gránulos. Los barbitúricos, p. ej. Phelps. (1972), preservan la desintegración de gránulo, efecto que así mismo se manifiesta con el empleo de drogas depresivas, radiaciones X, hipotermia e hibernación.

Las mitocondrias son alargadas y con gránulos densos en su matriz. Se distribuyen al azar, excepto en las prolongaciones citoplásmicas donde suelen orientarse en paralelo con los gliofilamentos.

Mugnaini y Walberg. (1964), afirman que tienen la misma distribución que los gliosomas, conclusión que ya fue intuida anteriormente por Fieandt. y Negeotte (1910). Han sido muchos los estudiosos de las mitocondrias en estas células; Szabo, (1965), describe su estructura interna en anfibios; Donelli., D'uva, Paoletti, (1975) en reptiles; Morales y Duncan (1971) en gato y hamster; Fernández B. Suárez, I. y Gianonatti, C. (1983) en hamster; y Hashimoto (1969), también en gato.

Los microtúbulos son, según Vaughn y Peters (1967) muy abundantes en el citoplasma de animales de poca edad; pero a medida que se hacen adultos son en gran parte sustituidos por los típicos filamentos gliales ausentes hasta el nacimiento.

También los astrocitos protoplásmicos; a M.E. tienen un núcleo redondo, a veces algo ovalado, con un contenido interno homogéneo y medianamente denso, con cromatina granulosa. Su citoplasma es muy claro, tanto en el cuerpo celular como en las prolongaciones y contiene un retículo endoplásmico con pocas cisternas, pocos ribosomas libres, gránulos de glucógeno, mitocondrias y microtúbulos.

Estos astrocitos son típicos de la sustancia gris, pero también forman pies vasculares y participan en la formación de la glía limitante, Suárez I., Fernández B. (1982).

Río Hortega (1919), con su método del carbonato de plata, clasificó en tres tipos los astrocitos protoplásmicos:

12) los que están en contacto con las células nerviosas, o satélites neuronales, caracterizados por su relación íntima con los somas y dendritas neuronales, sin relación alguna con los vasos;

22) un tipo intermedio;

32) un tipo en íntimo contacto con los vasos. Otro tipo nuevo de astrocitos fue el encontrado por, Palay y Chan-Palay (1974), en un estudio ultraestructural del cerebelo, los denominados astrocitos velados, con prolongaciones extremadamente finas y largas.

Otra variedad astrocitaria existente en la médula, es la Neuroglia Epitelial o Ependimaria; estas células se asocian formando una capa epitelial neuróglia, monocelular, que reviste la pared de las cavidades ependimarias del neuroeje, tanto conductos ependimarios como cavidades ventriculares; tapizan también las telas coroideas formando parte de la estructura de los plexos coroideos.

A lo largo de la embriogénesis la glía ependimaria tiene en su inicio células pluripotentes, más tarde se definen dos estirpes, neuroblásticas y espongioblástica, finalmente, las derivadas de la última se diferencian en glioblastos que emigran y dan ependimocitos o elementos que quedan como revestimiento permanente de las cavidades ventriculares del cerebro y del canal ependimario medular. La forma de estas células es cuboidal, columnar o poligonal, Bruni; Montemurro; Clattenburg y Sing (1973), y las superficies celulares que contactan con el líquido cefalorraquídeo, muestran numerosos cilios, tanto estos como sus cuerpos basales fueron ya descritos por Agduhr; (1932), basándose en las observaciones previas de Purkinje. (1836).

Estos cilios son de 15 a 20  $\mu$ . de largo y 0,4  $\mu$ . de diámetro en la rata, Brightman y Palay (1963) y sus movimientos han sido descritos por Worthington y Cathcart, (1963), Cathcart y Worthington (1964), afirmando que son los responsables de que el líquido cefalorraquídeo fluya por su interior. También han sido descritos, a M.E., junto a los cilios, otras prolongaciones citoplasmáticas cortas que parecen representar microvellosidades o simplemente

extensiones de la membrana plasmática conteniendo pequeñas vesículas y finos filamentos, Fernández B. y cols., (1977), Suárez I. y cols., (1978).

También en las zonas próximas a los ápices de estas células se observó con microscopia electrónica que existen dos tipos de uniones celulares: uniones en hendidura y zónulas adherentes, Brightman y Palay, (1963), Klinkerfuss; (1964), Brightman y Reese; (1969); Blakemore y Jolly; (1972).

La distribución de organelas en el citoplasma de estas células es muy diversa: las mitocondrias, muy elongadas son más numerosas en el polo apical que en otras zonas, aspecto que fue demostrado por Friede y Pax., (1961), Chason y Pearse, (1961), Thomas y Pearse, (1961); también el aparato de Golgi está mayoritariamente en la zona apical, con numerosas cisternas aplastadas rodeadas por pequeñas vesículas; otras vesículas forman parte del retículo endoplásmico liso que se encuentra en múltiples puntos; el retículo endoplásmico rugoso consta solo de unas cuantas cisternas pequeñas, y está esparcido por todo el citoplasma, de la misma forma que los ribosomas, estos últimos en racimos o libremente distribuidos por todo el citoplasma.

Dentro del contenido citoplasmático existen también dos variedades de cuerpos densos, unos según, Brightman y Palay (1963), son gránulos de ferritina; y otros, que tienen un contenido interno heterogéneo, con gránulos, vesículas y laminillas, son lisosomas.

El núcleo de estas células tiene una forma oval, y ocupa una porción relativamente grande del volumen celular, situándose en la parte central de la célula. Contiene un nucleolo excéntrico con una cromatina que le da un aspecto granular incluyendo en ella unos filamentos descritos por, Hiram y Zimmerman, (1967).

El epéndimo constituye así la membrana limitante interna, por oposición a la también glial astrocítica, que se considera como limitante externa. La diferencia más importante entre ellas es que la interna está formada por los propios cuerpos gliares, mientras que la externa está formada a base de extremos ensanchados, de prolongaciones astrocíticas, si bien, también forma parte de dicha limitante

algún soma astrocitario; Fernández, B., y cols. (1977), Suárez I., y cols. (1978).

En algunas regiones del Sistema Nervioso Central existen áreas cuyas células endimarias emiten una gruesa prolongación centrífuga, a veces dicotomizada e incluso con algún pie vascular. Estas células que en mamíferos tienen especial avidez por las sales de plata con mordiente tánico se denominan tanicitos. También podría compararse con la glía radial, de vertebrados inferiores en la que el enorme desarrollo del tubo neural, ha impedido que la prolongación centrífuga alcance la limitante externa.

Tenyson y Pappas (1964), han analizado las distintas variantes de las prolongaciones de las células endimarias, y distingue tres clases fundamentales:

- a) Células endimarias simples, con base celular lisa u ovoide.
- b) Tanicitos endimarios, células con prolongación basal larga y ramificada radialmente.
- c) Astrocitos endimarios, que tienen prolongaciones basales más o menos ramificadas.

Otro importante grupo de gliocitos es el de los OLIGODENDROCITOS. Se trata de células de soma poliédrico, esferoidal o piriforme, del que surgen escasas prolongaciones, algo gruesas y escasamente ramificadas. Se encuentran estas células tanto en la sustancia gris como en la blanca, y se distinguen sobre todo de los astrocitos por carecer de "pies vasculares". Estas células fueron primero observadas por Ramón y Cajal, (1919), quien las designó como unos elementos apolares desprovistos de prolongaciones y que denominó, tercer elemento nervioso. Sin embargo, fue Río Hortega, (1921), quien con su método de impregnación a base de carbonato de plata amoniacal las describe.

Al M.O. y con colorantes básicos se observa que el núcleo ocupa una posición excéntrica en la célula y que es más redondeado, pequeño y cromófilo que el núcleo astrocitario. Con M.E. se observa, que su nucleoplasma es oscuro, debido al contenido de gruesos acúmulos de cromatina, característica

más típica aún en los oligodendrocitos interfasciculares que en los de la sustancia gris, que permanecen con una apariencia más homogénea. Es común también el hallazgo de un nucleolo.

Otro aspecto interesante de estas células, fue observado en estudios de M.E., en los cuales de una forma reiterativa se observaba que los oligodendrocitos son más electrodensos que el resto de los astrocitos. La densidad del citoplasma, al M.E., es debida al gran número de gránulos y organelas que ocupan el espacio libre del citosol. En el retículo endoplásmico rugoso las cisternas están aplastadas y tienden a situarse circunferencialmente rodeando al núcleo.

Los ribosomas se encuentran en ocasiones junto a la membrana nuclear, asociados a membranas reticulares, aunque también se encuentran libres o agrupados en rosetas. El aparato de Golgi, tiene sus cisternas y vesículas bien desarrolladas, localizándose preferentemente en un polo de la célula. Las mitocondrias, muestran habitualmente crestas transversales.

Los microtúbulos no presentan orientación preferente, miden 25 nm., de diámetro y son abundantes en las prolongaciones citoplasmáticas. Los gránulos de glucógeno son escasos. A veces se observan cuerpos densos homogéneos. Bunge, Bunge y Ris. (1960), y otros heterogéneos que son interpretados como lisosomas. Caley y Maxwell (1968) Mori y Leblond (1970).

La topografía de los oligodendrocitos tiene importancia según se trate de la sustancia gris o de la sustancia blanca. En la sustancia gris se disponen en la vecindad de los somas neuronales y de las gruesas dendritas, es decir en disposición perineuronal, y constituyen la ya mencionada glía satélite, participando activamente en el metabolismo de las neuronas y formando con ellas una unidad funcional.

En la sustancia blanca, se encuentran sin embargo dispuestos en cadenas arrosariadas, entre las prolongaciones neuronales fasciculadas, en dirección paralela a estas fibras, y estableciendo contacto con ellas, constituyendo la glía interfascicular. Estas células son las equivalentes, en el Sistema Nervioso Central, a las células de Schwann en el

Sistema Nervioso Periférico, rodeando las fibras neuronales largas e interviniendo ambas en la formación de mielina.

Hace ya tiempo fue expuesta por, Holmgren (1900), y por Cajal, (1913, 1928), la idea de una relación simbiótica entre las neuronas y la neuroglía Hyden y Pigon (1960), y Hyden, (1967), han estudiado las neuronas gigantes del núcleo de Deiters, en el rombencéfalo de gato, y han comprobado por técnicas de aislamiento mediante microdissección del tejido, que estas neuronas están rodeadas por 35 - 40 oligodendrocitos, solo el 10% del total neuronal está envuelto a cargo de astrocitos.

Los oligodendrocitos tienen un proceso lento pero continuo de maduración; sufren una reducción de tamaño celular y nuclear y un incremento en su densidad acompañado de una mayor complejidad de los orgánulos citoplásmicos, en ratón. Kruger y Maxwell (1966).

Mori y Leblond, (1970), estudiaron este aspecto en la rata, comprobando que este proceso dura varias semanas y que los estadios sucesivos que presentan pueden concretarse en: claros, intermedios y oscuros, siendo el tipo claro el más inmaduro, desarrollando varias mitosis, mientras la variedad oscura ya no muestra divisiones.

La MICROGLIA, fue descubierta por Río Hortega, (1918) con su técnica especial (variante IV, método del carbonato de plata amoniacal). Sus células fueron llamadas microgliocitos o células de microglía. El origen, asignado por el mismo autor a la microglía, fue mesodérmico, constatrando con el ectodérmico propio de restantes células gliares del S.N.C.

Se ha admitido que la matriz primordial de los microgliocitos está presente en células adventiciales de los vasos embrionarios que quedan incluidos en el parénquima del sistema nervioso central. En ese momento son ya capaces de escapar de su situación perivascular e integrarse en plena trama neural, constituyendo los microgliocitos, a tal fin conforman su estructura adaptándose a las nuevas condiciones y desarrollando prolongaciones.

Recientemente se ha puesto de nuevo en discusión el origen real de la microglía y se sugiere que aparte de

algunos astrocitos que puedan converger en células microgliales, estas últimas no sólo tienen el origen embrionario anteriormente reseñado, sino también un origen permanente potencial, a partir tanto de:

- 1) células adventiciales especiales, (células de Rouget o pericitos), aplicadas contra el capilar en un desdoblamiento de su membrana basal
- 2) monocitos de la sangre que atraviesan la pared capilar.

En tanto quedan aclaradas todas estas hipótesis, la primitiva de Río Hortega permanece como la más sólida.

Los microgliocitos, (células en bastoncito de Cajal), son células pequeñas, alargadas, con núcleo ovoide, igualmente alargado y rico en cromatina, estando recubierto por muy escaso citoplasma; de este último surgen abundantes y finas prolongaciones, preferentemente bipolares, no muy largas y con numerosas dicotomías, de contorno espinoso.

El método de Río Hortega las impregna de un color negro intenso que refleja su silueta. Con métodos de coloración por anilinas se aprecia un núcleo denso en cromatina y un citoplasma finamente granujiento, que al M.E., muestra un retículo endoplásmico granular bien desarrollado y numerosos cuerpos densos de naturaleza lisosómica. Su topografía es universal, en pleno tejido nervioso de los centros, tanto en la sustancia blanca como en la gris, aunque su proporción varíe de unos puntos a otros. Contactan lo mismo con neuronas que con otras células gliales y están desprovistas de pies vasculares.

Lo verdaderamente notable en estas células microgliales es su conducta en condiciones anómalas, de injuria local en cualquier territorio de los centros nerviosos. La formación de un foco necrótico estimula a los microgliocitos en el triple sentido de:

- a) prescindir de sus prolongaciones por automutilación (clasmátodendrosis)
- b) agrandar su cuerpo y dividirse

c) actuar finalmente como macrófagos, desplazándose hacia el foco necrótico y fagocitando partículas de regular tamaño que son objeto de una digestión lisosómica. La fagocitosis va acumulando residuos intracitoplasmáticos en los que predominan gotas lipoides, que distienden enormemente la célula y aplastan el núcleo (cuerpos gránulo-adiposos), hasta hacerla estallar.

## PROTEINA GLIOFIBRILLAR ACIDA

Los orgánulos más específicos y llamativos de los astrocitos al M.E. son los gliofilamentos, cuya composición molecular ha permanecido ignorada, hasta que Bairati (1957, 1958) realizó los primeros estudios sobre las propiedades químicas de estos elementos del citoesqueleto, pero los hallazgos en cuestión fueron prácticamente desconocidos, hasta que más tarde se insistió en el estudio de tales propiedades químicas.

Eng. y cols., (1971), consiguieron el aislamiento y caracterización de una proteína ácida simple, la Proteína Gliofibrillar Acida; como componente básico de estos gliofilamentos. Para ello se utilizó previamente un material muy enriquecido en astrocitos fibrosos, a partir de focos de gliosis reactiva frente a lesiones espontáneas experimentales en el S.N.C.

Los autores de este trabajo, antes de que fuera publicado, realizaron una serie de estudios acerca de las propiedades de esta proteína, comprobando, ya en el proceso de aislamiento, que una fracción era soluble y se podía aislar en tampón (buffer fosfato, 0,05. M.) a pH = 8 y otra fracción era insoluble y se obtenía como residuo sólido por centrifugación a 100.000 x G/hora. Se consiguió también identificar la proporción de aminoácidos presentes y comparar estos resultados con los de otras proteínas filamentosas, (queratina, filarina, y tubulina principalmente).

Tanto la parte soluble como la insoluble, contienen 370 aminoácidos por molécula, y cuantitativamente son idénticas las tres fuentes de material patológico analizado, lo cual indica el carácter común de esta proteína. Eng. y cols., (1971). Datos ratificados posteriormente por De Vries, y cols. (1976).

Los aminoácidos más abundantes fueron: ácido aspártico, glutámico, alanina, leucina y arginina; y los menos: histidina, prolina, y metionina, no existiendo prácticamente nada de cisteína. Estos valores concidían también con los obtenidos químicamente para células de neuroglía en años anteriores, por lo que se concluyó; fuera el mayor constituyente de las fibras de los astrocitos.

El alto contenido en: ácido aspartico y ácido glutámico, hacía que se tratara de una proteína ácida simple. Esta proteína no era similar a otras proteínas ácidas comparadas con ella. Filarina, aislada por Huneus y Davison, (1970), proteína S-100, aislada por Cicero y cols., (1970); Tubulina, la subunidad de los microtúbulos aislada por Davison y Huneus., (1970); si bien esta proteína presentaba algunas características en común, como la precipitación con Vinblastina e iones de Calcio.

Posteriormente se observó que esta propiedad la presentaban todas las proteínas ácidas, Wilson, y cols. (1970). Tampoco observó ninguna semejanza con la alfa-queratina a pesar de que una de las conclusiones de los trabajos de Bairati, (1958), fuera que la proteína fibrillar astrocitaria debía ser clasificada, como una alfa-queratina.

La G.F.A.P., fue también estudiada con la técnica de electroforesis, Eng. y cols. (1971), la fase soluble, se fraccionó por precipitación con sulfato amónico y  $Cl_2Ca$  a  $pH=7,5$ , también se realizó una precipitación con vimblastina  $1mM$ . La fracción soluble resultante y la precipitada con sulfato amónico se volvieron a redissolver en tampón fosfato,  $0,05 M$ . Bairati, (1957) y Eng., y cols. (1968), llevando la solución a un gel de poliacrilamida en el cual se examinaron los resultados del proceso electroforético. El residuo insoluble fue disuelto en mezcla de fenol-ácido fórmico-agua y examinados los discos de poliacrilamida con un  $pH=1$ .

La electroforesis demostró, que una proteína ácida simple, migraba como una banda a  $pH=8,9$  y en el otro proceso, como otra banda a  $pH=1$ . Esta proteína era por tanto el mayor componente de ambas fracciones, soluble e insoluble, de las proteínas extraídas de los tres tejidos patológicos.

Posteriormente se utilizó dodecil-sulfato sódico, Eng. y cols., (1973-1979), para su extracción, y posterior análisis en los discos del proceso electroforético, pudiéndose observar que existían en realidad dos bandas, una mayor que correspondía a esta proteína ácida neuróglia con un  $Pm$ . entre  $47.000$  y  $51.000$ , y otra que pertenecía a las proteínas de los neurofilamentos de células nerviosas, porque tenía un peso molecular mucho más elevado.

## CONCEPTO Y ESTRUCTURA BASICA DE LA MEDULA CERVICAL

La médula cervical está formada por los ocho primeros segmentos a partir del agujero occipital de la medula espinal; junto con la zona lumbar, es una de las zonas más anchas de diámetro de la médula. Funcionalmente es en origen una estructura segmentaria con imbricación de cada zona con sus dos inmediatas vecinas. Anatómicamente recibe información por las raíces dorsales y emite impulsos efectores por las raíces ventrales. Constituye una estructura continua, más o menos cilíndrica alargada y encerrada en las piezas óseas segmentarias, las vértebras.

En corte transversal de tejido fresco, se aprecian dos tonos de color, por lo que se la dividió en sustancia gris la zona más interna y oscura y sustancia blanca la más externa, que envuelve por completo a la gris.

La sustancia gris presenta forma de H o mariposa y aproximadamente en su centro se encuentra el canal ependimario. En ella se agrupan los somas neuronales formando agrupaciones más o menos compactas, los núcleos. Topográficamente se divide en tres zonas:

- 1ª) Astas Motoras o Ventrales.
- 2ª) Sustancia Gris Intermedia.
- 3ª) Astas Sensitivas o Dorsales.

En las Astas Ventrales se encuentran: los Núcleos medial anterior, medial posterior, núcleo ventral anterior, ventral posterior, lateral anterior y lateral posterior. En cada lado de la sustancia gris intermedia se encuentran los Núcleos laterales ventral y dorsal y ventromedial. En las Astas Dorsales, el núcleo funicular dorsal, el núcleo de Stilling-Clark, el núcleo propio, la Sustancia Gelatinosa, el núcleo de Waldeyer y el espacio Marginal de Lissauer.

La Sustancia Blanca; está formada por las fibras nerviosas que se agrupan en haces y funículos. En el plano sagital se forman en los mamíferos dos surcos longitudinales; el surco ventral, muy profundo, y el posterior, muy superficial y continuado hacia dentro con el tabique dorsal medial de fibras neuróglícas astrocitarias.

En corte transversal la Sustancia Blanca, se divide en tres funículos o cordones: Ventral, Lateral y Dorsal. El Ventral o anterior lo delimitan las raíces anteriores y la fisura media anterior y en él encontramos los siguientes funículos:

- a) cortico-espinal directo (piramidal)
- b) retículo-espinal medial
- c) tecto-espinal medial
- d) vestíbulo espinal lateral
- e) vestíbulo espinal medial
- f) olivo-espinal
- g) espino-talámico anterior.

El cordón lateral viene delimitado entre las raíces dorsales y ventrales y en él se encuentran los siguientes funículos:

- a) espino-talámico lateral
- b) espino-cerebeloso ventral (Haz de Gowers)
- c) espino-cerebeloso dorsal (Haz de Flechsig.)
- d) retículo-espinal lateral
- e) rubro espinal
- f) cortico-espinal cruzado (piramidal cruzado)
- g) tecto-espinal lateral.

Y por último;

El Cordón Dorsal, está delimitado entre el tabique medio dorsal y las raíces posteriores y en él se encuentran los dos fascículos ascendentes dorsales, los haces de Goll y de Burdach.

En cuanto a la topografía de los haces hay una parte común en todos los mamíferos y otra específica para varios grupos zoológicos. La primera está constituida por un "haz fundamental", de límites imprecisos, que envuelve directamente toda la sustancia gris y está constituido principalmente por fibras que salen y entran de dicha sustancia, poniendo en relación segmentos medulares más o menos largos, directamente implicados en los reflejos locales. La parte correspondiente a la sustancia blanca por fuera del haz fundamental está formada por haces cuya

topografía y grosor son bastante variables con los diversos vertebrados.

Proceden las fibras tanto de núcleos encefálicos (haces descendentes) como de las raíces dorsales y llegan al encéfalo alcanzando diferentes niveles y relevándose una o más veces en el trayecto de la vía nerviosa (fibras ascendentes).

Las particularidades estructurales de la médula cervical radican en que por ser el territorio medular más próximo al encéfalo, es en donde mayor número de haces mielínicos se encuentran. En esta región la proporción de sustancia blanca con la de sustancia gris es muy favorable a la primera

## JUSTIFICACION DEL TRABAJO

La médula espinal representa la parte más primitiva del Sistema Nervioso Central de los vertebrados y básicamente conserva un patrón invariable en cuanto a su estructura propia, variando con la evolución la cada vez más compleja aportación de aferencias y eferencias respecto a los tejidos extraneurales y respecto al encéfalo.

Funcionalmente tiene una autonomía segmentaria, en relación principalmente con los derivados de los somitas embrionarios. El gran acúmulo de músculos y receptores que supone el desarrollo de las extremidades condiciona una hipertrofia de los segmentos correspondientes, cervico-torácicos y lumbares.

Es pues de mayor rendimiento el estudio de la médula cervical con sus ocho segmentos definidos por los correspondientes ganglios sensitivos y raíces motoras.

La distribución de los grupos neuronales y de los haces funiculares de la sustancia blanca presenta todavía muchos problemas por resolver, sobre todo en el orden comparativo de los vertebrados, pero en conjunto se ha llegado a un conocimiento bastante satisfactorio.

Está menos avanzado sin embargo, lo concerniente a la distribución del componente glial y sus relaciones histológicas con las demás estructuras del tejido a este nivel.

El estudio de esta parte del problema en la médula cervical del ratón blanco ha sido el móvil que ha justificado el desarrollo de la presente investigación, aplicando todas las técnicas clásicas de Cajal y de Río Hortega, a las que se añaden las de visualización de la proteína glial ácida y un complemento de observación o microscopia electrónica.

En concreto pretendemos, al igual que se conoce el patrón de distribución de los haces en la sustancia blanca y de los núcleos en la sustancia gris, establecer la correspondiente distribución a lo largo del desarrollo postnatal de los componentes, astrocitarios. La médula cervical nos pareció por su particular estructura un modelo idóneo.

## MATERIAL Y METODOS

Hemos empleado 102 ratones blancos, divididos en 30 grupos, y cada uno de estos grupos se formó con 3 ejemplares sin distinción de sexos. Estos grupos se fueron sacrificando diariamente a partir del momento del nacimiento hasta el día treinta, estableciéndose así los 30 primeros grupos de ratón como R-1, R-2, R-3, etc. A partir del día 30 se sacrificaron cuatro lotes de tres animales adultos con edades de 60 y 120 días.

De cada grupo de tres ejemplares, uno de ellos se destinó para fijación en formol al 10% formando la serie I, otro para fijación en B5, formando la serie II, ambas series para examen con M.O. El tercero se destinó para fijación con Glutaraldehido-Milloning formando la serie III y posterior examen con M.E. Los dos últimos grupos de adultos además fueron procesados para impregnación de la neuroglía con una variante del método de Golgi.

En los grupos comprendidos desde el día 0 a día 5, se sacrifican los ejemplares por decapitación y se extrajo la médula junto con las vértebras sin laminectomía. En el resto de los ejemplares se realizó la fijación con perfusión a través del bulbo aórtico y posteriormente fue extraída la médula con laminectomía.

El segmento de médula elegido para nuestro estudio fue el cervical, comprendido entre el agujero occipital y la primera vértebra dorsal que, por su situación, es más asequible que el resto de la médula.

La médula de cada uno de los ejemplares se dividió en tres partes iguales, destinándose dos de ellas para ser orientadas transversalmente, y una tercera longitudinalmente, pasando a la confección de bloques tanto de parafina como de Araldita.

## METODOS DE MICROSCOPIA OPTICA

Los métodos empleados son técnicas histológicas sobre cortes de 10  $\mu$ . en los bloques de parafina, 1,5 $\mu$ . para los de Araldita semifinos y 50  $\mu$ . en las piezas procesadas con el método de Golgi. Los ejemplares fueron anestesiados por inyección intraperitoneal con Uretano al 15% en agua destilada.

Fijación: Se realizó previa perfusión en el bulbo aórtico de una solución salina.

Fijación I: Como fijador general para microscopia óptica se ha empleado formol al 10% a pH neutro en el grupo I.

Fijación II: Las médulas de cada uno de los animales sacrificados de la serie II, se fijaron en B-5 durante 4 horas a una temperatura de 4°C y se realizó una postfijación de las piezas en alcohol de 70° donde pueden permanecer indefinidamente hasta el momento de la inclusión.

### DESHIDRATACION E INCLUSION EN PARAFINA DE LAS SERIES I Y II

Etanol 70% .....	1 h.
Etanol 96% .....	1 h.
Etanol 100% .....	1 h.
Etanol 100% .....	1 h.
Xilol .....	1/2 h.
Xilol .....	1/2 h.
Parafina .....	12 h.

### ORIENTACION DE BLOQUES EN PARAFINA DE LAS SERIES I Y II

Se orientaron fragmentos de médula tanto transversalmente como longitudinalmente para practicar luego los cortes en todos los animales a diferentes días. La obtención de los cortes fue mediante un microtomo tipo MINNOT de la casa REICHERT. OM.U3. Los cortes obtenidos fueron desecados en una estufa a 37°C durante 24 h. antes de proceder al desparafinado y posterior inmunotinción.

## TINCIONES REALIZADAS EN LAS SERIES I Y II PARA M.O.

1º Método de los anticuerpos no marcados. Peroxidasa antiperoxidasa. (Sternberger, 1970). Técnica para los cortes de parafina (Taylor, 1974, 1978).

2º Luxol - Fast-blue - PAS - Azul de toluidina.

3º Método de Golgi. (Cromato de plata).

### 1. INMUNOTINCION DE G.F.A.P.

a) Desparafinado de las Secciones

Xilol .....	5 m.
Xilol .....	5 m.
Etanol 100% .....	1/2 h.
Etanol 100% .....	1/2 h.

b) Inhibición de la Peroxidasa endógena

Sumergir los portaobjetos durante 15 minutos en un baño compuesto por:

Metanol .....	100 cc.
Agua oxigenada (10 v) .....	5 cc.

c) Lavado en agua corriente durante 5 minutos.

d) Lavado en T.B.S. (2 lavados de 5 minutos)

e) Aplicación de suero no inmune de cerdo, diluido 1:20 para disminuir la tinción inespecífica, durante 20 minutos.

f) Incubación con suero anti-G.F.A.P. de conejo anti-humano a una dilución 1 : 500 en T.B.S. durante 30 minutos.

g) Lavado con T.B.S. (2 lavados de 5 minutos).

- h) Incubación con IgG de cerdo anti-conejo, a la dilución 1:20 en T.B.S. durante 30 minutos.
- i) Lavado con T.B.S. (2 lavados de 5 minutos).
- j) Incubación con peroxidasa anti-peroxidasa (PAP) de conejo a la dilución 1 : 100 en T.B.S. durante 30 minutos.
- k) Lavado con T.B.S. (2 lavados de 5 minutos).
- l) La actividad peroxidasa fue revelada con 3,3' diaminobenzidina (D.A.B.) 0,05% y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,0015% en tampón tris al 0,05 M.
- m) Lavado en agua corriente 2 o 3 minutos.
- n) Tinción de contraste con hematoxilina de Harris durante 1 minuto.
- ñ) Lavado en agua corriente.
- o) Deshidratación; en alcoholes sucesivos de concentración creciente.
- p) Aclarado en Xilol de 1/2 a 1 h.
- q) Montaje. En D.P.X. o bien en Bálsamo.

#### 1.1 REACTIVOS:

##### BUFFER - TRIS - SALINO (T.B.S.)

Tris .....	0,605 gr.
Cloruro sódico .....	8,0 gr.
Acido clorhídrico 1N .....	3,8 ml.

Todo se disuelve en agua destilada hasta completar 1 l. y se ajusta el pH a 7,4 - 7,6.

## SOLUCION DE (D.A.B.)

Disolver 50 mg. de D.A.B. en 100 ml. de T.B.S. y añadir 0,15 cc. de agua oxigenada de 10 v. Esta solución ha de prepararse en el momento y manejarla con sumo cuidado debido al posible carácter cancerígeno de la D.A.B.

## HEMATOXILINA DE HARRIS (Mc Manus, 1960)

A.	Hematoxilina (cristales) .....	5 gr.
	Alcohol etílico absoluto .....	50 ml.
B.	Alumbre potásico .....	100 gr.
	Agua destilada .....	1000 ml
C.	Oxido de Mercurio Rojo .....	2,5 gr.

Disolver la hematoxilina en el alcohol y el alumbre en el agua destilada con ayuda de calor.

Mezclar las dos soluciones y una vez juntas llevarlas a ebullición muy despacio.

Añadir el óxido de mercurio dejando hervir todo durante 5 minutos.

Enfriar rápidamente toda la mezcla.

Filtrar y añadir 40 ml. de Acido Acético glacial para mejorar la tinción.

## 2. TINCION LUXOL - FAST - BLUE - PAS - AZUL DE TOLUIDINA REACCION DEL ACIDO PERYODICO - SCHIFF (APS. HOTCHKISS - Mc MANUS LILLIE).

### 1.1. REACTIVOS:

Acido peryódico, en solución acuosa al 1% en su defecto una solución que contenga 0,8g. de peryodato-sódico en solución acuosa de ácido nítrico al 0,5% hasta 100 ml.

Reactivo de Schiff. Los mejores resultados se obtienen con los reactivos de BARGER, de LAMATER y de ITIKANSA y OGURU.

Reactivo de Barger y de Lamater:

1º Disolver 1 g. de fucsina básica en 400 ml. de agua destilada calentando si es necesario.

2º Añadir 1 ml. de cloruro de tionilo ( $\text{SO Cl}_2$ ) tapando el frasco y dejar reposar 12 horas después de agitar.

3º Añadir 2 g. de carbón activado, agitar y filtrar inmediatamente. Se conserva durante varios meses en oscuridad y nevera.

Reactivo de Itikansa y Oguru.

Se sustituye el ( $\text{SO Cl}_2$ ) a base de burbujear  $\text{SO}_2$  lentamente sobre la solución al 0,5% de fucsina básica.

Luxol Fast Blue:

Luxol Fast Blue (M B S N) ..... 1 g.  
Etanol 96% ..... 1000 ml.

Una vez disuelto (añadir el colorante dispersando sobre el alcohol), añadir 5 ml. de acético al 10%. Filtrar antes de usar. (El luxol MBS tiene mayor afinidad por los tejidos y es más resistente a la diferenciación que el MBSN).

Carbonato de litio (recién hecho).

Carbonato de litio ..... 0,05 g.  
Agua destilada ..... 100 cc.

Azul de Toluidina (pH = 3)

Azul de toluidina ..... 0,1 g.  
Acido acético al 3% ..... 1000 ml.

Metabisulfito sódico al 5%

Diluir 1 : 1 en Metabisulfito al 1,9 % en CLH al 12%.

## METODO

- a. Desparafinar.
- b. Hidratar, hasta etanol de 96°.
- c. Teñir con luxol a 56° - 60°C toda la noche.
- c. Aclarar en etanol de 96° para eliminar el exceso de colorante.
- e. Diferenciar con carbonato de litio unos segundos, y luego con etanol de 70°, también durante unos segundos, controlándolo bajo el microscopio.
- f. Sumergir en agua destilada para detener la diferenciación y aclarar en otro baño de agua destilada 5 minutos.
- g. Oxidar con ácido peryódico 10 minutos.
- h. Aclarar en dos baños sucesivos de agua destilada.
- i. Tratar con el reactivo de Schiff diluido durante 10 minutos.
- j. Aclarar en tres baños de 2 minutos cada uno con metabisulfito.
- k. Lavar 15 minutos en agua.
- l. Aclarar en agua destilada.
- m. Teñir con Azul de Toluidina de 20 a 30 segundos. También se puede contrastar con violeta de cresilo o hematoxilina.
- n. Diferenciar rápidamente con etanol de 70°.
- ñ. Deshidratar muy rápidamente en etanol de 70°.
- o. Aclarar y montar en D.P.X.

### 3. METODO DE GOLGI (Nitrato de Plata) Según Bubenaite

Hemos empleado dos series de ratones adultos de 60 y 120 días. Después de sacrificarlos por decapitación y extraer sus médulas cervicales por laminectomía.

#### FIJACION:

Sumergir las piezas durante un día y medio en un baño de:

Hidrato de cloral .....	3 gr.
Bicromato Potásico .....	3 gr.
Formol al 10% .....	50 ml.

TINCIÓN:

- a. Se pasan directamente las piezas a un baño de: Nitrato de plata en agua al 1% durante un día a una temperatura de 30°C.
- b. Lavar rápidamente en agua destilada.
- c. Sumergir las piezas en:  
  
Etanol de 100° durante 3 o 4 horas  
Tolueno unos 3 o 4 minutos.
- c. Se vierte sobre las piezas: Parafina de 60° para hacer los bloques y así quedan las piezas enclaustradas.
- e. Se realizan cortes de 30 o 40  $\mu$ .
- f. Lavado rápido de los cortes en toluol.
- g. Pasar los cortes a etanol de 100° donde pueden permanecer tiempo indefinido.
- h. Montar en D.P.X. o bien en Bálsamo

## METODOS DE MICROSCOPIA ELECTRONICA

**ANESTESIA:** Se procedió a la anestesia de todos los ejemplares. (SERIE III), excepto los de días 0 a 5, por inyección intraperitoneal de: Uretano 3 gr. en 20 ml. (15% en agua destilada/Kg. de peso).

**FIJACION:** Se procedió a la fijación por perfusión a través del bulbo aórtico durante 1 minuto con solución lavadora y durante 15 minutos con la solución fijadora de glutaraldehido, Millonig (pH 7.3)

**FIJADOR:** Un 20% de glutaraldehido al 25% y 80% de tampón.

Después de la fijación durante 4 horas a 4°C, se obtuvieron pequeñas piezas de las médulas. Se procedió a continuación al lavado con tampón más glucosa durante 40 minutos (4 cambios de 10 minutos) y postfijación con tetraóxido de osmio al 2% en tampón durante 2 horas. finalmente después de lavar con tampón toda la noche, se incluyó el tejido en Araldita.

### INCLUSION EN ARALDITA:

Lavado en agua destilada de las piezas que provienen del tetraóxido de osmio.

Acetona al 30% (en agua destilada) .....	15 m.
Acetona al 50% (en agua destilada) .....	30 m.
Acetona al 70% (en agua destilada) .....	30 m.
Acetona al 70% más acetato de uranilo .....	12 h.
Acetona al 90% .....	30 m.
Acetona al 100% .....	30 m.
Acetona más sulfato de cobre .....	30 m.

Oxido de propileno .....	30 m. 1 h.
Oxido de propileno más Araldita I en proporción 3/1 .....	2 h.
Oxido de propileno más Araldita I en proporción 2/2 .....	2 h.
Oxido de propileno más Araldita I en proporción 1/3 .....	12 - 24 h.

Araldita I (en estufa a 50°C ..... 2 h.  
Araldita I (en estufa a 50°C ..... 12 - 24 h.  
Araldita II (en estufa a 50°C) ..... 1 h.  
Araldita II (en estufa a 50°C ..... 1 hora.

#### Inclusión de piezas en cápsulas de gelatina

El tallado de los bloques se ha realizado en una talladora Reichert TM 60. Los cortes semifinos y ultrafinos de (50 - 60 nm) se obtuvieron en un ultramicrotomo UM-3 de la casa Reichert. Los cortes semifinos se tiñeron con azul de Toluidina 0,5 gr., bórax 0,5 gr. y agua destilada 100 ml. a 60°C y se estudiaron en un microscopio óptico.

Los cortes ultrafinos se recogieron en rejillas con soporte de formvar. Se tiñeron durante 5 minutos con citrato de plomo y se observaron en un microscopio JEOL 100B del Departamento.

**RESULTADO DE MICROSCOPIA OPTICA**

**GLIOARQUITECTURA DE LA MEDULA CERVICAL EN RATON ADULTO**

## MEDULA CERVICAL DE RATON ADULTO

### INDICE

#### A) DISPOSICION DE LA ASTROGLIA EN MEDULA CERVICAL DE RATON ADULTO CON INMUNOTINCION PARA LA PROTEINA GLIAL-FIBRILLAR-ACIDA (G.F.A.p)

##### 1º En la SUSTANCIA GRIS:

- |       |                  |                                                                                 |
|-------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 1.1.1 | Astas Ventrales: | a) Núcleos medioventrales<br>b) Núcleos ventrales<br>c) Núcleos lateroventrales |
| 1.1.2 | Astas Laterales: | a) Lateroventral<br>b) Lateral medio<br>c) Laterodorsal                         |
| 1.1.3 | Astas Dorsales:  | a) Zona marginal de<br>Lissauer                                                 |
|       | CABEZA           | b) Núcleo de Waldever<br>c) Sustancia gelatinosa de<br>Rolando                  |
|       | CUELLO           | d) Núcleo propio                                                                |
|       | BASE             | e) Núcleo de Clarke                                                             |

##### 2º EPENDIMO:

- a) Ependimocitos
- b) Capa externa
- c) Capa interna
- d) Zona periependimarias

##### 3º LIMITE ENTRE LA SUSTANCIA GRIS Y LA SUSTANCIA BLANCA

##### 4º En la SUSTANCIA BLANCA:

- 4.1 Zona Ventral
  - 4.1.1 Limitante subpial
  - 4.1.2 Fisura media ventral

#### 4.2 Zona Laterales

- 4.2.1 Zona lateral limitante (franja subpial externa)
- 4.2.2 Zona lateral que contacta con sustancia gris
- 4.2.3 Zona lateral media (con núcleos y haces nerviosos)

#### 4.3 Zona Dorsal

- 4.3.1 Zona limitante dorsal (astas dorsales)
- 4.3.2 Zona medio dorsal
- 4.3.3 Surcos paramedulares o intermedios
- 4.3.4 Haz de Goll
- 4.3.5 Haz de Burdach

A partir del agujero occipital, se han realizado cortes seriados transversales en los ocho segmentos cervicales del ratón adulto. Estos cortes han sido procesados con inmunotinción para detectar la proteína glio-fibrillar-ácida. (G.F.A.p.)

Estos resultado están enfocados en dos sentidos:

- 1º Respecto a la diferente densidad celular (astrocitos) en las distintas áreas (núcleos) medulares.
- 2º Respecto a la variación morfológica de los astrocitos en las distintas áreas medulares.

#### 1) SUSTANCIA GRIS

Se ha observado G.F.A.p. positiva en los somas, prolongaciones somáticas de los astrocitos protoplásmáticos de forma idéntica en conjunto a la de los astrocitos fibrosos de la sustancia blanca, aunque vistos en detalle muestran prolongaciones espinosas y una relación topográfica especial con las fibras neuronales.

Los astrocitos de la sustancia gris exhiben prolongaciones más cortas y abundantes que los de la sustancia blanca. En algunas ocasiones todas estas prolongaciones emergen de una región limitada del citoplasma, opuesta a la ocupada por el núcleo, que queda así en una situación excéntrica.

La distribución medular de estos astrocitos protoplásmicos ha sido estudiada en relación con los distintos grupos neuronales de las astas ventrales, laterales y dorsales, que forman esta sustancia gris, ya que en este caso, se visualizan bien las neuronas. También en este caso hemos preferido la distribución de núcleos, a la laminar (Rexed 1954) (Steiner 1972) (McClung 1978) (Carpenter 1980).

En la sustancia gris, nuestros resultados están esquemáticamente referidos a la distribución de las siguientes áreas con núcleos de contorno no muy bien definido.

- 1.1.1 Area Ventral: a) Núcleo medial  
 b) Núcleo ventral  
 c) Núcleo lateral

En la parte caudal de la médula cervical, entre el asta ventral y la dorsal, se encuentra una expansión lateral de la sustancia gris, conocida como asta lateral.

- 1.1.2 Area Lateral: a) Núcleo latero ventral  
 b) Núcleo lateral intermedio  
 c) Núcleo latero dorsal

- 1.1.3 Area Dorsal: BASE a) Núcleo de Stilling-Clarke  
 CUELLO b) Núcleo propio  
 CABEZA a) Sustancia gelatinosa de Rolando  
 b) Núcleo de Waldeyer  
 c) Zona marginal de Lissauer

Es difícil delimitar de forma nítida, en la sustancia gris, el contorno de núcleos contiguos, en realidad se trata de áreas, que es como las vamos a denominar. (Fig. 1) Esquema.

1.1.1 Area Ventral. Núcleo medial ventral: Es una agrupación de motoneuronas que sitúa sus límites ventral y lateral en la frontera con la sustancia blanca ventral más próxima a la fisura media. Su forma en conjunto es redondeada, (Fig. 2) y los somas neuronales que lo pueblan son de dos tipos:

- a) Células poligonales o triangulares, (Fig. 3) con expansiones filamentosas multipolares, (Fig. 4) y a veces bipolares (Fig. 5). Núcleo con nucleolo muy patente, son de gran tamaño (18  $\mu$ .) y se condensan preferentemente en zonas próximas al límite con la sustancia blanca (Fig. 6).
- b) Otras son de forma ovoidea o fusiforme con escasas ramificaciones, también presentan un núcleo grande

(13) $\mu$ . que ocupa casi todo el soma y con nucleolo visible. Son células de tamaño medio (25) $\mu$ ., más pequeñas que las anteriores, y se encuentran esparcidas por toda esta área sin orientación preferente (Fig. 7).

La trama de astrocitos protoplásmicos, en este área, continua a la zona del cordón anterior, es la más densa de la médula y no presenta distribución uniforme sino que los astrocitos se encuentran dispersos por toda el área, situándose sus somas en los espacios libres que dejan las neuronas, sin límite topográfico definido, (Fig. 8) Los somas de estos astrocitos protoplásmicos encontrados, emiten prolongaciones muy polimorfas, que se entrelazan con las fibras neuronales de formas muy variadas:

- a) Motoras triangulares multipolares. Algunos somas astrocitarios se disponen adosados a somas de estas neuronas. Queda a veces un pequeño espacio posiblemente artefacto de retracción entre ambos somas celulares. Se trata de astrocitos perineuronales, que envían una sola prolongación, que discurre paralela a una expansión neuronal. (Fig. 9) La yuxtaposición de los somas gliales se verifica en cualquiera de los dos lados lateral o medial de las neuronas. (Fig. 10) También se observan prolongaciones de otros astrocitos que tienen el soma distante del cuerpo neuronal. (Fig. 11).
- b) Motoras bipolares. Van también acompañadas de astrocitos perineuronales, ocasionalmente son dos los astrocitos que emiten sus únicas prolongaciones en sentidos opuestos, uno de ellos con su soma adosado al de la neurona (Fig. 12).
- c) Neuronas ovoides. (Fig. 13) Es frecuente observar astrocitos más o menos separados de estas neuronas a las que dirigen sus prolongaciones rodeando a los somas neuronales, formando como unos cestos envolventes en los que las incluyen. Son por tanto astrocitos perineuronales satélites. (Fig. 14).

En esta misma zona se encuentra el área perteneciente al Núcleo Ventral, con motoneuronas y astrocitos que difieren en muy poco a los de los núcleos contiguos Medioventral y Lateroventral, salvo el detalle de un aparente descenso en la densidad astrocitaria. (Fig. 15) En esta zona se han observado ocasionalmente algunos astrocitos perineuronales satélites, que también adosan completamente parte de su soma al de una neurona ovoide grande, (20) $\mu$ ., (Fig. 16). También es frecuente observarlos junto a somas de neuronas pequeñas. (Fig. 17).

En neuronas ovoides, se ha observado como los somas de dos astrocitos, uno de ellos adosado a la neurona, y el otro interponiendo prolongaciones entre el soma neuronal y el astrocítico. Se trata de dos astrocitos perineuronales, uno de ellos satélite, que envía parte de sus prolongaciones hacia otras neuronas, y las restantes se entrelazan alrededor de la neurona (Fig. 18).

Otro área de límite impreciso y prácticamente rodeada por completo por sustancia blanca es la del Núcleo Lateroventral, (Fig. 19), más próxima al Núcleo Ventral, alberga otro tipo astrocitario, el llamado: astrocito interneuronal. Dispone su soma y prolongaciones entre dos neuronas ovoides. La zona donde surgen prolongaciones se encuentra precisamente entre los somas neuronales, con desplazamiento del núcleo hacia uno de los dos somas neuronales. (Fig. 20).

En una zona próxima al Núcleo Ventral, limitante con la sustancia blanca, se han detectado los denominados astrocitos gemelos (Fig. 21), que presentan sus somas firmemente acoplados y emiten cada uno, de dos a cuatro prolongaciones, que discurren paralelas en ambos sentidos, hacia la sustancia gris o hacia la blanca, una de ellas contribuye a la formación de los tabiques medulares de la sustancia gris. (Fig. 22) En la zona inferior de la foto se visualiza otro astrocito perineuronal.

En las zonas laterales de este área, que contactan con la sustancia blanca, se visualizan somas de astrocitos de carácter intermedio, que envían prolongaciones cortas hacia la sustancia gris, y otras largas y finas formando los tabiques medulares (Fig. 23).

Inmediatamente superpuestos a estos núcleos, Ventromedial, Ventral y Ventrolateral, que son de mayor tamaño, se encuentran las áreas pertenecientes a los núcleos; Dorsomedial, Intermedio, y Dorsolateral, que siguen manifestando su fisiología somato-motora.

El área perteneciente al núcleo Dorsomedial, se sitúa también en las proximidades de la fisura media, en su zona lateral y en su límite dorsal con la zona viscero-motora de las astas laterales (Fig. 24). La densidad astrocitaria de este área, al igual que ocurre en el núcleo Ventromedial es aparentemente mayor que el resto medular dorsal, a excepción de la zona dorsal periependimaria, que supera a todas en densidad astrocitaria.

Se ha observado, ocasionalmente en este área, algún astrocito perivascular con múltiples prolongaciones, dos de ellas hacia un vaso formando un pie vascular, de forma triangular. En esta misma imagen (zona inferior derecha) se aprecia también otro pie vascular de mayor tamaño, perteneciente a algún otro astrocito cuyo soma está en otro campo microscópico (Fig. 25).

En el resto de este área los tipos astrocitarios son similares a los de núcleos contiguos, a excepción de algunos de gran tamaño y somas triangulares, con una sola prolongación ventral, más gruesa y larga que las restantes que salen en sentido contrario.

La prolongación gruesa se va adelgazando y en su extremo terminal contacta con un vaso. (Fig. 26) Las otras de dirección opuesta, son más cortas y estrechas y presentan un contorno espinoso (Fig. 27).

También se han observado somas neuronales ovoideos dispuestos en fila entre algunas prolongaciones astrocitarias largas, de tal modo que una sola prolongación astrocitaria abarca varios somas neuronales y posteriormente se ramifica entre dos o tres neuronas (Fig. 28).

En un área próxima, perteneciente ya al Núcleo Intermedio Dorsal, se encuentran mayoritariamente, astrocitos con somas muy polimorfos. (Fig. 29) Algunos de ellos emiten todas sus

prolongaciones en un solo sentido, a partir del soma (Fig. 30).

Rastreando este área, se han detectado astrocitos cuyo soma está colocado entre dos somas neuronales, se trata de astrocitos interneuronales, que emiten dos prolongaciones una más gruesa y larga en ambos sentidos, entre las neuronas; y otra más corta, originada por dictomía de la primera y ramificada hacia el soma de una de las neuronas. (Fig. 31).

El número de astrocitos en este núcleo es aparentemente bastante discreto y los que han sido mencionados se encuentran algo acumulados hacia el centro del núcleo. (Fig. 32). Recorriendo este área, hacia las zonas medulares laterales nos encontramos con el área perteneciente al Núcleo Dorso Lateral, que también contacta con la sustancia blanca. (Fig. 33).

De forma casual. En algunos cortes se han encontrado unos astrocitos que destacan por la presencia de una única prolongación, que va adelgazándose a medida que rodea la neurona en su contorno, se trata por tanto de un astrocito satélite perineural. (Fig. 34) En algunos casos la cobertura astrocitaria para la neurona es solo parcial (Fig. 35).

En esta zona, también se encuentran astrocitos con somas triangulares, similares a los del núcleo ventral pero de menor tamaño y con algunas prolongaciones sin espículas. (Fig. 36).

Por último, mencionar que estas áreas ventrales o zona sensorial motora, tiene una distribución astrocitaria que no difiere básicamente de la descrita (dibujo esquemático de núcleos) para los núcleos que la pueblan, con una mayor densidad en los núcleos ventrales próximos a la Fisura Media Ventral y por tanto a la zona periependimaria ventral.

Tampoco se encuentran diferencias significativas, en la relación que estos astrocitos mantienen con neuronas motoras triangulares multipolares, como con las bipolares ovoideas y vasos.

**1.1.2 Areas laterales de la sustancia gris:** En las últimas vertebrae de la médula cervical, tiene lugar la formación de una protuberancia dorsal en la sustancia blanca que rodea parcialmente al Núcleo Intermedio Medial y al Núcleo Intermedio Lateral. Ambos núcleos forman el área que denominamos como Lateral y reciben la información visceral o interoceptiva.

El núcleo intermedio lateral, está formando lo visceral sensitivo de estas astas laterales y está localizado a continuación de la zona somato-sensitiva que forman las astas dorsales. Sin embargo, el núcleo intermedio medial está formando lo visceral motor de estas astas laterales y se localiza a continuación de las astas ventrales que formaban la zona somato motora medular.

En este caso también hemos considerado la localización de estos dos núcleos como una única área, en la que se aprecia con pocos aumentos como el número de astrocitos del núcleo intermedio medial es muy escaso en comparación con los del intermedio lateral, sobre todo en su zona dorsal (Fig. 37).

El límite externo lateral de este área contacta con la sustancia blanca y es en él donde más condensación de astrocitos se observa sobre todo en la proximidad de las astas dorsales.

Presentan variadas formas del soma, triangulares sobre todo, con prolongaciones entre neuronas ovoideas y fusiformes que son las que pueblan esta zona, observándose también en esta misma imagen, con inmunotinción específica positiva, que destaca como unos puntos muy densos en las fibras cortadas transversalmente (Fig. 38).

Otros astrocitos de soma redondeado presentan una sola prolongación gruesa erizada de espículas en su trayecto, y otras fibras más finas, desarrolladas en todas direcciones (Fig. 39).

Rodeando a neuronas multipolares, se observan prolongaciones astrocitarias en varias direcciones, que procedentes de varias ramificaciones adaptativas a las

neuronas, presentan sus zonas terminales enfrentadas al soma neuronal (Fig. 40).

En este límite entre la sustancia gris y blanca es muy frecuente el hallazgo de astrocitos alineados, dentro de la sustancia gris, contactando sus prolongaciones con las de otros de la sustancia blanca (Fig. 41).

En este área del núcleo intermedio lateral se han observado algunas parejas de astrocitos que contactan mutuamente sus prolongaciones, para posteriormente deshilacharse a corta distancia del soma, posiblemente estas uniones de contacto entre prolongaciones tan finas, sean uniones estrechas o mácula adherens, dato que se confirmará con M.E. Al mismo tiempo uno de los astrocitos envía otras prolongaciones más gruesas hacia un vaso que se encuentra justo en el límite con la sustancia blanca. No se observa inmunotinción positiva en todo el contorno vascular, a excepción del lugar donde estas prolongaciones contactan con él (Fig. 42).

La distancia entre estos somas astrocitarios es de unas  $(3)\mu$ . y las prolongaciones más finas rodean también a los somas de las neuronas motoras viscerales con siluetas fusiformes y redondeadas, núcleo esferoidal y nucleolo más o menos central (Fig. 43).

En su zona más interna, hacia el epéndimo, este área presenta astrocitos con cuerpo polimorfo y prolongaciones adaptadas a somas y fibras neuronales, formando todo un entramado muy tupido glioneural (Fig. 44). También en la parte más dorsal del núcleo intermedio lateral se observan neuronas con somas polimorfos, predominando los bipolares, con prolongaciones finas. Entre ellas se observan espacios densamente poblados de astrocitos (Fig. 45).

Respecto a los vasos, se comprueban dos esquemas principales. En el primer caso se pueden apreciar astrocitos con una prolongación que contacta con una pared vascular, y en esta a su vez van destacando pies vasculares a lo largo de su trayecto, con diferentes tamaños (Fig. 46). En el segundo caso se aprecian astrocitos que adosan no sólo los pies vasculares, sino también parte de su soma a la pared

vascular, son por tanto astrocitos satélites perivasculares (Fig. 47).

**1.1.3 Areas dorsales de la sustancia gris:** Se dividen en tres territorios neuronales bien definidos: Base, Cuello y Cabeza, que ya han sido citados anteriormente.

En la Base, de las astas dorsales se encuentra el núcleo de Stilling-Clarke, haciendo prominencia hacia la sustancia blanca dorsal. En él se encuentran neuronas cuyos axones penetran en dicha sustancia blanca y se integran en los haces espino cerebelosos dorsales (de Flechsig) y ventrales (haz de Gowers) (Fig. 48).

La densidad astrocitaria es aquí pequeña, pero sin diferir tabique medular alguno a los haces referidos. Se observan también las prolongaciones astrocitarias a su salida de la sustancia gris para acompañar a los axones provenientes de las neuronas de la sustancia blanca (Fig. 49).

También se ha observado la salida de axones de neuronas situadas detrás del núcleo de Clarke junto con prolongaciones de astrocitos cuyo soma está en la sustancia gris (Fig. 50). En esta misma zona, se ha observado un tipo de astrocitos con una prolongación gruesa hacia la sustancia gris, rodeando a un soma neuronal y otras más finas que se dicotomizan en la sustancia blanca, siguiendo el trayecto de los haces dorsales (Fig. 51).

En general, las prolongaciones astrocitarias siguen a veces una sola dirección y en otros casos en múltiples sentidos alrededor de los somas neuronales (Fig. 52).

Han sido también detectados astrocitos gemelos, con adosamiento de dos somas en paralelo, y entrelazamiento de las prolongaciones (Fig. 53).

En el interior de este núcleo de Clarke, la densidad astrocitaria aparentemente asciende, encontrando astrocitos que envían sus prolongaciones en diferentes sentidos (Fig. 54). A veces se observan neuronas rodeadas, por astrocitos que disponen su soma y prolongaciones sobre un soma neuronal bipolar y una de las dos fibras nerviosas; la otra en dirección opuesta, a cargo de la prolongación de otro

astrocito, quedando por tanto la neurona prácticamente rodeada en todo su contorno por el componente astrocitario (Fig. 55).

Por encima del Núcleo de Stilling Clarke se encuentra el núcleo Propio, bastante bien delimitado, por su alta densidad en somas neuronales. Los axones de estas neuronas son decusantes hacia la sustancia blanca y en ella se mielinizan (Fig. 56). La densidad astrocitaria es aparentemente bastante mayor que en los casos anteriores, y los tipos astrocíticos encontrados son los siguientes:

- 1º Los típicos astrocitos de cuyo soma piriforme parten cuatro o cinco prolongaciones en sentido contrario al resto de dicho soma. (Fig. 57)
- 2º En la zona próxima a la sustancia blanca se ha encontrado un astrocito que adosa su soma pequeño y una prolongación somática gruesa a una neurona, tratándose por tanto de un astrocito perineuronal satélite (Fig. 58).

En la zona periependimaria dorsal, se observan a veces secciones de vasos que a lo largo de su recorrido, son abordados por numerosas prolongaciones finas, de astrocitos próximos, formando numerosos pies vasculares (Fig. 59). Ocasionalmente se encuentran incluso somas gliares muy próximos hasta adosados a la pared vascular (Fig. 60).

En la zona de transición próxima al cuello de las astas dorsales, por encima del Núcleo Propio, aparece como es sabido la zona gelatinosa de Rolando (Fig. 61). La densidad neuronal es muy escasa a este nivel, presenta límites bien definidos, el número de astrocitos es prácticamente nulo, en su zona dorsal, sólo ocasionalmente se encuentran astrocitos aislados. Se ha observado un astrocito satélite con su soma adosado al de la neurona y otros dos próximos a él (Fig. 62). Sin embargo, en su zona más dorsal próxima al Núcleo de Waldeyer, la densidad astrocitaria aparentemente aumenta (Fig. 63).

Por encima de la sustancia gelatinosa, aparecen el núcleo de Waldeyer, pequeña concentración neuronal que recibe aferencias estereoceptivas, en este núcleo la densidad astrocitaria, es muy escasa, y sólo ocasionalmente, se

observa algún soma astrocitario siendo lo común encontrar prolongaciones astrocitarias finas provenientes de astrocitos situados en la zona marginal de Lissauer (Fig. 64).

La cabeza o espacio marginal de Lissauer concide prácticamente con la limitante externa medular. Es un territorio escaso en neuronas, pero muy rico en componentes gliares, principalmente astrocitos cuyo soma se encuentra en el límite de la sustancia blanca y a poca distancia de ella (1 o 2)  $\mu$ ., emergiendo desde este mismo nivel multitud de prolongaciones de gran longitud (300) $\mu$ . que discurren entre las neuronas de niveles más profundos de las astas y contactan con las prolongaciones cortas de astrocitos fibrosos de la sustancia blanca (Fig. 65).

Es difícil definir la relación entre astrocitos del espacio marginal de Lissauer y los de la sustancia blanca de esta zona, pero en ocasiones se observa que las prolongaciones astrocitarias largas ya citadas, de la sustancia gris, van también acompañadas de otras más cortas hacia la sustancia blanca para formar parte de la limitante externa (Fig. 66).

Las prolongaciones largas, de estos grupos de astrocitos discurren especialmente, en los sitios próximos a la entrada de las raíces dorsales, y esta glioarquitectura se mantiene fundamentalmente en todos los cortes frontales (Fig. 66).

En la zona próxima al límite con la sustancia blanca los somas astrocitarios envían sus prolongaciones finas hacia los haces de fibras gruesas para formar parte de ellos (Fig. 67).

Con esta zona marginal de Lissauer, finalizamos, la descripción glioarquitectónica de las astas dorsales que sin duda, presentan aparentemente la densidad astrocitaria más baja, de toda la médula cervical, sobre todo comparándolas con las astas ventrales.

## 2.9 EPENDIMO Y AREAS PERIEPENDIMARIAS

Se han considerado estas zonas en el ratón, como la lámina X de la organización laminar de (Rexed 1954) (Steiner 1972) (Mclung 1978) (Carpenter 1980), que abarca el epéndimo,

zonas periependimarias dorsal, ventral y laterales, también se incluyen las comisuras grises ventral y dorsal (Fig. 68).

**Epéndimo:** La glía endimaria, está representada por los endimocitos, células cuboidales, columnares o de sección poligonal, asociadas para formar una capa epitelial neuróglia de un solo estrato y reviste la pared de las cavidades del neuroeje, formando la limitante interna (Fig. 69). Se diferencia de la externa en que está formada por los cuerpos celulares de esta glía especializada, al paso que la limitante externa, lo hace mediante los extremos ensanchados de las prolongaciones astrocitarias (Fig. 70); a veces también participan en la limitante externa algunos somas gliares (Fig. 71).

En los propios endimocitos de la zona ventral hemos encontrado inmunorreacción positiva, en sus somas y los más ventrales dirigen sus prolongaciones fundamentalmente hacia la fisura media de la sustancia blanca (Fig. 71).

Entre los endimocitos, es también frecuente encontrar extremos de prolongaciones astrocitarias de diferentes formas y grosores: triangulares (60) nm., filiformes (20) nm., pertenecientes a los astrocitos protoplásmicos que rodean al endimocito (Fig. 70) y (Fig. 71).

En la zona periependimaria dorsal, se observan varias prolongaciones astrocitarias gruesas y largas (300)  $\mu$ ., que partiendo del propio epéndimo, llegan hasta la misma comisura gris dorsal, pero no alcanzan las zonas subpiales como los típicos tanicitos (Fig. 71).

En la zona más próxima a esta comisura, se han encontrado prolongaciones largas que contactan con la luz endimaria y acompañan longitudinalmente a un vaso. En este vaso, se observa también la presencia de un astrocito cuyo soma a 7,3 $\mu$ ., del vaso, envía una única prolongación gruesa a la pared vascular adosándose a ella. En el extremo del vaso se observa otro astrocito perivascular satélite, que aproxima su soma y prolongaciones, al endotelio vascular. (Fig. 72) En esta zona supraendimaria, entre esta gran densidad astrocitaria se han observado células astrocíticas son indiferenciadas con tinción más débil (Fig. 73).

Esta zona periependimaria dorsal, abarca desde el mismo epéndimo hasta la comisura gris dorsal profunda; en ella se encuentran, además de las prolongaciones largas endimarias descritas anteriormente, unos tipos astrocitarios, que sólo difieren del resto de la sustancia gris en su menor tamaño (Fig. 75).

En la zona subependimaria o ventral endimaria los propios endimocitos y los somas astrocitarios son los que contribuyen a la formación de las dos limitantes, interna y externa, también van apareciendo algunos astrocitos con múltiples prolongaciones de mediano grosor. Estas prolongaciones se dicotomizan varias veces y cierto número de ellas atraviesan el plano sagital, hasta adelgazar y perderse en el lado opuesto. En una zona todavía más ventral, estas prolongaciones se hacen mucho más finas entrecruzándose entre ellas, formando todo un entramado astrocitario, todas son inmunotinción positiva (Fig. 74).

En general los astrocitos protoplásmicos de toda la región periependimaria ventral, son los de mayor tamaño de toda la sustancia gris, y los de la zona dorsal son menos numerosos que los de la zona ventral (Fig. 75). En las zonas laterales periependimarias el número de astrocitos es también inferior al de la zona ventral, pero tienen el mismo tamaño que los de toda la zona periependimaria restante a excepción de los dorsales (Fig. 75).

Es muy frecuente encontrar en estas zonas, vasos de gran tamaño, con importantes relaciones astrocitarias protoplásmicas. En una zona lateral próxima al epéndimo (Fig. 76), se manifiesta un vaso de gran tamaño al que se aproximan varios somas astrocitarios, sobre la pared vascular y emiten prolongaciones tanto a lo largo del vaso como hacia la sustancia gris, envolviendo a somas neuronales, se trata sin duda alguna de astrocitos perivasculares y satélites. (Fig. 76).

También se aprecia que estas prolongaciones contactan frecuentemente con otras que llegan a la luz endimaria, o directamente en ocasiones ellas mismas llegan también hasta la luz del conducto endimario. En otros casos aparecen astrocitos próximos al epéndimo con un soma de diámetro promedio 8,6 $\mu$ . que envían prolongaciones tanto al vaso, como

a la luz endimaria. Lo verdaderamente importante es la relación de estos somas astrocitarios completamente adosados a la pared vascular (astrocitos satélites) con el entorno periependimario (Fig. 77).

Las prolongaciones finas que llegan al vaso procedentes de astrocitos próximos a él, forman pies vasculares a lo largo de todo el recorrido. Predominando los satélites perivasculares y perineuronales. La fibra astrocítica muestra inmunotinción positiva en todo su trayecto perivascular y perineuronal (Fig. 78).

En otras ocasiones en estas zonas laterales periependimarias se observan, astrocitos grandes que adosan sus somas próximos al epéndimo, y envían largas prolongaciones a las zonas laterales de sustancia gris, sin observar prolongaciones vasculares (Fig. 79).

Es frecuente en estas mismas zonas observar otros astrocitos perineuronales satélites con su soma y prolongaciones rodeando prácticamente todo el contorno neuronal (Fig. 80). Sin embargo, a medida que nos acercamos a las zonas más laterales próximas a la sustancia blanca, se observan largas prolongaciones astrocitarias, que se entrecruzan con las de los astrocitos fibrosos, encontrando también un nuevo tipo de astrocitos intermedios entre protoplásmicos y fibrosos, astrocitos mixtos (Fig. 81).

En general, como capa interna del epéndimo, hemos observado, tanto prolongaciones astrocitarias con diferentes formas (triangulares, redondas, alargadas) como somas astrocitarios inmunorreacción positiva situados entre los endimocitos de origen epitelial.

Como zonas endimarias: la ventral, tiene unos astrocitos grandes con unas prolongaciones que llegan hasta la misma comisura gris ventral y en ella se aprecia como un enjambre formado por la multitud de estas prolongaciones finas que se entrecruzan entre ellas, contactando entre sí en multitud de ocasiones. Los somas astrocitarios se distribuyen, con apariencia reticular, al azar por toda esta región (Fig. 82).

También las prolongaciones finas de los astrocitos fibrosos, que participan a un lado y otro del plano sagital formando la fisura media ventral se asocian a estas otras prolongaciones protoplásmicas, para formar esta comisura gris ventral. También se observan astrocitos protoplásmicos y en ocasiones astrocitos mixtos (Fig. 83).

Las prolongaciones finas de astrocitos fibrosos dorsales también participan en la formación de la comisura gris dorsal (Fig. 84).

En la comisura gris dorsal, prolongaciones de astrocitos, contribuyen a formar una frontera discontinua en la que discurren haces de prolongaciones muy finas entre la sustancia gris y blanca. En muchas ocasiones es típico observar somas de unos astrocitos aislados del cordón dorsal enviando una prolongación entre estos hacecillos. La continuidad astrocitaria es observable en el surco medio dorsal, desde el epéndimo hasta la piamadre (Fig. 85).

#### **4) SUSTANCIA BLANCA**

##### **4.1 Zona Ventral**

- 4.1.1 Limitante subpial
- 4.1.2 Fisura media ventral

##### **4.2 Zonas laterales**

- 4.2.1 Zona lateral limitante (franja subpial externa)
- 4.2.2 Zona lateral que contacta con Sustancia Gris
- 4.2.3 Zona lateral media (con núcleos y haces nerviosos)

##### **4.3 Zona Dorsal**

- 4.3.1 Zona limitante dorsal (astas dorsales)
- 4.3.2 Surco medio dorsal
- 4.3.3 Surcos paramedulares o intermedios
- 4.3.4 Haz de Goll
- 4.3.5 Haz de Burdach

#### 4.1. Zona Ventral

4.1.1 Limitante subpial. El límite externo de la sustancia blanca viene delimitado por una franja subpial de naturaleza glial. En ella se encuentran somas astrocitarios y prolongaciones densamente agrupadas; inmunotinción G.F.A.P. positiva. Debajo de la limitante subpial se observa en la periferia medular una condensación de fibras conjuntivas (Fig. 86).

Varias capas de naturaleza astroglial se han observado en esta limitante subpial de ratón adulto.

La localización de somas y prolongaciones es de dos formas en esta zona ventral:

a. Astrocitos fibrosos con los somas en la propia franja subpial. Tres tipos, atendiendo a la forma somática.

a.1. De soma triangular o poligonal, su tamaño es de  $10\mu$ ., y emiten unas prolongaciones finas a ambos lados del soma, en situación paralela al límite medular, también emiten otra prolongación mucho más larga y gruesa hacia la sustancia gris, que en ocasiones se subdivide en otras dos prolongaciones más finas. Uno de los lados de este soma de forma triangular contacta con la basal que la separa de la piamadre (Fig. 87).

a.2. De soma redondeado, de unas  $8\mu$ ., de diámetro y emiten unas prolongaciones más finas, orientadas como los anteriores, a ambos polos del núcleo y en paralelo a la limitante leptomeníngea, y emitiendo otra mucho más ancha y larga hacia la sustancia gris que se subdivide como en dos ramas paralelas (Fig. 88).

a.3. De soma ovalado, con diámetros mínimos y máximo de 5 y  $8\mu$ ., respectivamente, adosándose al límite medular según el eje opositopolar de las dos prolongaciones primarias. Generalmente emiten una sola colateral gruesa a este límite externo, pudiendo encontrarse esta prolongación indistintamente a ambos lados del soma. También envían una sola prolongación gruesa que va estrechándose paulatinamente hacia la sustancia gris (Fig. 89).

b. Astrocitos fibrosos con somas distantes de la franja subpial. Dos tipos, atendiendo a sus prolongaciones somáticas:

b.1. Los que emiten una sola prolongación fundamentalmente.

b.2. Los que emiten varias prolongaciones.

b.1. Estos pueden dividirse en otros dos subtipos:

a) De somas redondeados.

b) De somas poligonales.

b.1.a. De somas redondeados, otros dos tipos:

a) Con soma redondeado de  $8\mu.$ , de diámetro, que emiten una sola prolongación y esta última bordea al propio soma para luego dividirse en dos sentidos opuestos, incluidos en la franja subpial, con su extremo terminal hacia la sustancia gris, en una longitud mucho más corta de  $2\mu.$ , subdividiéndose en la parte terminal en otras dos o tres ramas que también se dirigen hacia la sustancia gris. (Fig. 90).

b) Con soma redondeado de  $8\mu.$ , de diámetro. También emiten como los anteriores una sola prolongación dividida en dos sentidos, pero mucho más gruesa que la anterior ( $4\mu.$ ). La prolongación que envían hacia la limitante subpial de la que participa subdividiéndose también dos ramas colaterales muy finas;  $3\mu.$  de grosor y  $6\mu.$ , de largo, la que envían hacia la sustancia gris (en este caso no se subdivide).

Es típico observar próximos a ellos los astrocitos ya mencionados anteriormente, que contactan con su soma poligonal a la limitante subpial (Fig. 91).

b.1. De somas poligonales: Dos tipos:

b.1.b.a. Disponen sus somas a una distancia mayor que los anteriores de la limitante subpial ( $9\mu.$ ), su tamaño somático es de  $(0,4)$ ,  $(0,6)\mu.$ , y también envían una sola

prolongación somática subdividida en dos sentidos hacia la limitante subpial; esta prolongación parece engrosarse al llegar a su extremo final y contrariamente hacia la sustancia gris se adelgaza y es mucho más corta (3) $\mu$ ., y además se estrecha paulatinamente. (Fig. 92).

b.1.b.b. En este otro tipo celular la distancia a la limitante subpial es todavía mayor incluso que en los astrocitos anteriores, (12) $\mu$ ., y su tamaño somático es de (0,5), (0,7) $\mu$ . Es característico también en este tipo astrocitario observar un engrosamiento de la prolongación somática hacia la sustancia gris justo en su base, en la zona inmediata al soma, dando la impresión de que las prolongaciones astrocitarias en este caso están en dos o más direcciones, siendo las ramas más numerosas y más cortas, que las anteriores (Fig. 93).

b.2. Astrocitos que emiten varias prolongaciones somáticas.

b.2.a. De soma redondeado: Disponen su soma celular a una distancia de (9)  $\mu$ ., de la limitante subpial y su soma es de (0,4), (0,6) $\mu$ . La prolongación somática que envían hacia la limitante se va engrosando paulatinamente hacia esta limitante, adquiriendo su mayor diámetro a (2) $\mu$ . del límite. Este tipo astrocitario también envía cuatro prolongaciones más, que son cortas, y mucho más finas que la anterior en sentidos contrapuestos. (Fig. 94) También podemos observar a una distancia de (6) $\mu$ ., próximos a este tipo astrocitario el tipo perteneciente a los de una sola prolongación somática del tipo, b.1.a.a..

b.2.b. De somas poligonales o triangulares: El contorno de sus somas es de sección cuadrangular o bien triangular, pero en ambos casos distan (4,5) $\mu$ ., de la limitante subpial. Los que tienen el soma con aspecto cuadrangular envían una sola prolongación somática a la limitante subpial, más fina que las otras tres que envían hacia la sustancia gris. A una distancia de 1 y 3  $\mu$ . del soma se subdividen en otras dos o tres ramas más finas, de (0,2) $\mu$ . de grosor que progresan hacia la sustancia gris en recorridos muy polimorfos (Fig. 95).

Los que tienen su soma triangular presentan también una única prolongación somática hacia la limitante subpial, de  $(3,7)\mu$ . de largo y en esta ocasión sólo envían dos prolongaciones somáticas mucho más gruesas que la anterior, hacia la sustancia gris formando un ángulo agudo entre ellas. Estas prolongaciones que van hacia la sustancia gris se subdividen en su recorrido en varias ramas mucho más finas que la de partida (Fig. 96).

La relación de estos astrocitos fibrosos con elementos vasculares es distinta a la de A. protoplásmicos, y es menos importante que en la sustancia gris.

4.1.2. Fisura media ventral: Esta zona es por donde ramas de la arteria medular anterior suben para introducirse en la médula. Es el vaso de mayor calibre de la médula, y hace que en ella se produzca una gran riqueza astrogliar.

En esta zona medular, la franja subpial G.F.A.P. positiva, cubre todo el contorno de esta fisura media ventral según una capa de sección en "Y" (Fig. 97) de tal forma que la prolongación hacia el vértice inferior de la Y es de  $140\mu$ . de largo, llega casi hasta la comisura gris ventral (Fig. 98) y los brazos superiores son el contorno o (límite) de la médula en esta zona ventral. (Fig. 97).

Entre los brazos superiores de la Y existe tejido conjuntivo laxo, restos de meninges y la arteria medular anterior que discurre de forma continua perpendicular a los cortes seriados, siendo todas estas estructuras G.F.A.P. negativas a excepción de la capa astrogliar que recubre a la arteria. (Fig. 99) La disposición de los somas astrocitarios con sus prolongaciones es similar a la observada anteriormente en la zona ventral (Fig. 97), pero con las siguientes particularidades.

a) En los brazos superiores de la Y, las prolongaciones somáticas que se dirigen hacia la sustancia gris adoptan una disposición oblicua con respecto al resto de las prolongaciones de esta zona ventral (Fig. 98). Los somas astrocitarios se disponen mayoritariamente en la propia franja subpial, enviando unas prolongaciones de  $(10)\mu$ . de largo (Fig. 99). También es frecuente encontrar astrocitos con soma ovalado a una distancia de  $(3,5)\mu$ . de esta franja;

enviando una sola prolongación hacia la sustancia gris (6,5) $\mu$  y hacia la propia franja subpial glial. (Fig. 100).

b) La zona intermedia o brazo inferior de la Y, es la zona más profunda de la fisura media ventral, en ella se localizan multitud de prolongaciones astrogliales G.F.A. positivas (Fig. 101). En ella se encuentran, ramas de la arteria medular anterior y células conjuntivas. De forma casual hemos encontrado un vaso de pequeño tamaño perteneciente a esta arteria en el que se observa un pie astrocitario vascular de forma triangular con multitud de finas fibras astrocitarias en su interior dispuesto sobre el endotelio capilar y un astrocito satélite perivascular. Nótese la positividad de la inmunoreacción en prácticamente todo el contorno vascular. (Fig. 102).

A esta zona llegan multitud de prolongaciones somáticas de astrocitos con su soma distante de ella, y también parten prolongaciones muy largas de astrocitos que disponen su soma en esta limitante.

Este último tipo astrocitario que dispone su soma en la limitante, presenta dos subtipos, atendiendo a la forma somática:

- a) Astrocitos gemelos, emiten una sola prolongación somática hacia la sustancia gris (8)  $\mu$ . y en su recorrido se puede apreciar como esta contacta con la de otro astrocito contiguo que está enviando a su vez un pie astrocitario a un vaso próximo. En este mismo vaso también se visualiza otro pie vascular mayor en una zona superior izquierda. (Fig. 103). También se observa como emiten otras prolongaciones de menor grosor longitud que la anterior a ambos lados del soma que se encuentra en el límite de esta fisura media.
- b) De soma redondeado, no se observa que envíen prolongaciones contiguas a la fisura media, aunque sí una gran zona desnuda del soma se aplica a esta fisura media. En el lado opuesto se observa un engrosamiento somático (1,5) $\mu$ . del que parten tres prolongaciones, la central es gruesa (0,8) $\mu$ . mientras la superior es mucho más delgada pero

también bastante corta; la inferior es más larga (10) $\mu$ ., y estrecha (0,3) $\mu$ . pero todas se dirigen hacia la sustancia gris (Fig. 104).

- c) En la zona próxima a la comisura gris ventral, las prolongaciones de los últimos astrocitos de la zona intermedia fisural que disponían su soma sobre esta fisura, son muy largas (30-40)  $\mu$ . y se encuentran con frecuencia ramificadas en multitud de prolongaciones más finas, presentando entrecruzamientos entre ellas (Fig. 105).

Lo típico de esta zona es que los astrocitos tienen sus somas distantes de la propia fisura media y envían algunas prolongaciones finas hacia ella. Al ser una zona tan próxima a la comisura gris ventral se pueden observar tanto astrocitos fibrosos como protoplásmicos (Fig. 106). El final de esta fisura media es de naturaleza glial y presenta una forma redondeada con multitud de prolongaciones finas que llegan a ella (Fig. 107). Su contorno es inmunoreacción positiva (Fig. 108). Con mayores aumentos, se ha visualizado en su interior una célula sanguínea.

#### 4.2. Zonas laterales medulares

En ellas se encuentra el cordón lateral; su borde externo convexo es G.F.A.P. positivo y forma la limitante glial externa que se encuentra menos marcada que en el cordón anterior y en el posterior (Fig. 109).

La sustancia blanca ventral y lateral se encuentra fragmentada por tabiques y septos y los elementos gliales mantienen frecuente relación con estos septos, ellos son el producto de la entrada y salida de las prolongaciones neuronales de sustancia blanca a la gris y viceversa, así como la localización de vasos sanguíneos (Fig. 110).

Hemos estudiado la distribución astrocitaria con respecto a tres zonas:

- 4.2.1. Zona lateral limitante (franja subpial externa).

4.2.2. Zona lateral media entre franja subpial y sustancia gris.

4.2.3. Zona lateral que contacta con sustancia gris.

4.2.1. Zona lateral limitante (franja subpial externa)

La disposición astrocitaria mencionada anteriormente para la zona ventral medular se mantiene en lo fundamental también aquí, pero con algunos detalles distintos:

- a) Las prolongaciones de los astrocitos, discurren de forma casi paralela entre las fibras del cordón, tanto las de astrocitos que disponen sus somas en la propia franja subpial (Fig. 111) como las que tienen su soma en zonas intermedias de este cordón (Fig. 112). Estas prolongaciones sin duda son probablemente las más largas de toda la médula exceptuando las de la zona marginal de Lissauer.
- b) Los somas astrocitarios que se encuentran en la franja subpial están más próximos entre sí que los subpiales de las zonas ventral y dorsal medular. (Fig. 114). Presentan dos formas características. b.1. triangulares, de (2) (4)  $\mu$ . enviando dos finas prolongaciones a ambos lados del soma, que participan en la formación de esta limitante subpial y otra mucho más gruesa que se dirige hacia la sustancia gris con un recorrido largísimo (Fig. 115. b.2. Redondeados, con (2,5) $\mu$ . de diámetro tienen una morfología somática muy parecida a los del cordón dorsal y son los que se encuentran con mayor frecuencia, en esta limitante. Sus prolongaciones se disponen de la misma forma que los anteriores (Fig. 116).
- c) A una distancia de (3 a 6)  $\mu$ . de la limitante subpial, se observa que las prolongaciones de los astrocitos que tienen sus somas en ella, se ramifican en multitud de prolongaciones más finas, en ocasiones aparecen como deshilachadas ocupando los lugares libres que dejan los axones neuronales de esta zona, contactando en multitud de ocasiones entre ellas (Fig. 117). Estas finas fibras astrocitarias no siempre parten de somas situados en la limitante, sino que es frecuente encontrar también somas emitiendo prolongaciones a ambos lados de ellos;

entremezclándose con las anteriores. Todas ellas participan agrupándose en manojos para la formación de los septos y tabiques medulares (Fig. 118). A mayores aumentos, se observa como se interrelacionan estas prolongaciones de forma muy diversa, formando un verdadero entramado astrocitario (Fig. 119).

En otros casos se observan algunas prolongaciones con un largo recorrido, llegando prácticamente a la sustancia gris, sin ramificaciones, formando un tabique medular (Fig. 120). Pero lo más frecuente es encontrarlas formando columnas, de prolongaciones asociadas. Se asocian con las que emiten unos astrocitos protoplásmicos que sitúan su soma entre los tabiques medulares, justo en el límite de la sustancia gris (Fig. 121).

4.2.2. Zona lateral media entre franja subpial y sustancia gris (Fig. 122). Esta zona está formada por todo un entramado de prolongaciones, pertenecientes a los astrocitos con soma en la limitante, o bien con el soma en la sustancia gris. Las prolongaciones que emiten algunos astrocitos de esta zona a ambos lados del soma, van estrechándose paulatinamente hasta contactar, o bien con las de otros astrocitos próximos o con las de astrocitos que sitúan su soma entre la sustancia gris y la blanca (Fig. 122).

A mayor aumento, este entramado de finas prolongaciones, se observa como ya se distribuye de forma paralela, formando los tabiques medulares. En esta zona intermedia entre sustancia blanca y gris, todavía se observan algunos somas astrocitarios, entre estos tabiques medulares, sin embargo en la zona próxima a la sustancia gris es más difícil encontrarlos (Fig. 123).

Este entramado de prolongaciones, alberga también típicos astrocitos con el soma en la zona intermedia de esta sustancia blanca, muy parecidos a los de la zona ventral. Algunos de ellos emiten una sola y gruesa prolongación que va adelgazándose paulatinamente en ambos sentidos. Otros astrocitos presentan somas redondeados, emitiendo una única prolongación en un solo sentido (Fig. 124).

4.2.3. Zona lateral que contacta con la sustancia gris. (Fig. 125). Es muy frecuente que las prolongaciones más

finas se agrupan en haces o columnas más o menos definidos, formando los septos medulares; estos discurren casi paralelos entre la limitante externa y la sustancia gris. A su llegada a ella se expande a veces como deshilachándose (Fig. 126), pero habitualmente llegan mezclándose con las de unos astrocitos intermedios, cuyo soma se localiza justo en los vértices entre los tabiques medulares de la sustancia gris (Fig. 127). Presentan dos prolongaciones gruesas que partiendo de este soma, llegan a la sustancia blanca, subdividiéndose en multitud de prolongaciones más finas, que a veces alcanzan incluso a la limitante, contribuyendo a la vez a la formación de estos tabiques (Fig. 128).

Los astrocitos intermedios que se encuentran en esta franja astrocitaria limitante entre sustancia gris y blanca, siempre envían sus prolongaciones hacia la sustancia blanca, de tal forma que su soma queda en la zona que contacta con la sustancia gris prácticamente sin prolongaciones (Fig. 128b).

En la proximidad con el asta dorsal, es frecuente observar, en este límite entre sustancia blanca y gris, la formación de prolongaciones más finas marcando la frontera entre ambas sustancias (Fig. 129).

Las diferencias morfológicas entre astrocitos fibrosos y protoplásmicos en esta zona es manifiesta, sobre todo en las prolongaciones más densas o más claras de ambos tipos; que en ocasiones contactan entre sí. (Fig. 130) Los astrocitos con somas cercanos a la sustancia gris presentan grupos opisitopolares de prolongaciones; no obstante las que llegan a la sustancia gris algunas son de corto trayecto, ramificándose en ocasiones estos haces en otras más finas en su recorrido inmediato antes de llegar a ella, y rodeando a axones de estas columnas medulares (Fig. 131).

Finalmente decir que en la zonas más próximas a las raíces dorsales, disminuye el número de astrocitos con prolongaciones también más cortas que en el resto de las zonas laterales (Fig. 132). En su llegada a la sustancia gris se observa de nuevo la clara diferencia entre astrocitos protoplásmicos y fibrosos (Fig. 133). Un dato significativo de esta zona que destacamos es el reducido diámetro que adquieren en algunos tramos estas prolongaciones astrocitarias (Fig. 134).

En las zonas laterales de sustancia blanca también hemos encontrado vasos sanguíneos, más abundantes en la zona límite con las raíces ventrales. Los dos tipos astrocitarios observados junto a estos vasos fueron los siguientes: En un primer tipo, observamos como la pared del vaso recibe varias prolongaciones finas, y una mucho más gruesa que forma un pie astrocitario con el endotelio vascular. (Fig. 135).

Un segundo tipo, corresponde a los astrocitos llamados satélite, que establece una relación topográfica entre el vaso y el soma astrocitario (Fig. 136). Profundizando más en esta relación entre el soma astrocitario y el endotelio vascular, hemos encontrado en algún corte transversal, un vaso con este tipo de astrocito, con prolongaciones que abrazan, la periferia del vaso, estableciendo contacto con el endotelio (Fig. 137). También se observan dos somas pegados al mismo vaso y otros pies astrocitario complejos (Fig. 137).

En otras ocasiones se encuentran en estas zonas laterales, coincidentes con los haces espinocerebelosos ventral y dorsal, en donde se aprecian algunas discontinuidades en la franja subpial externa, por la entrada hacia el interior medular de vasos sanguíneos, que son acompañados en su recorrido por multitud de pies astrocitarios pequeños sobre el endotelio vascular (Fig. 138). También en otros cortes se repiten vasos cortados transversalmente, con inmunotinción positiva en su contorno (Fig. 139).

#### 4.3 Zona dorsal

En ella se encuentra el cordón posterior, (Fig. 140) que transversalmente aparece como un triángulo, tiene un borde lateral contiguo al asta posterior, un borde medial separado del correspondiente del lado opuesto por un tabique neuróglíco, y un borde posterior, convexo que forma la limitante subpial glial de esta zona. Tanto el borde medial neuróglíco, como el borde posterior son G.F.A.P. positivos (Fig. 141). Un tabique subpial secundario, también G.F.A.P. positivo, divide al cordón posterior en un sector lateral o haz de Burdach y un sector central medular o medial denominado haz de Goll (Fig. 142).

El borde medial neuróglíco o septo glial medio, que se encuentra en el centro medular, separando el haz de Goll, en dos mitades, parte de la franja subpial externa medular y se extiende por todo el cordón posterior. En su comienzo en esta franja, se observa como algún astrocito fibroso dispone su soma justo en esta limitante y envía sus prolongaciones fundamentalmente hacia este surco medio. (Fig. 143)

Los astrocitos que forman este surco medio parecen estar formando una monocapa de prolongaciones muy largas y gruesas, sin encontrar ningún soma astrocitario en este surco (Fig. 144). Estas prolongaciones llegan casi hasta el final del cordón dorsal (140)  $\mu$ . en dirección hacia la comisura gris dorsal. (Fig. 145)

Los surcos paramedulares o tabique subpial secundario, que separan el haz de Goll y el haz de Burdach, parten también de la franja subpial externa de esta zona dorsal, a una distancia de (60)  $\mu$ . del surco medio medular, y son los que ofrecen esta forma triangular al cordón dorsal (Fig. 146), terminan como se aprecia en la foto unidos al surco medio medular, a modo de punta de lanza a una distancia de (130) $\mu$ . de dicha limitante externa.

En su interior contienen tejido conjuntivo laxo, similar al que rodea a toda la médula externamente, y también se observan terminaciones somáticas e incluso somas que se disponen en su contorno externo formando a modo de una nueva franja subpial. En esta imagen también se observan unos puntos gruesos, G.F.A.P. positivos que son las prolongaciones de astrocitos que se disponen orientadas perpendiculares a estos cortes transversales y por tanto sus prolongaciones están extendidas en el sentido longitudinal al epéndimo de la médula. (Fig. 146)

Las zonas más importantes del cordón posterior son los fascículos ascendentes dorsales, es decir, los haces de Goll y de Burdach, que llevan lo exteroceptivo epicrítico (tacto fino), donde la distribución astrocitaria es como sigue: Tanto en el fascículo de Goll como en el de Burdach, los astrocitos observados son diferentes a los que forman el surco medio y los surcos paramedulares. Estos son de soma más pequeño y prolongaciones somáticas muy finas que se elongan en una sola dirección una corta distancia (Fig. 147<sub>a</sub>).

El límite de este cordón posterior con la sustancia gris forma la denominada comisura gris dorsal, y en él observamos una franja de laminillas (haces) formados por prolongaciones largas y muy finas, sin observar somas astrocitarios que forman parte de esta franja. Sin embargo en otros cortes hemos observado una gran densidad astrocitaria. (Fig. 147<sub>b</sub>)

Las astas dorsales no coinciden somáticamente en todo su límite dorsal con la franja subpial, dejan un espacio en forma de cuña de sustancia blanca perteneciente al cordón dorsal que contacta con la zona marginal de Lissauer, y este se elonga (300) $\mu$ ., desde el surco medio medular. A esta distancia del surco medio dorsal las astas dorsales de sustancia gris contactan ya somáticamente con la franja subpial. Es el lugar de aferencia neuronal, donde la zona marginal de Lissauer muestra las más largas prolongaciones astrocitarias de toda la médula.

Los dos tipos astrocitarios que se observan en este espacio en forma de cuña, son astrocitos con prolongaciones cortas y gruesas, formando un entramado de prolongaciones que se entrecruzan entre sí (Fig. 148 a). Otro tipo, son los que disponen el soma en la propia limitante subpial y envían prolongaciones hacia la sustancia gris (Fig. 148 b)

La limitante subpial de esta zona es continua y está formada, tanto por somas astrocitarios que emiten prolongaciones finas colaterales a ella y otras más gruesas hacia la sustancia gris, como por prolongaciones que llegan de astrocitos con somas distantes, pero que en este caso se visualizan con menor frecuencia que en otras zonas medulares. Siendo muy frecuente encontrar multitud de ellas que parten de la franja subpial (Fig. 149).

En las zonas terminales de sustancia blanca, cercanas a la zona de contacto con las astas dorsales de sustancia gris, esta limitante subpial es más gruesa que en el resto medular, posiblemente por la multitud de prolongaciones finas que discurren hacia ella (Fig. 150). También se observa este mayor grosor de la limitante subpial en el espacio comprendido entre el surco medio medular y los surcos paramedulares. (Fig. 150). Ocasionalmente hemos visualizado un soma astrocitario muy grande en sus proximidades (Fig. 150).

## **CRONOLOGIA DE LA APARICION DE LA G.F.A.P. EN LOS ESTADIOS POSTNATALES DEL RATON**

Se han analizado los detalles observados en la sustancia gris, ependimo y sustancia blanca, con especial énfasis en los hallazgos de: Densidad astrocitaria, con apreciación visual sin estudio estadístico alguno, de variaciones morfológicas de los astrocitos en las distintas áreas de la sustancia gris en los días correspondientes a la primera semana; así como la relación de elementos gliares con neuronas y vasos en las dos sustancias. Formación de la limitante glial subpial o barrera aislante en la periferia del S.N.C., surcos medio anterior y posterior; junto a las comisuras periependimarias de sustancia blanca.

### **ESTADIO 0 (Animales recién nacidos)**

En este momento la astroglía es manifiestamente más patente que en los días 1 o 2 precedentes al parto sobre todo en las zonas periependimarias y en el límite externo de la sustancia blanca.

Los elementos gliales, están mayormente representados, en la zona supraependimaria, desarrollando finas prolongaciones y estableciendo ya contacto con vasos y somas neuronales constituyendo una población que destaca especialmente en toda la sustancia gris. En esta población se han observado células inmaduras con pocas prolongaciones, que ofrecen ya una levísima tinción G.F.A.P. positiva, con poca tinción de fondo, en sus finas expansiones (Fig. 150). Estas células acaban transformándose en elementos de sección poligonal de gran tamaño, con muchas prolongaciones G.F.A.P. positivas, es decir una maduración completa morfológica y muy posiblemente funcional.

Esta concentración periependimaria, permanece sólo en las primeras fases de la gliogénesis, unos dos días aproximadamente.

En estadios posteriores, de 2-6 días proliferan la células astrogliales de la limitante subpial, de la sustancia

blanca. Este cambio de topografía; es debido muy probablemente a modificaciones de las tensiones de crecimiento locales.

Después del nacimiento, la densidad astrogliosa es, según la observación al m.o., relativamente baja en conjunto, aunque el volumen absoluto astrocitario va en aumento. En resumen: en los dos días precedentes al nacimiento, mantiene aparentemente igual densidad astrocitaria que dos días postparto y aumenta relativamente durante el período postnatal; manteniendo siempre en aumento el volumen absoluto.

El epéndimo, no se encuentra todavía totalmente diferenciado en el nacimiento; habiéndose observado en sus bordes ventral y dorsal, especialmente, ependimocitos muy inmaduros. No se han observado tanicitos, tan frecuentes en otras especies de vertebrados inferiores. El septo dorso-medial es abundante en expansiones gliales y ependimocitos, que alcanzan la zona pial, llevando prolongaciones y vasos (Fig. 151).

Las motoneuronas, de soma poligonal y claro nucleolo, aparecen dispersas, con mayor madurez, en las áreas de los núcleos medial, ventral y lateral de la zona ventral medular (Fig. 152). En el límite de la zona ventral, entre la sustancia gris y blanca, se han observado indicios de tinción G.F.A.P. en unas finísimas prolongaciones que discurren, desde somas situados en la misma limitante, haciéndose ligeros esbozos de los futuros tabiques medulares (Fig. 152). La procedencia de estas expansiones, suele ser subpial, como muestra esta imagen; pero no siempre sucede así, sino que en bastantes ocasiones aparecen, somas astrocitarios muy próximos a motoneuronas grandes, enviando sus prolongaciones hacia la zona subpial desde el límite de la sustancia gris e incluso en días sucesivos llegarán a formar a modo de una barrera con sus somas (Fig. 153).

Por último, en visión panorámica las zonas laterales de la sustancia gris (Núcleo-latero-ventral; núcleo lateral intermedio y núcleo latero-dorsal); así como en las áreas dorsales (cabeza, cuello y base) de las astas dorsales, las imágenes astrocitarias han sido muy escasas, prácticamente

nulas, a excepción de la ya mencionada zona periependimaria dorsal.

El hecho más claro que se puede confirmar en los cortes de los animales neonatos es la positividad de la tinción G.F.A.P., aunque débil, en todas las fibras astrocitarias, también en esta imagen, se observa ya la aparición en la sustancia blanca de elementos gliales con tinción débil a la G.F.A.P. fundamentalmente en las prolongaciones de los astrocitos cuyo soma se sitúa en la capa subpial (Fig. 153 b).

#### Sustancia blanca

En este estadio, la sustancia blanca suele albergar, neuroglía de largas y escasas prolongaciones, muy abundantes en los cordones laterales y zonas marginales (Fig. 154).

A mayor aumento y en la zona ventral se observan en la capa subpial glial, claros esbozos de prolongaciones astrocitarias con sus somas prácticamente adosados a la pía, y las fibras creciendo hacia la sustancia gris. Las fibras más gruesas que se desarrollan hacia la sustancia gris, formarán los futuros tabiques medulares.

Hay prolongaciones más finas que parten de los somas y participan en la formación de esta limitante externa. Esta situación discontinua, pronto progresa hasta la condición adulta, continua y robusta. El grosor de esta limitante es de dos o más capas astrocitarias.

En la zona más profunda de la fisura media ventral, se encuentra la arteria ventral, el vaso medular de mayor calibre. En este estadio se observa también en su contorno levísima tinción G.F.A.P. positiva, normalmente este vaso emite múltiples ramas perpendiculares, que penetran a uno y otro lado del eje longitudinal en la médula. El extremo caudal de esta arteria muy adelgazada, se suele expandir en una red capilar, que termina en la comisura gris ventral (Fig. 155).

En la limitante subpial, de la zona ventrolateral, se forman algunas capas astrogliales con tinción G.F.A.P.

positiva en las fibras pero todavía negativa en parte de los somas astrogliales (Fig. 156).

En el cordón dorsal de la sustancia blanca se han observado también prolongaciones astrocíticas muy finas que se expanden en forma radial. Las más laterales alcanzan las astas dorsales de la sustancia gris. Las más frontales sin embargo, no forman límite preciso con la comisura gris dorsal. Muchas de ellas, como sucede en la zona ventral, parten de somas situados en la misma situación subpial, en otros casos se mezclan con esbozos de somas aislados entre las prolongaciones (Fig. 157).

### ESTADIO I

En este estadio tampoco pueden definirse áreas, sino zonas, dada la escasez astrogliar panorámica existente. De cualquier forma se observan ya múltiples esbozos de somas y prolongaciones de astrocitos primitivos, redondeados, con inmunotinción claramente positiva, en ambas sustancias (Fig. 158), en la zona ventrolateral subsiste la formación subpial así como la emigración por surcos medulares (Fig. 159).

Parte de la astrogliá permanece concentrada en la zona periependimaria dorsal y también se han observado finísimas prolongaciones astrocitarias que delimitan la comisura gris dorsal (Fig. 160).

Sustancia Gris: Considerada globalmente, se puede afirmar la existencia de un aparente aumento en volumen de la astrogliá en las zonas sensitivas (dorsales) y la mayor densidad astrocitaria de toda la médula. Posteriormente en adulto; estos astrocitos serán los más pequeños de toda la médula; y estas zonas sensitivas las que presenten menor densidad astrocitaria (Fig. 161).

Desde la zona marginal estos cuerpos astrogliales emigran por los septos neuróglícos, sobre todo del cordón ventrolateral hacia la vecindad de las neuronas y vasos en la sustancia blanca (Fig. 162). Más adelante aumenta la densidad de estos elementos gliales tanto en las astas ventrales como en las dorsales (Fig. 163).

Sustancia Blanca Ventral: es aquí donde primero se han observado glioblastos aislados en la fisura medular ventral y comisura ventral. Tienen prolongaciones largas y algunas muy finas, con tinción claramente positiva a la G.F.A.P.

En las proximidades de la fisura media ventral se observan esbozos de astrocitos, que sitúan sus somas justo en el límite subpial y envían largas prolongaciones teñidas débilmente hacia la sustancia gris. Esta limitante subpial es casi continua, con un solo estrato y abundantes gliocitos.

La positividad de la inmunotinción en esta época, en sustancia blanca; se hace ya mucho más patente que la sustancia gris, posiblemente porque los astrocitos fibrosos, formen antes los haces de filamentos protéicos en sus somas, que los protoplásmicos (Fig. 164).

El epéndimo: se observa todavía indiferenciado con endimocitos migrando hacia la zona dorsal. El tubo neural se encuentra todavía sin cerrar por completo, aunque en teoría ya contiene líquido cefalorraquídeo (Fig. 165).

En la zona dorsal endimaria se ha observado, una todavía inmadura condición del epéndimo y los esbozos positivos de G.F.A.P. son siempre de astroblastos, difíciles de clasificar. (Fig. 166) Los endimocitos no totalmente diferenciados se encuentran migrando desde la pia a su área definitiva en la zona dorsal en una etapa muy cercana a la presencia de tanicitos.

En la Sustancia Gris Dorsal: tanto las neuronas como los astrogliocitos, se encuentran en fase muy temprana de diferenciación. La tinción de los últimos por la G.F.A.P., es débilmente positiva y uniforme, sus somas ya están completamente formados, mientras las prolongaciones son de gran variación en tamaño y grosor, muchas de ellas todavía cortas y muy finas (Fig. 167).

En la Sustancia Gris Ventral: no hemos encontrado ningún rastro de inmunotinción positiva.

En los cordones laterales, la astroglía con sus prolongaciones se orienta fundamentalmente paralela hacia el epéndimo (Fig. 168). Muchos de estos astrocitos disponen sus

somas en la misma limitante, enviando sus prolongaciones hacia la Sustancia Gris, con el resto de las prolongaciones, contribuyen a la formación de una limitante subpial casi continua (Fig. 169).

Algunas de estas prolongaciones llegan a ser las más finas encontradas en la médula, ya que a medida que se internan en la sustancia gris van adelgazándose siendo muy difícil seguirlas hasta el final desde el soma. También otros astrocitos disponen sus somas a diferentes distancias de la limitante subpial, enviando normalmente dos únicas prolongaciones, una hacia la pía y otra hacia la sustancia gris (Fig. 170).

La presencia de estos diferentes tipos astrocitarios disponiendo sus somas en zonas intermedias entre la sustancia gris y blanca, hace que sus prolongaciones discurren entre los tubos nerviosos de la sustancia blanca, contorneados por las fibras de astroglía. También es frecuente en esta zona encontrar oligodendrocitos pero con tinción siempre negativa a la G.F.A.P.

La glía perivascular es frecuente también encontrarla en esta zona, debido al gran número de vasos que hacen su entrada por este lugar.

Sustancia Blanca Dorsal: en la zona de los cordones dorsales se observan esbozos de esas prolongaciones que en estadios ulteriores serán las más largas de la médula, especialmente en la zona marginal de Lissauer. Discurren entre fibras neuronales sensitivas y provienen de somas de pequeña y mediana talla de la sustancia blanca, en la limitante subpial (Fig. 171).

En esta zona marginal de Lissauer, se ha observado todavía una limitante subpial discontinua, con prolongaciones astrocitarias extremadamente finas, y largas que discurren incluso entre células nerviosas no diferenciadas en la sustancia gris (Fig. 172).

Los surcos del cordón dorsal, tienen prolongaciones astrocitarias muy cortas y tenues, pero con multitud de somas que se disponen en fila. En los cortes transversales, los

somas parecen estar casi desprovistos de prolongaciones, por estar desarrollados perpendicularmente al corte (Fig. 173).

También hay astrocitos cuyos somas, están completamente adosados a la pía, con una única prolongación gruesa hacia el límite entre sustancia gris y blanca (Fig. 174). Hay también algún astrocito cuyo soma se sitúa en la sustancia gris y envía una prolongación larga que atraviesa la sustancia blanca hasta contactar con la zona subpial (Fig. 175). Posiblemente este tipo de prolongaciones astrocitarias son las que más contribuyen a la formación de los futuros tabiques medulares.

## ESTADIO 2

Se mantiene la condensación periependimaria dorsal y una mayor densidad astrogliar en las zonas dorsales que en la zonas ventrales de la sustancia gris (Fig. 176).

Epéndimo: básicamente se mantiene la condensación periependimaria dorsal (Fig. 177). La mayoría de estas células ependimarias emiten una única prolongación, hacia la comisura dorsal, sin llegar a la zona subpial. La zona inicial de las prolongaciones tiene un grosor considerable y van adelgazándose en otras más finas que discurren entre los somas neuronales. La densidad astrocitaria en esta zona es aparentemente tan grande que resulta difícil determinar el trayecto de todos estos procesos (Fig. 177). Obsérvese el límite entre sustancia gris y el cordón dorsal de sustancia blanca (Fig. 177 flechas).

En este día se constatan nuevas y más gruesas prolongaciones astrogliales de la sustancia gris dorsal aunque los astrocitos protoplásmicos de la sustancia gris en general están muy diseminados, pero presentan todos tinción positiva hasta en sus prolongaciones más finas (Fig. 178). en esta zona medial, también a un lado y otro, se observan grandes neuronas en un mayor grado de maduración (Fig. 178).

En la comisura gris dorsal se observan igualmente una serie de astrocitos, que con sus somas y finas prolongaciones, delimitan parcialmente a la sustancia gris; otros astrocitos de mayor tamaño se hacen visibles en los alrededores de esta comisura (Fig. 179).

El epéndimo permanece sin terminar el proceso de diferenciación en ambas zonas dorsal y ventral y algunos de los endimocitos muestran una tinción positiva en sus prolongaciones que emigran hacia la zona dorsal y muy escasamente hacia la ventral (Fig. 180).

Otro tipo astrocitario de mayor tamaño somático y prolongaciones más gruesas, se orientan, con sus somas hacia las zonas de los cordones laterales medulares (Fig. 180).

En el área dorsal sólo los endimocitos del septo glial medio, llegan al epéndimo; migrando desde la zona subpial (Fig. 181).

Los surcos paramedulares o dorsolaterales, determinan zonas interseptales con astrocitos fibrosos, cuyas prolongaciones ocupan una mayor superficie que en las otras zonas dorsales y su soma se localiza en la región septal, algunas prolongaciones se adaptan al septo y discurren entre los somas. La densidad astrocitaria es muy superior en los haces más externos de Goll, que contactan con las astas de sustancia gris y estas prolongaciones astrocíticas serpenteantes de fino calibre adoptan ya una disposición radial con respecto al eje medular (Fig. 181). La estructura astrogliar de los surcos paramedulares, en esta zona dorsal se mantiene muy parecida a la del día I.

Es el surco medio dorsal, por donde emigran, los endimocitos desde la pía hasta el epéndimo justo a su paso por el comienzo de la sustancia gris, se han observado un par de ellos (Fig. 182) (flechas), aunque también es frecuente encontrarlos en la trayectoria desde la comisura gris hasta el epéndimo.

La distribución astrocitaria radial, se mantiene en lo fundamental, a excepción de somas incipientes con prolongaciones más cortas que en las zonas anteriores descritas (Fig. 183). Se han observado también astrocitos que delimitan estas dos zonas; comisura gris y cordón dorsal (Fig. 183).

La limitante subpial, de esta zona dorsal, también presenta estos astrocitos, con los somas en la parte más

periférica y suelen enviar una única prolongación gruesa hacia las astas dorsales de sustancia gris (Fig. 184).

Se aprecia otro tipo astrocitario con su soma en una zona intermedia, y envían una prolongación fina hacia la limitante y otra más gruesa hacia la sustancia gris (Fig. 185) recordando a los de la zona ventral y laterales. Los tipos astrocitarios, en esta fase tan temprana de desarrollo, son todavía poco diferenciados; por ello son una inmunotinción G.F.A.P. débil, pero ya positiva (Fig. 185).

En este cordón dorsal no hay fragmentación alguna, con excepción del surco glial medio y los surcos paramedulares.

En las zonas laterales periependimarias, la densidad astrocitaria decrece y sólo se observan incipientes prolongaciones finas (Fig. 186).

Algunos astrocitos de estas astas dorsales, envían al menos tres o más prolongaciones tenues hacia el soma de neuronas diferentes, ramificándose desde el mismo soma (Fig. 187). Las prolongaciones cortadas transversalmente, aquí se traducen en puntuaciones de tinción positiva, aunque también aparezcan escasos somas astrocíticos (Fig. 188).

Sustancia Gris Ventral; en la zona más próxima a la comisura gris ventral, se han observado somas astrocitarios redondeados, que emiten prolongaciones muy finas con tinción positiva (Fig. 189).

Las neuronas motoras, con formas poligonales, todavía no se observan perfectamente diferenciadas. Entre las prolongaciones neuronales aparecen somas astrocitarios pequeños que emiten cortas prolongaciones (Fig. 190).

La condición más o menos indiferenciada de estas células hace a veces muy difícil discernir si son astrocitos interneuronales, satélites o bien oligodendrocitos perineuronales (Fig. 191).

En un área próxima a la zona periependimaria ventral se observan astrocitos satélites perineuronales, así como finas prolongaciones astrocitarias con positividad muy débil (Fig. 192).

También se han observado algunas prolongaciones astrocitarias incipientes perineuronales que abarcan dos o tres somas neuronales y otras puntiformes entre los somas neuronales. (Fig. 193).

En general, en la zona ventral ya se han observado, por primera vez, somas astrocitarios aislados, con finas prolongaciones G.F.A.P. positivas.

En la limitante de las zonas, ventrales y laterales de la sustancia blanca, pero no en la posterior se encuentran elementos astrogliales, en relación con los futuros septos (Fig. 194).

En la zona más profunda de la fisura media ventral se localizan multitud de finas prolongaciones astrogliales que todavía no se observan claramente formadas (Fig. 195).

En general, los cordones ventral y laterales de la sustancia blanca medular, se encontraban fragmentados por tabique y septos, que son el producto de la entrada y salida de prolongaciones neuronales desde la sustancia gris a blanca y viceversa, acompañados por elementos gliales que mantienen frecuente relación con ellas.

En zonas subpiales más próximas a la fisura media ventral, se han observado astrocitos que disponen sus somas a variables distancias de la pia, e incluso algunos en la misma franja subpial. Las prolongaciones son muy largas, y se van adelgazando a medida que discurren hacia la sustancia gris. Es muy frecuente, su bifurcación a poca distancia del soma; discurrendo entre las neuronas y oligodendrocitos, estos últimos con tinción negativa (Fig. 196). También se observan motoneuronas grandes en el límite con la sustancia blanca y una disposición astrocitaria subpial más madura que en estadios anteriores (Fig. 196).

En este estadio también se observa una lámina superficial de células meníngeas que rodean externamente a la capa subpial (Fig. 196).

Estas prolongaciones astrocitarias subpiales al llegar a la sustancia gris se expanden en finas prolongaciones sin

que se marque con precisión un límite entre ambas sustancias, blanca y gris (Fig. 197).

Entre la sustancia blanca ventral y el comienzo de las laterales se ha observado la entrada de unas prolongaciones astrocíticas muy largas y finas hacia el epéndimo, que se expanden a su llegada a la sustancia gris, posiblemente, aunque no se observe de forma clara acompañan la entrada de un vaso (Fig. 198).

En general, los astrocitos de esta zona subpial, forman hasta tres capas astrocíticas:

- a) Algunos somas están adosados a la pía y envían ramificaciones muy finas hacia la sustancia gris.
- b) Otros se encuentran en zonas intermedias; y desarrollan prolongaciones hacia ambos lados.
- c) Otros los más inmaduros, se encuentran más próximos a la sustancia gris y envían una prolongación corta hacia la sustancia blanca, manteniendo la misma disposición que en adulto (Fig.198).

Zonas Laterales de la Sustancia Blanca; la franja subpial, está formada por somas alineados de forma continua en ella, y envían de forma paralela sus prolongaciones hacia la sustancia gris (Fig. 199). Posiblemente aunque todavía incipientes, pero sean las prolongaciones más largas de la médula.

Recorriendo este territorio lateral hacia el epéndimo se han observado, otros astrocitos que no disponen su soma alineados en la propia franja subpial, sino en zonas alejadas de ella, pero también envían sus prolongaciones, de tamaño muy largo hacia la sustancia gris fundamentalmente (Fig. 200).

También es frecuente observar como un estroma de prolongaciones astrocíticas con tinción incipiente que abarca todas estas zonas medulares. La limitante subpial de la zona dorsal es más fina y presenta somas y prolongaciones astrocitarias más diferenciadas (Fig. 201). Sin embargo no

existen puntuaciones tinción positiva pertenecientes a prolongaciones transversales al corte.

### ESTADIO 3

En general, en este día se mantiene prácticamente la misma glioarquitectura, que la del día anterior. El epéndimo permanece indiferenciado en sus zonas dorsal y ventral, se observa una concentración astrocitaria en la zona periependimaria dorsal de la sustancia gris próxima a la comisura y como excepción se aprecia una densidad algo mayor de astrocitos grandes en la zona ventral periependimaria con una proliferación ya muy marcada de los astrocitos fibrosos de la sustancia blanca. Especificando más, en estos aspectos fundamentales hemos realizado las siguientes caracterizaciones específicas de las zonas:

Sustancia Gris: zona ventral, en esta zona se han observado las motoneuronas multipolares y bipolares ya diferenciadas (Fig. 202). Sin embargo el número de somas y prolongaciones astrocitarias en esta zona ventrolateral es todavía escaso (Fig. 203), a excepción de la zona más medial medular próxima a la fisura media, correspondiente a las áreas de los núcleos latero-ventral y medio-ventral anterior y posterior, donde los componentes astrocíticos si bien son todavía de pequeño tamaño, sí son más numerosos, y con unas prolongaciones abundantes y finas (Fig. 204).

Muchos de los astrocitos observados en esta zona son perineuronales incipientes y con inmunotinción positiva en su propio soma (Fig. 205).

En la zona periependimaria ventral, ya aparecen también astrocitos aislados grandes, con prolongaciones de longitud y grosor superior a los de la zona dorsal (Fig. 206). Su distribución periependimaria es muy dispersa sobre todo en las áreas más laterales (Fig. 206).

Estas prolongaciones astrocíticas son todavía tenues a la inmunotinción, encontrando incluso otras transversales al corte (Fig. 207).

Zona Periependimaria Dorsal; existe aquí, una concentración astrocítica, entre la comisura gris dorsal hasta el epéndimo, todavía indiferenciado.

La positividad a la inmunotinción no sólo llega a los astrocitos, que parecen iniciar la formación de la comisura dorsal, sino a aquellos que alcanzan la limitante subpial y posiblemente a ependimocitos en proceso migratorio (Fig. 208).

En el borde del Cordón dorsal con la sustancia gris se encuentran astrocitos, que marcan este límite con sus somas y prolongaciones muy largas y finas (Fig. 209). No obstante a pesar de la inmadurez morfológica de neuronas y gliocitos, ya se detectan los astrocitos y ependimocitos por la inmunotinción positiva.

El surco medio dorsal es el lugar de emigración celular hacia la zona subpial, especialmente con astrocitos fibrosos, dispuestos en forma aleatoria en los bordes de este surco (Fig. 210). Por último aparecen otras prolongaciones todavía más finas hacia las zonas laterales medulares, para formar la futura comisura gris dorsal (Fig. 210).

Los diferentes tipos celulares que migran por el surco medi dorsal, se observan en la Fig. 211.

Esta, sustancia gris dorsal, integra áreas de los núcleos de Stilling-Clarke, núcleo propio, sustancia gelatinosa de Rolando y núcleo de Waldeyer, en las que el grado de indiferenciación celular es todavía considerable, por lo que las tratamos de una forma global. Sin embargo, matizar que en la sustancia gelatinosa, el número de astrocitos encontrados es mínimo, mientras que en el núcleo de Stilling-Clarke y núcleo propio se mantienen los de soma redondeado con cortas prolongaciones (Fig. 212), y en el núcleo de Waldeyer se han observado otros de prolongaciones más largas y gruesas que partiendo del soma, unas veces se dirigen a una sola dirección y en otras se ramifican desde el mismo soma (Fig. 213). Predomina siempre la dirección paralela de estas prolongaciones y la formación de envolturas en torno al soma de neuronas (Fig. 214).

Sustancia Blanca: Zona Ventral; la mayoría de los astrocitos de esta zona se disponen en la capa subpial formando una barrera muy fina, adosada a una capa gruesa de tejido meníngeo. Algunos astrocitos menos diferenciados, se les ha observado en fases mitóticas, como dividiéndose, con una elongación fina entre los dos somas astrocitarios (Fig. 215).

En esta época, es difícil diferenciar un límite concreto entre sustancia gris y blanca; pero los astrocitos se disponen de forma mayoritaria en el límite subpial, desarrollando prolongaciones de orientación indefinida (Fig. 216).

La densidad astrocitaria, se hace aparentemente mayor en las proximidades de la fisura media ventral.

En la zona dorsal, la distribución astrocítica se mantiene en lo fundamental como en días anteriores, con los somas dispuestos en el límite medular, enviando prolongaciones cortas y gruesas hacia la sustancia gris. Esta capa subpial se conserva todavía discontinua.

En las zonas laterales, es quizás el lugar medular donde mayor abundancia de prolongaciones somáticas se aprecia; su distribución tal y como sucedía en estadios anteriores, es prácticamente de paralelismo entre ellas, a lo largo de la médula (Fig. 217).

También se han observado aquí los típicos astrocitos con prolongaciones unidireccionales hacia la sustancia gris, pero mucho más cortas que las anteriores. Su densidad es mayor en las proximidades de esta sustancia gris (Fig. 218).

La vascularización en este área es ya muy frecuente al igual que sucede en estadios posteriores. Nótese como la pared vascular ya presenta esbozos de pies vasculares y un astrocito perivascular satélite con inmunotinción positiva (Fig. 219). También se ha observado un vaso cortado transversalmente, presentando en su pared una forma triangular a modo de pie astrocitario (Fig. 220).

#### ESTADIO 4

En este estadio se han observado cuatro aspectos generales que difieren de los de estadios anteriores:

- a) Presencia de astrocitos perineuronales satélites, interneuronales y perivasculares somáticos (satélites), con un grado de diferenciación mayor que días anteriores.
- b) El epéndimo, se encuentra prácticamente cerrado, aunque todavía en las zonas ventral y dorsal existe un grado de indiferenciación.
- c) Se observa una mayor vascularización generalizada en toda la médula.
- d) La zona ventral periependimaria presenta ya astrocitos muy dispersos y poco numerosos con prolongaciones más largas y ramificadas que los de la zona dorsal, son mayores de tamaño.

Especificando más en la sustancia gris ventral; se han observado astrocitos de grandes dimensiones, con prolongaciones más gruesas que las de la zona dorsal, pero con un número escaso de ellas, sin embargo ya se observan motoneuronas bien diferenciadas (Fig. 221).

En las zonas laterales de la sustancia gris, la densidad astrocitaria también es aparentemente escasa, y sólo se observan prolongaciones aisladas; ocasionalmente en una zona próxima al núcleo medial lateral. Se ha observado un astrocito incipiente en prolongaciones perineuronales satélites (Fig. 222). También en las mismas zonas laterales se ha encontrado un astrocito satélite de este mismo tipo, pero con menor tamaño, enviando sus incipientes prolongaciones en un solo sentido (Fig. 223).

En una zona próxima a la sustancia gris dorsal; se observan mayor número de elementos astrocitarios que las dos anteriores, siendo la zona próxima a las laterales la que tiene mayor densidad; sin embargo este número decrece a medida que nos situamos en la zona central de las propias astas dorsales; su tamaño somático también es similar con respecto a los de la zona ventral y lateral.

Ocasionalmente, se han observado en esta zona dorsal dos tipos astrocíticos: los perineuronales en área próxima al núcleo propio (Fig. 224) y los interneuronales también próximos a esta misma zona (Fig. 225). Sin embargo, lo más frecuente es encontrarlos dispersos, entre los espacios neuronales, con multitud de prolongaciones distribuidas al azar (Fig. 226).

También se ha observado como algunas prolongaciones astrocitarias que contactan dos somas de astrocitos distintos (Fig. 227). (Posiblemente debido a procesos de división celular). La relación entre oligodendrocitos y prolongaciones astrocitarias, se hace también manifiesta en esta zona (Fig. 228).

Las astas dorsales medulares, en un área próxima a la zona marginal de Lissauer, se presentan con múltiples formas astrocitarias fibrosas, entre los somas neuronales de la sustancia gris (Fig. 229).

Sustancia Blanca; las prolongaciones y los somas astrocitarias presentan un desarrollo similar a los de edades adultos, encontrando una inmunotinción claramente positiva (Fig. 230).

Su distribución en la zona ventral y lateral de la médula se mantiene como en días anteriores, presentando somas astrocitarios en el límite subpial (Fig. 231) y también se observan formas interneuronales de gran tamaño (Fig. 232).

Especificando más en la sustancia blanca dorsal, la distribución astrocítica permanece similar a días anteriores. Las prolongaciones astrocitarias aparecen más intensamente teñidas y su número es superior (Fig. 233). En zonas próximas a los surcos paramedulares existe una mayor densidad astrocitaria, y algunas prolongaciones forman parte de ellos (Fig. 234).

La limitante subpial, alberga una población astrocitaria con sus somas en el límite externo enviando sus prolongaciones de forma paralela, a un área próxima a la zona marginal de Lissauer (Fig. 235).

Los surcos paramedulares, al igual que el surco mediodorsal (central), presentan en su interior, varios astrocitos en fila, con repetición periódica de sus somas. Las prolongaciones tienen todas un trayecto uniforme, se van ramificando en los surcos y se entrecruzan con otras de astrocitos vecinos, formando un entramado, en el que se mezclan también somas neuronales y algún vaso. En el surco medio dorsal, cerca ya de la comisura gris se han observado, estos astrocitos de pequeño tamaño con una única prolongación fina hacia la sustancia gris mezclándose con otros que posiblemente son endoteliales. Todas ellas positivas a la inmunotinción (Fig. 236). También, en la parte superior de esta imagen, se han observado, en los propios haces de Goll, prolongaciones muy finas y largas con trayectos ramificados al azar entre los somas neuronales (Fig. 236 flecha). También en esta comisura dorsal, en la sustancia gris, se observan astrocitos de mayor tamaño, que se disponen como alineados, dejando que prolongaciones del surco medio dorsal, discurren por la sustancia gris (Fig. 236).

De nuevo en la sustancia gris; el área periependimaria dorsal también presenta astrocitos grandes, y aunque en este estadio no ha sido todavía posible visualizar ningún tanicito claramente, sí se ha comprobado cierta positividad difusa a lo largo de todo este surco, sobre todo en la parte dorsal próxima al epéndimo (Fig. 237).

## ESTADIO 5

En este estadio, se comprueban cuatro rasgos de evolución:

- a) El epéndimo, está ya completamente diferenciado, en su zona dorsal. En su zona ventral, sin embargo, se aprecia todavía un espacio sin endoteliales.

En la zona dorsal, estos endoteliales, tienen largas prolongaciones únicas que parten del soma y se elongan hacia el cordón dorsal de la sustancia blanca. Probablemente son tanicitos. Los astrocitos periependimarios dorsales siguen siendo de gran tamaño y numerosos. (Fig. 238).

- b) En general, las prolongaciones astrocitarias de sustancia blanca aparecen con mayor longitud y grosor, con inmunotinción fuertemente positiva. La zona de límite entre sustancia gris y sustancia blanca presenta astrocitos de tipo mixto (intermedio). (Fig. 239).
- c) La zona ventral de sustancia gris, se encuentra todavía con un número escaso de astrocitos, aunque se diferencian de varios tipos (Fig. 240).
- d) La densidad astrocítica aumenta en las zonas laterales periependimarias, con respecto a días anteriores, que prácticamente no se encontraban astrocitos visualizables maduros. Ocasionalmente en esta zona se ha observado un vaso con varios tipos astrocitarios perivasculares (Fig. 241).

Por áreas en; la sustancia gris ventral, la zona próxima a la fisura media es la que se presenta algo más poblada de astrocitos, sin embargo en la zona central, esta población desciende drásticamente, para volver a aumentar en la zona ventral lateral más alejada de la fisura media. Los somas de neuronas motoras se han observado con grados de mayor madurez y se hacen claramente diferenciables de los somas astrocitarios (Fig. 242).

En esta zona ventral lateral, más alejada de la fisura media, se han observado entre las motoneuronas diferentes tipos astrocitarios: astrocitos gemelos, con sus somas enfrentados; astrocitos perineuronales, e incluso algunos satélites (Fig. 243). Las motoneuronas son bipolares y multipolares, bien diferenciadas, sobre todo en la zona próxima a la sustancia blanca, la densidad astrocitaria en este límite también aumenta (Fig. 243).

La limitante subpial, alberga astrocitos fibrosos dispuestos en dos o tres capas, con sus somas a diferentes distancias, del límite medular. La capa más profunda es de imagen puntiforme en los cortes transversales, esta capa es siempre la que contacta con la sustancia gris (Fig. 243).

En las zonas laterales de la sustancia gris; el número de astrocitos se incrementa, sobre todo en las zonas periependimarias. Ocasionalmente se ha observado un astrocito

perineuronal satélite, con su soma próximo al soma neuronal (Fig. 244).

Esta proliferación astrocítica, en zonas laterales, corresponde a la densidad de células indiferenciadas observadas en días precedentes; también se hace patente de forma comparativa, la intensidad de color en la inmunotinción (Fig. 245).

En las zonas periependimarias laterales, se han observado astrocitos de gran tamaño, que envían todas sus prolongaciones en sentido inverso al epéndimo, dejando su soma enfrentado a él (Fig. 246).

En esta misma imagen, la capa externa del epéndimo formada por los ependimocitos, envían prolongaciones con inmunotinción positiva, y en la capa subependimaria se observan células astrocitarias que contactan con la luz del epéndimo, mediante prolongaciones, así como otras se elongan hacia la dorsal medular, también con inmunotinción positiva (Fig. 246).

En las zonas dorsales de sustancia gris la densidad astrocitaria, es más alta que en estadios precedentes, y a medida que se alcanzan territorios próximos a la sustancia blanca, esta densidad aumenta. Ocasionalmente, se han observado dos tanicitos que envían largas prolongaciones inmunotinción positiva, desde el propio epéndimo hasta la sustancia blanca (Fig. 247). Nótese que el epéndimo en su zona ventral sigue sin diferenciarse completamente.

A medida, que se recorren las astas dorsales hacia la sustancia blanca, se observan diferentes tipos astrocitarios, y agrupaciones entre ellos (Fig. 248). Siendo frecuente encontrar prolongaciones muy finas de astrocitos dispersos, pero con inmunotinción claramente positiva (Fig. 249). Ocasionalmente también hemos visualizado astrocitos interneuronales (Fig. 250).

Sustancia Blanca: la limitante subpial ventral, al igual que la fisura media, se observa claramente diferenciada, con una intensa inmunotinción positiva. Los astrocitos fibrosos así como sus prolongaciones más finas son fácilmente visualizables. Sin embargo, la arteria medular, que discurre

en el fondo de la fisura media y proporciona ramas que ingresan en el interior medular, es claramente negativa a la inmunotinción (Fig. 251).

Zonas laterales de Sustancia Blanca: contrariamente, a lo encontrado en adulto, las prolongaciones fibrosas son más cortas que las de la zona dorsal y ventral medular. También su densidad es menor, y no parecen mantener esa disposición de paralelismo encontrada en adulto. La disposición de fibras ramificadas, en la zona lateral-ventral, es prácticamente la misma que presenta la zona ventral, sin embargo no se observan nítidamente tabiques y septos medulares en esta zona (Fig. 252).

Zonas dorsales de la Sustancia Blanca: la limitante subpial es continua, con astrocitos que disponen sus somas en este límite y emiten sus prolongaciones hacia el centro medular (Fig. 253).

La comisura, que separa las dos sustancias, muestra un componente astrocitario que simula formar, con sus prolongaciones muy finas, una especie de barrera astrocitaria (Fig. 254).

A medida que se desplaza la observación hacia las zonas laterales, se comprueba, que la limitante subpial, sigue siendo completamente continua, a expensas de los somas, y prolongaciones astrocitarias (Fig. 255). A mayores aumentos en esta misma zona se observa como prolongaciones más gruesas se bifurcan en otras más finas de curso serpenteante, hasta llegar al límite de la sustancia gris; donde desaparecen (Fig. 256).

En una zona todavía más lateralizada, también en este límite entre sustancia gris y blanca se observan prolongaciones de astrocitos fibrosos prolijamente ramificadas; drásticamente terminan su recorrido medular al llegar al límite con la sustancia gris (Fig. 257). Más hacia el interior medular se observan otros tipos astrocitarios, los protoplásmicos de sustancia gris; con tinción débil.

En la zona marginal de Lissauer, aunque las prolongaciones astrocitarias todavía no alcanzan la misma

longitud que en adulto, si se han observado ya agrupadas estas fibras (Fig. 258).

A mayores aumentos, en algunos tramos de la limitante subpial, de forma ocasional, se han observado somas astrocitarios enfrentados a la misma limitante enviando sus prolongaciones hacia la sustancia gris. Encima de estos somas y prolongaciones astrocitarias se han observado otros tipos celulares conjuntivos, de forma aislada; que rodean externamente toda la médula (Fig. 259).

## ESTADIO 6

La característica más importante en este estadio, es la diferenciación prácticamente completa del epéndimo; tanto en su zona dorsal como ventral. Sin embargo se sigue observando en la zona ventral, una afluencia de endimocitos indiferenciados, desde la parte terminal de la fisura media ventral, hasta la comisura ventral (Fig. 260).

Cuando estos endimocitos, forman parte del epéndimo; sus prolongaciones e incluso su propia soma son inmunotinción positiva, y hacen contacto con la luz endimaria, elongándose a su vez estas prolongaciones hacia las zonas endimarias dorsal y ventral (Fig. 261).

Esta positividad no existe en todos los endimocitos que discurren a lo largo de la sustancia gris, hasta llegar al epéndimo. Estos últimos se disponen en grupos alineados hacia la fisura ventral (Fig. 262).

Algunos astrocitos de la zona dorsal, envían prolongaciones muy largas, desde el epéndimo hacia zonas más dorsales e incluso contactan con la sustancia blanca; discurrendo por el surco medio dorsal. Probablemente estas células son ya tanicitos, aunque no completamente diferenciados (Fig. 263).

Otra característica de este estadio es la densidad astrocitaria siempre referida a la apariencia visual, que se distribuye de la siguiente forma:

- a) En la zona dorsal periependimaria: Descenso considerable del número de esos astrocitos grandes de días anteriores. Prolongación del surco medio dorsal, atravesando la sustancia gris, con numerosos astrocitos de prolongaciones largas, que se disponen alineados a él.
- b) Zona ventral periependimaria, algo más densamente poblada de astrocitos, que en días anteriores, aunque estos son todavía de pequeño tamaño, a excepción de las zonas más ventrales, donde se aprecia un considerable aumento del tamaño somático, y sobre todo, en los núcleos medial y lateral ventral, este aumento se ha observado en los que están bordeando a motoneuronas, también en esta zona la densidad astrocitaria aumenta.
- c) Zonas laterales periependimarias: densidad astrocitaria muy grande, semejante a la distribución en el adulto.

Resumiendo de forma global; aparente descenso de tamaño y número de astrocitos de la zona dorsal, aumento considerable en el número de astrocitos de las zonas laterales; y por último ligero ascenso en el tamaño somático y número de astrocitos en la zona ventral.

Especificando más, estas características por zonas medulares, observamos: Zona Ventral de Sustancia Gris; en la zona más próxima al límite con la sustancia blanca, se observa que las motoneuronas tienen un grado de diferenciación mayor que el resto de las células de esta zona. Los astrocitos de esta zona son ahora los de mayor tamaño, de la sustancia gris y su disposición respecto, a estas motoneuronas es muy variada desde perineuronal, hasta satélites, e incluso se han observado astrocitos gemelos (Fig. 264).

Dentro de esta zona la más densamente poblada de astrocitos, son las áreas pertenecientes a los núcleos laterales ventrales, tanto anterior como posterior; es decir los más próximos a la fisura media ventral (Fig. 264).

Al igual que en el estadio 5, la sustancia blanca ventral se visualiza de forma clara, con una limitante subpial, formada al menos por tres capas astrocitarias, cortadas transversalmente, más una cuarta capa de astrocitos que

disponen sus prolongaciones longitudinales según los cortes. Los puntos con inmunotinción positiva, son los más próximos al límite de la sustancia gris, y su distribución es irregular. También rodeando externamente a la sustancia blanca ventral, se observa una capa de tejido conjuntivo (Fig. 264).

En el límite entre sustancia gris y blanca, la diferencia entre astrocitos fibrosos y protoplásmicos, se hace evidente, siendo estos últimos, de soma mayor (Fig. 265). También se ha observado justo en este límite motoneuronas de gran tamaño muy diferenciadas, próximas a los astrocitos (Fig. 265).

Zonas laterales de sustancia gris; en el recorrido desde la zona ventral hacia las zonas laterales, se observa un incremento considerable en la densidad astrocitaria. Se han observado astrocitos perineuronales, y otros entre los espacios que dejan las neuronas, pero con sus prolongaciones no diferenciadas, totalmente, con inmunotinción débil (Fig. 266). Ocasionalmente, se ha detectado, un astrocito perineuronal satélite, en esta zona con su soma en contacto con el neuronal, así como otros próximos a él, desarrollando sus prolongaciones en diferentes sentidos. Es notable la abundancia de otras células más pequeñas y más intensamente teñidas por la hematoxilina, son oligodendrocitos (Fig. 267).

En la zona dorsal de la sustancia gris; en visión panorámica, se observa la desaparición de esa concentración astrocitaria periependimaria de días anteriores. Sin embargo, las elongaciones de las fibras del surco medio de sustancia blanca, llegan todavía prácticamente a la comisura gris, e incluso algunas se expanden por la sustancia gris. La distribución astrocitaria se lateraliza en los márgenes de este surco sin formar agrupación alguna. El tamaño de dichos astrocitos en esta zona ha descendido al igual que su número (Fig. 268).

La zona endimaria dorsal presenta todavía agrupaciones de endimocitos, que están migrando. Varios de ellos presentan en el soma y partes circundantes al núcleo inmunotinción positiva, pero débil. Sin embargo, el resto de esta zona son de mayor tamaño, y presentan prolongaciones astrocitarias ya diferenciadas (Fig. 269).

## ESTADIO 7

Se han observado cinco rasgos diferenciales de evolución en este día:

- 1) La sustancia gris posee a partir del 6º día, junto a los vasos y células nerviosas numerosas células astrogliales perfectamente diferenciados.
- 2) La sustancia gris ventral, presenta los astrocitos protoplásmicos más grandes de la sustancia gris y aparentemente son los más numerosos.
- 3) La sustancia gris dorsal, presenta los astrocitos más pequeños y la menor densidad astrocitaria de la sustancia gris contrariamente a lo que sucedía el día 0.
- 4) El epéndimo está completamente diferenciado, tanto en su zona dorsal, como ventral.
- 5) La sustancia blanca en general está completamente diferenciada y en general, la distribución astrogliar es prácticamente igual que en adultos.

Especificando más en estos aspectos, de distribución astrocitaria en la médula; se han observado: a) en la fisura media ventral, astrocitos que disponen, sus somas justo en su límite, enviando prolongaciones hacia la sustancia gris, otros disponen su soma a cierta distancia de ella enviando sus prolongaciones hacia este límite que la forma (Fig. 270). Su distribución es ya similar a la del adulto.

También en la zona dorsal de sustancia gris, se observa como la comisura gris dorsal está prácticamente formada, observándose prolongaciones muy finas de astrocitos que discurren hacia ella; separando sustancia gris y blanca. La elongación observada en días anteriores del surco medio dorsal por donde, discurrían los elementos gliales parece haber desaparecido (Fig. 271). Sin embargo en la zona ventral endimaria se siguen observando endimocitos con prolongaciones únicas y largas que partiendo prácticamente de la luz endimaria se elonga hacia la fisura media ventral (Fig. 272). El epéndimo, se observa completamente

diferenciado ya tanto en su región dorsal como ventral (Fig. 273). Las formas de los astrocitos peripendimarios que le rodean son ya prácticamente idénticas a las de ratón adulto (Fig. 274).

Las zonas laterales de sustancia gris, al igual que el día anterior presentan gran densidad astrocitaria, observándose de nuevo varios tipos astrocíticos (Fig. 275). La zona ventral periependimaria de la sustancia gris, se observa con gran densidad astrocitaria, predominando astrocitos de gran tamaño (Fig. 276).

También en el límite de separación entre sustancia gris y blanca se han observado motoneuronas multipolares y distintos tipos astrocitarios bastante bien diferenciados. (Fig. 277). Astrocitos perineuronales satélites, astrocitos perineuronales, perivasculares satélites (Fig. 278).

La distribución astrocitaria, en este día alcanza gran similitud con la de ratón adulto por lo que aquí damos fin a la descripción de M.O., dado que en los siguientes estadios no hemos encontrado diferencias destacables.

#### RESULTADOS CON EL METODO DE GOLGI

Las sales de plata se depositan en el soma y en las más finas prolongaciones astrocitarias (Fig. 279).

La limitante subpial, dependiendo de la zona medular que se trate, presenta diferente disposición astrocitaria, así en la zona ventral, se han observado varias capas astrocitarias, dispuestas horizontalmente. (Fig. 280). Sin embargo, en las zonas laterales medulares se observa una única capa con escaso número de astrocitos. (Fig. 281).

La distribución de estas capas, se mantiene idéntica a la anteriormente citada para la inmunotinción. En los

astrocitos que disponen sus somas en una zona intermedia, entre la pía y los más alejados, se ha observado como prolongaciones de distintos astrocitos contactan entre sí (Fig. 282). Además otras prolongaciones de estos mismos astrocitos son enviadas hacia los vasos sanguíneos próximos.

En visión panorámica, la fisura media ventral y la zona dorsal de sustancia blanca, presentan una gran densidad en prolongaciones astrocitarias mientras, que en la sustancia gris el número de astrocitos es muy bajo (Fig. 283). En esta misma imagen, de forma casual, también se ha observado un pequeño capilar Fig. 283 flecha.

En la zona dorsal de sustancia blanca a nivel de los haces de Burdach, se ha observado un vaso con un importante componente astrocitario; en relación con la pared vascular. (Fig. 284).

En esta misma zona dorsal se observa también otro vaso, con una capa astrocitaria perivascular completa. (Fig. 285).

A mayores aumentos, dependiendo del enfoque del microscopio se observan diferentes prolongaciones astrocitarias. Así en la (Fig. 286), varias prolongaciones que parten de otras próximas al soma astrocitario, contribuyen a la formación de esta capa perivascular completa. En esta misma zona, con distinto enfoque se observan nuevas prolongaciones del mismo astrocito (Fig. 287).

**RESULTADOS DE MICROSCOPIA ELECTRONICA**

## MICROSCOPIA ELECTRONICA

Nuestras observaciones con el microscopio electrónico han sido preliminares. Estamos convencidos de la necesidad de seguir profundizando en este campo de investigación, tratando de correlacionar nuestras observaciones histoquímicas del microscopio óptico con el electrónico.

Sin embargo, pareció aconsejable esta primera aproximación para irnos iniciando y partir en el futuro de bases ya establecidas. Nuestras observaciones han estado referidas a características muy generales, pero que permiten un apoyo parcial a lo descrito con anterioridad.

Los astrocitos aparecen en microscopía electrónica con un aspecto claro en comparación con la electrodensidad de otras estirpes celulares tales como las neuronas, oligodendrocitos y microglía (Fig. 288, 289, 290, 291). Los núcleos presentan una cromatina de aspecto granuloso muy disperso, con escasas acumulaciones, salvo las clásicas de la posición interna de la membrana nuclear. Su citoplasma está compuesto en su mayor parte por haces de gliofilamentos. Dentro de cada célula estos haces guardan un mismo patrón de distribución, pero pueden variar de un astrocito a otro, como hemos podido observar en cortes transversales de prolongaciones astrocitarias (Fig. 290).

En aquellos territorios citoplásmicos en que la densidad de los gliofilamentos es menor se observan ribosomas, algunas cisternas golgianas, pequeñas mitocondrias, fragmentos de retículo endoplásmico rugoso escasamente desarrollado y algún gránulo osmófilo de difícil interpretación con posible apariencia de lisosoma primario. En algunos casos es de destacar la evidencia de poros nucleares (Fig. 291) cuyo aspecto morfológico responde al modelo tradicional del complejo del poro.

Las prolongaciones astrocitarias, tal y como queda reflejado con las técnicas metálicas y con las histoquímicas, delimitan en ocasiones, territorios ocupados por varias neuronas. En estas prolongaciones todo el citoplasma está ocupado por los haces de gliofilamentos sin apenas espacio para la presencia de orgánulos citoplásmicos (Fig. 292).

La definición del concepto de agioglioma aplicado a la glía astrocitaria implica una estrecha relación morfofuncional entre el astrocito y el vaso sanguíneo. La observación de esta relación puede verse plasmada sea por la apariencia del soma astrocitario, o bien por la prolongación astrocitaria y la membrana basal perivascular.

Las prolongaciones que rodean al vaso, según vimos en microscopía óptica responden a dos modelos: uno de ensanchamiento en forma de pie vascular y otro de manguito que recubre mayor superficie del vaso. Con microscopía electrónica, también hemos podido identificar ambos modelos (Fig. 293, 294, 295). Un dato morfológico de particular interés ha sido la observación con microscopía electrónica de que en el caso de las terminaciones en vaina, la prolongación astrocitaria que circunda al vaso prácticamente no contiene más que haces de gliofilamentos (Fig. 293, 294).

En el vaso de pies vasculares, la prolongación astrocitaria acaba en un ensanchamiento apiramidado (cuya base se dispone hacia el vaso) en el interior de la cual se observan gliofilamentos, ribosomas, alguna mitocondria y pequeños fragmentos de retículo endoplásmico rugoso (Fig. 295). En el caso previamente descrito hay que considerar además que el núcleo astrocitario está muy próximo a la base del pie vascular y de otro lado que el soma astrocitario se une, en este caso mediante tres desmosomas bien diferenciados, a otro elemento astrocítico próximo (Fig. 295).

Un hecho que hemos observado en varias ocasiones, dentro de la sustancia blanca medular, ha sido la presencia de capilares con una configuración especial. Se trata de capilares cuyo endotelio está nítidamente rodeado por la correspondiente basal, bien desarrollada. Ahora bien, sobre este basal se apoyan uno o dos elementos celulares a su vez rodeados de otra membrana basal (Fig. 296). El endotelio capilar presenta un territorio, probablemente el correspondiente a la zona nuclear, bastante prominente hacia el lumen y emitiendo pequeñas microvellosidades hacia el mismo. La imagen tal y como la hemos observado nos sugiere la referida a los pericitos o células de Rouget. (Muchos autores han interpretado, que estas células, una vez atravesada la

correspondiente membrana basal, podrían originarse los elementos microgliales).

En la sustancia blanca, la norma es la presencia de oligodendrocitos en relación con las prolongaciones mielínicas (Fig. 297). Sin embargo, no es raro, tal y como describimos con anterioridad a propósito de la observación en microscopía óptica, que en microscopía electrónica encontramos astrocitos dispersos entre los haces mielínicos (Fig. 298).

La presencia de astrocitos entre los haces mielínicos con microscopía electrónica nos ofrece los siguientes detalles: un soma con el núcleo bien diferenciado y escaso citoplasma perinuclear; las prolongaciones largas, finas, totalmente cargadas de gliofilamentos (imagen plenamente correspondiente a la de un astrocito fibroso). Estas prolongaciones delimitan territorios ocupados por los haces mielínicos. Dependiendo del plano del corte, además de las prolongaciones nítidamente visualizables procedentes del soma, se pueden observar otras prolongaciones parciales igualmente interpuestas entre los haces mielínicos (Fig. 298).

Uno de los aportes más interesantes de la aplicación de la M.E. al estudio de los astrocitos, por desconocido en la microscopía óptica y por su trascendencia funcional, fue el descubrimiento de las llamadas laminillas astrocitarias. Se trata de evaginaciones de la membrana astrocitaria, generalmente procedentes de las prolongaciones visibles en microscopía óptica, y que en su interior no contienen más que astroplasma. Estas laminillas astrocitarias carecen de contenido en orgánulos e incluso de gliofilamentos, si bien en el inicio de su origen pueden observarse. La disposición de las laminillas astrocitarias es muy variable: aislada, formando estratos, formando disposiciones meándricas etc. En general, delimitan a otras estructuras.

En la Fig. 299, se puede observar como de una prolongación astrocitaria, ocupada por gliofilamentos y alguna mitocondria y escasos ribosomas se produce una evaginación que a su vez se escinde en otras de menor diámetro y contenido amorfo. En este caso concreto, las prolongaciones con distinto calibre se encuentran interpuestas entre dos somas neuronales. En el detalle de la

Fig. 300 se observa con nitidez los distintos grados de desarrollo de los distintos tipos de prolongaciones astrocitarias, siendo consideradas como laminillas únicamente las de menor diámetro y contenido.

No hemos observado un patrón uniforme en cuanto a su distribución y disposición. Sin embargo, y comparando con otros datos que conocíamos por la bibliografía, nos ha resultado de particular interés lo que hemos dado en llamar disposición meandrinosa (Fig. 301, 302). En estos casos los sistemas de membranas astrocitarias se repliegan en su recorrido, incluso los espacios intermembranosos se fusionan en ocasiones, mientras que en otros se dilatan. En estas circunstancias de laminillas meandrinosas hemos observado, como puede constatarse en las imágenes, la existencia de pequeños desmosomas (Fig. 301).

En aquellos casos en que hemos observado dilataciones, se produce una apariencia edematosa, con zonas más dilatadas y otras más estrechas (Fig. 303). En esta situación las laminillas están interpuestas entre un elemento neural y el neurópilo circundante.

La coexistencia entre laminillas astrocitarias de disposición paralela y otras meandrinosas o de repliegue, ha sido observado en un mismo territorio (Fig. 304). Si bien estos hechos serán analizados en la discusión, ya podemos indicar que dado que las laminillas astrocitarias contribuyen a la creación del microambiente necesario para el perfecto desarrollo funcional de las neuronas, su morfología no es más que el resultado de su adaptación territorial. La presencia de uniones entre laminillas, anteriormente citadas, supondría un elemento añadido en la compactación de todo el sistema interactivo neurona-astrocito.

## DISCUSION

La característica más importante en el soma de los astrocitos, es la presencia de gliofibrillas, detectadas ya con M.O. y más tarde con el M.E. Se trata de unos filamentos de unos 10 nm. de diámetro. También el soma de las células de glía epitelial, muestra los mismos filamentos, bien independientes o agrupados en haces.

Un estudio más profundo de estos gliofilamentos demostró (Palay y cols. 1962) que son túbulos, cuya pared tiene un grosor de 2 o 2,5 nm. rodeando a un hueco central y constando (Wuerker, 1970) de cuatro subunidades densas, embebidas en una matriz oscura. El perfil de estos filamentos no es liso, sino que tiene unos apéndices cortos, que a veces, parecen formar puentes entre los filamentos adyacentes.

Lazarides, 1982, ha realizado una clasificación global de todos los filamentos conocidos, como constituyentes de las células, agrupándolos en cinco clases:

- a) Neurofilamentos, que se encuentran, en los somas neuronales;
- b) Filamentos de vinmetina, encontrados principalmente en los somas de las células mesenquimáticas;
- c) Filamentos de desmina, predominantemente en las células de músculo liso, esquelético y cardiaco;
- d) Tonofilamentos o filamentos de queratina, presentes tanto en las células de origen epitelial, como en las propias células epiteliales adultas;
- e) Gliofilamentos, se encuentran también, tanto en las células de origen astrocitario, como en los propios astrocitos adultos.

Posteriormente han sido muchos los autores estudiosos de estos gliofilamentos, Price, y cols. (1983), Traub, (1985), Bennet y cols. (1987), Vicent, y cols. (1988), Dahl, y cols. (1989), Chabot y cols. (1990).

Ya se habían realizado, estudios acerca de la especificidad de los colorantes por estas gliofibrillas y su posterior visualización al M.O. (Vaughn y Pease 1967); (Mori y Leblond, 1969 b).

El método del Oro Sublimado de Cajal (1913) fue y sigue siendo de gran rendimiento para la demostración de las gliofibrillas, gracias a la impregnación con la Sal de Oro. En el método de Cajal se emplea Oro pardo ( $Au_2 O_3$ ) (Oxido áurico). En la modificación de Río Hortega  $Cl_3 Au$  (Cloruro áurico, amarillo).

La demostración de las diversas variantes de neuroglia se ha servido de multitud de técnicas, sin que no siempre se haya logrado una especificidad. Métodos de Weigert, Globus, Penfield, Holzer, Alzheimer, Biondi, Bielschowsky, Perdrau, pero para impregnar las gliofibrillas las más demostrativas, son sin duda las de Cajal (oro sublimado) y las de Río Hortega al carbonato de plata amoniacoal. Estas técnicas impregnan a todos los astrocitos. Río Hortega (1918).

En determinaciones bioquímicas, se han investigado, los componentes macromoleculares (proteínas, lípidos y ácidos nucleicos) de estas somas y se ha observado, que en los gliocitos se llega hasta un 60% del peso seco para los valores de las proteínas. (Hyden y Pigon, 1960) (Freyzs y cols. 1968); (Fewster y Mead, 1968); (Rose y Sinha, 1969); (Norton y Poduslo, 1971); (Sellinger y cols. 1971), (Poduslo y Norton, 1971); (Embree y cols. 1973); (Nagata y cols. 1974); (Robert y cols. 1976); (Vernadakis y Nidess, 1976); (Iqbal-Grundke-Iqbal y Wisniewki, 1977); (Hertz y Fedoroff, 1977). Ver cuadro I.

También fue dado a conocer que en tejidos inmaduros el contenido protéico que se encontraba era sensiblemente menor que en tejidos maduros (Clonet y Gaitonde, 1966).

Al mismo tiempo que se determinó la cantidad de proteína que contenían estas células de neuroglia en su soma, también se determinó su composición en aminoácidos. Cuadro II. Así en tejido de corteza cerebral madura, (Tower, 1960); (Margalis y cols. 1968); (Benjamin's y Quaitel, 1972); en una de sus primeras apreciaciones afirman, que la glutamina, a.

glutámico y a. aspártico, están presentes, en una fracción considerablemente grande, en extractos de células (somas) no neuronales (Utley, 1963), (Margolis y col. 1968), (Kelly y Dick, 1978) encuentran también G.A.B.A. (ácido-gamma-amino-butírico) abundante tanto en extractos de células neuronales como en células de neuroglía.

También se han hecho determinaciones mediante, técnicas de microdissección en medula cervical donde se encontró que, en células gliales, la glutamina el a. glutámico y el a. aspártico eran los aminoácidos más abundantes de estas células, también se encontraba algo de glicina y alanina, pero con valores más moderados (Kelly y Dick, 1978).

Una característica importante de los astrocitos, actualmente estudiada es la que concierne a condiciones patológicas, forman grandes acúmulos en su soma, de estas gliofibrillas. Hecho que tuvo una considerable importancia, para elegir tejidos patológicos en el descubrimiento y estudio de la G.F.A.P. (proteína-gliogibrillar-ácida) como proteína constituyente de estos gliofilamentos (Eng y cols. 1971).

Sobre estos filamentos, de las células de astroglía, se estudió también, su composición bioquímica y los datos que a continuación se mencionan, son los primeros que demostraron, que en realidad estos filamentos contenían siempre la G.F.A.P., como proteína típica (Tabla III) (Eng y cols. 1971). Esta proteína, glío-fibrillar-ácida (G.F.A.P.) consta de una fracción soluble y otra insoluble (que se obtenía como residuo sólido por centrifugación Eng y cols., 1971).

El número total de aminoácidos, que componen la estructura primaria y secundaria, era de 370 y los más abundantes en toda ella eran: a. aspártico, a. glutámico y alanina y los menos: histidina y prolina (Eng y cols. 1973, 1979).

Estos valores coincidían con un porcentaje marcadamente exacto, con los que anteriormente se expusieron (Cuadro II) para los somas de las células gliales. (Hyden y Pígon, 1960) (Freyzs y cols. 1968), (Fewster y Mead, 1968), (Norton y Podulo, 1971), por lo que se dedujo que en realidad se trataba de la misma proteína y por lo tanto era el mayor

constituyente de las gliofibrillas de astrocitos. (Eng y cols., 1971) (Eng y cols. 1973, 1979).

También se afirmó que esta, era una proteína ácida y simple, por sus altos contenidos en ácido aspártico y ácido glutámico pero difería fundamentalmente en su estructura de otras proteínas ácidas conocidas hasta entonces, tales como: Filarina, aislada por (Huneeus y Davison, 1970), S-100 aislada por (Cicero y cols. 1970), Tubulina, subunidad de microtúbulos aislada por (Davison y Huneeus, 1970). Sin embargo, presentaba algunas características comunes con ellas, tales como la precipitación con vinblastina, e iones calcio pero posteriormente esta propiedad se determinó que la presentaban todas las proteínas ácidas, por lo que quedó clasificada definitivamente como una nueva proteína ácida típica.

Otros datos bioquímicos acerca de esta proteína fueron: su insolubilidad en solventes acuosos (Eng y Bigbee, 1978), (Eng, 1979, 1980). Su tendencia a formar agregados homogéneos y coagregados con otras proteínas ácidas en los extractos crudos iniciales, (Dahl y Bignami, 1973 a), (Bignami y cols. 1980) y su extremada susceptibilidad a proteasas neutras (Eng y De Armond, 1982, 1983), (Ishizaki y cols. 1983). Sin embargo, no se han podido obtener unas conclusiones contundentes acerca de todos estos aspectos, por lo que todavía existe una cierta confusión, en cuanto a la caracterización completa de esta proteína.

Ya se intuyó desde el inicio, que como tal proteína constituyente estructural de los gliofilamentos podía tener un importante poder antigénico, por lo que se justificaba, el inicio de su estudio inmunológico.

Uyeda y cols. (1972), fueron los primeros que confirman este poder antigénico para la G.F.A.P. La hipótesis inmediata, después de conocer este dato de antigenicidad, fue poder producir inmunocitos, que fueran capaces de dar anticuerpos primarios frente a ella. Estos mismos autores lograron obtener anticuerpos policlonales primarios, frente a esta proteína glío-fibrillar-ácida (G.F.A.P.) en tejido humano.

En esta época habían surgido también, numerosos estudios inmunológicos, produciendo anticuerpos frente a muy distintas proteínas, con resultados positivos. Así, Warecka y Baver (1967), Hather y Macpherson (1969), Kosinski y Grabar (1969) obtienen anticuerpos primarios para extractos de proteína acuosa de cerebro completo. Moore y cols. (1968) para otra proteína típica del S.N., la S-100. Kornguth y cols. (1966) para la proteína base de la mielina, (aislada de sustancia blanca de la médula espinal en rata) y Samson y cols. (1971) Schlaepfer y Gray (1972) para la tubulina (proteína típica de los microtúbulos). Estos estudios justificaban aún más, el continuar realizando, pruebas inmunológicas acerca de las propiedades de esta proteína G.F.A.P.

Una vez que se comprobó la existencia de inmunodifusión entre la G.F.A.P. antigénica, con los anticuerpos producidos frente a ella, se procedió a realizar la Inmunolectroforesis, que es una prueba mucho más específica y además permite la comparación de bandas electroforéticas obtenidas para ella, frente a las de otras inmunoglobulinas obtenidas para otras proteínas. Obtenidas las inmunoglobulinas específicas (como anticuerpos primarios) para esta proteína (G.F.A.P.), era de indudable interés, la tentativa de visualizar concretamente los lugares de los componentes celulares de los tejidos, donde se encuentra esta proteína.

Sin embargo antes de exponer los detalles de estos apartados a seguir para su definitiva visualización, vamos a presentar más características destacadas de esta primera inmunoglobulina (anticuerpo primario) elaborada contra la (G.F.A.P.).

1º Con la técnica de inmunodifusión (de Ouchterlony, 1978), presentaba reacción (cruzada) fundamentalmente, con extractos de cerebro normal y patológico, y sin embargo no presentaba reacción con extractos de nervio periférico, ni con los de otros órganos y tejidos, Bignami y cols. (1972) Dahl y Bignami (1973 a). Este apartado actualmente no es del todo cierto dado que Alvarez, P. y cols. (1989) han encontrado reacción positiva en ganglios raquídeos de gato.

2º Las concentraciones mínimas de proteína G.F.A.P. (obtenidas de extractos de tejidos) capaces de reaccionar con el suero del anticuerpo primario obtenido fueron determinadas

y oscilaban entre 3,1  $\mu$ g (de extractos de sustancia blanca normal) y 5,4  $\mu$ g (de extractos de cerebro completo normal, es decir sustancia gris y sustancia blanca). Sin embargo con 90  $\mu$ g de extractos de cerebro completo fetal, no se obtenían líneas de precipitado (reacción), cuando lo normal era ya obtenerlos desde 5,1  $\mu$ g (con extractos de adulto) Dahl y Bignami (1973 a). Este aumento en la cantidad reaccionante del tejido fetal, es debido a su bajo contenido en astrocitos, durante estos estadios de gliogénesis ya que esta, todavía no es completa.

También se realizó un estudio para conocer la cantidad de proteína G.F.A.P. nativa, que era necesaria para producir estos anticuerpos primarios frente a ella, así Dahl y Bignami (1976) afirman que con valores inferiores a 15  $\mu$ g. esta no es antigénica. Sin embargo, Eng y Bigbee (1978) Eng (1979) confirman esta cantidad como ya claramente antigénica y productora de anticuerpos primarios.

3<sup>o</sup> Por último, otro aspecto que influía en la producción de este primer anticuerpo era el estado de degradación o proteólisis en que se encontraba esta proteína G.F.A.P. nativa. El proceso degradativo, se producía fundamentalmente en la extracción "post mortem", donde era usual, encontrar peptidos de bajo peso molecular Dahl (1976 a) Dahl y Bignami (1974), (1975), (1976). Así, en autopsia de humanos, se confirmaba esta degradación (paulatina) dando diferentes peptidos, desde los veinte primeros minutos hasta las cinco horas, para degradarse completamente a las 24 h. de su extracción (técnica de inmunoblot).

Anteriormente, ya se había demostrado su gran susceptibilidad a la tripsina, como enzima proteolítica, (Dahl y Bignami 1973 a) y también a las proteasas neutras en general (Eng y De Armond 1982, 1983). Esta degradación proteica, era producida por una proteasa, con un mecanismo dependiente del  $Ca^{++}$ , similar al que se produce con los neurofilamentos (Schlaepfer y Zimmerman 1981), (Ishizaki y cols. 1983). Así "in vitro" esta degradación, podía ser prevenida, incubando el tejido con E.D.T.A. como agente quelante del  $Ca^{++}$  y así la degradación no se producía, por el contrario, si se incubaba con cloruro de calcio 3mM. esta degradación se aceleraba, (Smith y cols., 1984).

Con todos estos datos, Eng y cols. (1985) concluyen con la afirmación, de que tanto la G.F.A.P. nativa (no degradada) como la G.F.A.P. degradada, en peptidos más pequeños, son igualmente inmunogénicas, y además sugiere que el recambio de los filamentos gliales, posiblemente esté en parte controlado por una proteasa actica, dependiente del Ca<sup>++</sup> que tiene su actuación a un pH próximo al neutro. Dato expuesto anteriormente para filamentos gliales y para neurofilamentos por Schlaepfer W.W. y cols. (1981).

Una vez obtenidas todas estas características, del primer anticuerpo anti-GFAP, también se le intentó clasificar con respecto a otras inmunoglobulinas, se observó la banda principal de precipitado en la electroforesis, la banda tiene su lugar muy próximo al de las inmunoglobulinas alfa 2. Este dato ha sido ratificado por Dahl y Bignami (1973 a) en un estudio comparativo con otras proteínas, tales como la 14-3-2, Moore y Perez, (1966), la alfa 2 - glicoproteína. Warecka. K. (1967) Warecka, K y Müller (1969), la glicoproteína 10-B, Bogoch. S (1968) y la S-100, Cicero y cols. (1970). El hecho de que esta banda principal se encuentre al nivel de las alfa 2 - globulinas, no significa que pertenezca a ellas, sino que tiene una serie de aminoácidos comunes y que su centro antigénico se encuentra en unos lugares similares a los de estas globulinas. Lo que sí, se confirmaba claramente es que esta G.F.A.P. es una proteína diferente a ellas.

La inmunohistoquímica, comenzó hace 40 años con el uso de anticuerpos conjugados con fluorescencia, para la detección y visualización de antígenos en pneumococos (Coons y cols. 1942). Posteriormente han sido aceptadas estas técnicas, lográndose una purificación de los antígenos y el marcaje con anticuerpos secundarios y terciarios.

Aislado y caracterizado el primer anticuerpo, para la proteína G.F.A.P. se logró llegar a una reacción inmunológica completa, visualizando el sitio que ocupa esta proteína en los tejidos. Se probaron comparativamente las siguientes técnicas, por varios autores: inmunofluorescencia indirecta (Coons y col. 1942) (Coons y Kaplan, M.H. 1950), (Coons y cols. 1958) inmunofluorescencia directa (Barnett y cols. 1964) (en astrocitos), (Nakane, P.K. y Pierce, G.B., 1966), (Uyeda C.T. y cols., 1972), (Stermberger, L.A., 1979), (Mason, D.Y. y cols. 1980).

Finalmente, se descubrió una nueva técnica, la peroxidasa (enzima de rábano) - antiperoxidasa (P.A.P.) (Sternberger, L.A., 1979). Esta técnica permite obtener resultados permanentes en los tejidos fijados con formol e incluidos en parafina, se puede lograr un apreciable contraste en las secciones de tejido que se procesen para el M.O.

Esta técnica peroxidasa - antiperoxidasa (P.A.P.) se comenzó en 1966, por Nakane, P.K. y Pierce, G.B., que utilizaban enzimas como marcadores de anticuerpos conjugando inmunoglobulinas con P.A.P. como marcador, abriendo así un nuevo campo en la inmunohistoquímica.

Este método original (Nakane PK y Pierce G.B. 1966) en principio no ofreció buenos resultados, ya que la producción de conjugados (inmunoglobulinas con peroxidasa) era muy baja (Modesto, R.R. Pesce, A.T., 1971) (Sternberger, L.A., 1979).

Posteriormente a Nakane P.K. y Pierce G.B. (1966), (Avrameas, S., 1969) diseñó un nuevo método para conseguir una conjugación más satisfactoria, empleando el glutaraldehído. Pero los resultados de acoplamiento para la P.A.P. con inmunoglobulinas primarias, en general no eran lo suficientemente válidos para esta reacción con las técnicas descritas hasta entonces.

El problema se ha resuelto mediante el peryodato combinado con la peroxidasa, operación que influye favorablemente a la configuración de la enzima, de tal modo que quedan grupos aldehídos libres. El sustrato natural es el agua oxigenada  $H_2O_2$ , en presencia de un donador de electrones, la 3-3' diaminobenzidina (D.A.B.).

Esta 3-3' diaminobenzidina polimerizada, era altamente insoluble, por lo que el color se mantendría indefinidamente. Estos lugares específicos del tejido (antígenos), así teñidos además adquirirían una densidad electrónica tan alta que incluso se postuló su posible visualización a M.E.

Son conocidos también varios trabajos con la inmunocitoquímica para M.E. (Roding y cols. 1980), sin embargo se cuestionaron otros problemas y desventajas de este método así se planteó qué sucedería cuando se utilizaran

estos complejos para marcar otros antígenos nuevos de interés en las mismas secciones de tejido donde previamente ya se había realizado una primera tinción. Esto sería imposible, pues los anticuerpos con peroxidasa ya que estaban unidos a sus antígenos y no se podría distinguir por el color entre los ya marcados y los nuevos a marcar.

Este hecho, condujo a hacer una selección previa de los antígenos más interesantes, a visualizar en primer lugar pero siempre de forma individual en los tejidos y también a realizar una selección química, de los anticuerpos primarios específicos de ellos, con técnicas de separación como la cromatografía de geles o precipitaciones con sulfato amónico.

Posteriormente ya se marcaba el anticuerpo elegido con la peroxidasa y se lo hacía reaccionar con su antígeno específico en las secciones de tejido.

Esta técnica, fue desechada en 1970 por Sternberger y cols. 1970, que desarrolla unos nuevos métodos enzimáticos que consistían en hacer reaccionar el primer antígeno con su primer anticuerpo específico, sin marcar con peroxidasa. A este primer anticuerpo se le hace reaccionar con un segundo anticuerpo que se unía al primero por afinidad molecular entre ellos. A este segundo anticuerpo se le hace reaccionar con un tercer anticuerpo específico de este segundo, y al final es cuando después de haber formado esta cadena de anticuerpos ya se tiñe (color marrón) con la peroxidasa, pero solo y exclusivamente a este tercer anticuerpo unido a los anteriores.

Sternberger, N.A. y cols. (1970), ideó un complejo Peroxidasa-antiperoxidasa, formado por tres moléculas de peroxidasa simple y dos anticuerpos antiperoxidasa, que tenía una estructura de pentágono de 210 Å de diámetro.

Con este complejo en la visualización del antígeno se obtenían varias ventajas en el marcaje obtenido: producir complejos de tres moléculas de peroxidasa, por cada lugar específico de antígeno, en vez de una sola molécula como ocurría en el caso anterior. El complejo posee dos fragmentos o brazos Fc de las moléculas de inmunoglobulinas que lo formaban para poder unirse al segundo anticuerpo por lo que adquiriría así una doble funcionalidad. Todo este complejo

tiene actividad enzimática con la peroxidasa y actividad antigénica con el segundo anticuerpo. Además la reacción inmunocitoquímica global quedaba reducida a menos etapas.

Por todas estas razones, nosotros hemos elegido, este método original de (Sternberger, N.A. y cols. 1970) discutido y mejorado posteriormente por (Roessman y cols. 1970), (Nakane, P.K. y Kawoi, A., 1974) y (Ludwing y cols. 1976).

Para realizar la inmunotinción de nuestro interés referida a la proteína G.F.A.P. hemos realizado algunas modificaciones. Se ha incubado el tejido, cortes de médula cervical con el anticuerpo primario específico de la G.F.A.P. Este suero ha sido producido en sangre de conejo frente a pequeñas cantidades de G.F.A.P. humana, previamente inyectadas en ellos una vez purificadas, hemos realizado dos variaciones importantes: con respecto a la metodología original se ha prolongado el periodo de incubación contra la G.F.A.P., hasta 24 horas para asegurarnos que esta proteína quedaba el máximo tiempo posible expuesta en su forma nativa al anticuerpo primario y así obtener una reacción eficaz. Hemos modificado la temperatura bajándola hasta 6°C, porque también es conocido, que la estructura molecular de los anticuerpos en su conformación proteica mantienen una capacidad reactiva mayor en sus brazos Fab, a estas temperaturas bajas. Sin embargo el pH lo hemos mantenido en un intervalo de 7,0 - 7,9 coincidiendo con los criterios de la metodología original, (pH = 7,5 - 7,8). Para ello se han empleado soluciones amortiguadas o buffer como el TRIS.

Otro aspecto tenido en cuenta, ha sido el tiempo que se invertía en la extracción del tejido, hemos comprobado que los trozos de médula a más de 10 minutos de extraerlas, sin ser expuestos al fijador daban un color muy débil, sin embargo cuando los tejidos fueron perfundidos por el arco aórtico o bien sumergido inmediatamente después de la extracción en el fijador se proporcionaron mejores resultados, con un color más intenso, en la inmunotinción global. Este gradiente de degradación para la G.F.A.P. al extraerla, también fue ratificada y estudiado por (Dahl y Bignami, 1974, 1975, 1976) y (Dahl, 1976a).

Posteriormente y una vez que nos habíamos asegurado de esta primera reacción, antígeno anticuerpo primario, se

procedió a aplicar el anticuerpo secundario utilizando la inmunoglobulina  $G_1$  (Inmunoglobulina general reactiva) obteniéndose con ella un puente entre el anticuerpo primario y el anticuerpo terciario.

Este puente se logra porque como tal inmunoglobulina, tiene dos sitios reactivos en su molécula: a) dos brazos inferiores Fab y b) su brazo superior central Fc. Estos primeros brazos Fab (de este anticuerpo secundario) son los que reaccionan con el brazo Fc libre, del anticuerpo primario obtenido en conejo, al igual que esta inmunoglobulina  $G_1$ .

Este anticuerpo primario, ya estaba previamente unido al antígeno, también por sus brazos Fab, dejando solo libre este brazo central superior Fc, para esa posterior reacción con el anticuerpo secundario.

Esta reacción del anticuerpo secundario la hemos realizado a temperatura ambiente y con un tiempo de reacción muy corto. El pH se sigue manteniendo en los mismos márgenes, de la primera reacción.

Por último, en esta reacción como anticuerpo terciario, hemos utilizado el complejo (P.A.P.) descrito por Sternberger, N.A. y cols. (1970). Este complejo P.A.P., como ya mencionamos anteriormente tiene una estructura molecular, antiperoxidasa en sus fragmentos Fab, ya que son previamente sensibilizados frente a ella, pero además mantiene la capacidad de reaccionar con el anticuerpo secundario en su brazo libre Fc.

Posteriormente en este complejo P.A.P. se polimeriza la 3-3' diaminobenzina tal y como expusimos anteriormente en los lugares específicos donde se encuentra la G.F.A.P., en el tejido ofreciendo un color marrón (café) intenso.

Pero este complejo también presenta inconvenientes: su gran tamaño molecular 210 A, por lo que en algunas ocasiones si las reacciones anteriores no son muy específicas y los anticuerpos primario y secundario no quedan perfectamente estirados este complejo puede quedar retenido entre ellos, llevándonos a resultado erróneos. Por esta razón, hemos recurrido con éxito a la preincubación de los tejidos, usando anticuerpos no específicos que rellenaran los espacios entre

los anticuerpos primarios produciéndose entre ellos solo reacciones proteína-proteína que no son específicas del antígeno en estudio, así se conseguía una homogeneidad en los brazos Fc de los anticuerpos primarios para la siguiente reacción.

En otras ocasiones en vez de estos anticuerpos no específicos, hemos utilizado simplemente proteínas inespecíficas tales como la carregenina, e incluso soluciones detergente como el tritón X-100, que se agregan al anticuerpo primario, después de haber reaccionado con el antígeno mejorando así por un lado la penetración de los siguientes anticuerpos y por otro, disminuyendo la adherencia inespecífica de éstos a los tejidos.

Este complejo también fue utilizado posteriormente por Ludwin y cols. (1976) para cortes en congelación en tejidos que contenían la G.A.P.; por Taylor y Burns (1974) en cortes de tejidos incluidos en parafina, aunque no contenían G.A.F.P. Roding y cols. (1980) lo utilizan para detectar otro antígenos en tejidos incluidos en plástico metacrilato.

Fueron Roessman y cols. (1980) los primeros que lo utilizaron, para tejidos con G.F.A.P., incluidos en parafina, aplicando también esta técnica de anticuerpos sin conjugar. Nosotros hemos compartido en lo fundamental, sus criterios metodológicos a seguir a excepción de las siguientes pequeñas modificaciones: a) nosotros mantenemos prácticamente durante toda la inmunotinción, los cortes de parafina a baja temperatura, obteniendo así mejores resultados, que incluso utilizando la congelación, como Ludwin y cols. (1976). b) Hemos observado que la inmunotinción se ve influenciada también por la edad de los tejidos, por lo que hemos adoptado los siguientes criterios de fijación: a) para animales de más de 10 días, estos han sido fijados con los aldehidos rutinarios, compartiendo el criterio de Dixon y Eng (1981) y b) para tejidos de animales desde recién nacidos hasta 10 días, hemos utilizado el fijador B5, tomada su composición de los que se utilizaban en la Escuela Histológica Española: Cajal (1913), Achucarro (1915), Río Hortega (1918), obteniendo mejores resultados que fijando por congelación o por aldehidos rutinarios (Ver Material y Métodos Grupo I).

En este último tipo de fijación ha sido necesario ir considerando, el tiempo de duración de esta fijación, el pH óptimo y el tipo de inclusión que se va a realizar, además de considerar el posterior tratamiento enzimático en secciones que se van a realizar. Desde luego en estos últimos puntos no coincidimos con el criterio de De Armond y Eng (1984) que consideran la congelación como el mejor medio de inclusión. Nosotros hemos recurrido a la parafina. c) Otro aspecto importante influyente de forma directa en los resultados de la inmunotinción han sido, las diferentes concentraciones de anticuerpos utilizadas y como referencia hemos tomado las descritas por Dixon y Eng (1981) y De Armond y Eng (1984) sin embargo nosotros hemos preferido hacer otra experimentación, basándonos en pruebas de especificidad del anticuerpo primario, y una vez conocida la concentración idónea, realizar las gráficas correspondientes a las curvas ponderales de concentración para los subsiguientes anticuerpos, obteniendo así unos resultados claros para la concentración del segundo y tercer anticuerpo.

Con la técnica inmunocitoquímica, que hemos aplicado para la proteína glial ácida, como constituyente de estas gliofibrillas, podemos confirmar su especificidad casi en un 90% de los astrocitos y por tanto nos ha sido válida, fundamentalmente para la determinación glioarquitónica de la médula cervical.

Esta técnica también es útil en la patología tumoral del S.N.C. Deck y cols. 1981. Mennel y cols. 1985, Rubinstein y cols. 1986 y progresivamente se han ido desarrollando nuevos métodos inmunocitoquímicos para el reconocimiento de astrocitos (Reyners y cols. 1982, Karschin y cols. 1986, Regan y cols. 1988, Alliot y cols. 1988 y Sasaki, y cols. 1989).

Una de las cuestiones planteadas en estudios realizados en el S.N.C. fue el estudio de células astrocitarias, que presentaban inmunotinción positiva (G.F.A.P.). Hay células gliales que en diferentes estadios de maduración presentan ya inmunotinción positiva (Ling y cols. 1973), (Ling y Leblond, 1973), (Kosaka y cols. 1986), (Schnitzer, 1988), (Levine y cols, 1988), (Ling y cols. 1989). Esta opinión también la compartimos nosotros en esta especie estudiada.

Se pensó que la proteína fibrilar ácida era específica de astrocitos fibrosos, y por lo tanto los astrocitos de la sustancia gris presentaban inmunotinción negativa (Bignami y cols. 1972) (Bignami y Dahl, 1973, 1974a, 1974b), (Uyeda y cols. 1972). Posteriormente se observó también positividad para estos astrocitos protoplásmicos (Ludwin y cols. 1976), (Bignami y Dahl, 1977), (Braak y cols. 1987) quedando así demostrado que la proteína G.F.A.P. era un excelente marcador inmunocitoquímico para los astrocitos en general (Bullon y cols. 1985).

De Armond, S.T. y cols. (1980), (1985) en un estudio para conocer la positividad de la inmunotinción para la G.F.A.P. incluídas en Araldita en células del S.N.C. afirma que fundamentalmente las células que presenten positividad son: astrocitos fibrosos normales, astrocitos protoplásmicos normales, células gliales de Bergman y astrocitos reactivos.

Sin embargo, presentan absoluta negatividad a la G.F.A.P.:

- a) Los oligodendrocitos.
- b) Las células endimarias normales, aunque nosotros hemos encontrado en edades tempranas espendimoblastos dudosamente positivos y en edades adultas claramente positivos.
- c) La astroglía de los ganglios medulares (Alvarez, P. y cols. 1989), las encuentran positivas a la G.A.F.P.
- d) Las células epiteliales del plexo coroide.
- e) Los pinocitos o pinealocitos.
- f) Las células endoteliales vasculares.
- g) Las células aracnoides.
- h) La microglía.
- i) Los macrófagos.

En la bibliografía consultada (Tapscott y cols. 1881), (Lazarides, 1982), (Tranb y cols 1985), (Bennet y cols. 1987), (Dahl y cols. 1989), a los gliofilamentos se les asigna una función de soporte estructural en las células astrogliales, es decir función citoesquelética.

Ramón y Cajal (1909-11) fue el primero en demostrar la relación de los astrocitos con somas neuronales, así como con sus prolongaciones, y les dio un valor aislante a estas prolongaciones astrocitarias. En 1913 Cajal, también afirma que estos astrocitos y sus prolongaciones se disponen escoltando a las neuronas.

Río Hortega (1928), sugiere el concepto de ANGIOGLIONA, especificando la estrecha relación que existía también entre astroglia y vasos. Posteriormente han sido muchos autores los estudiosos de estas relaciones: Polak (1965), King (1966), Spacek (1971), Palay-Chan-Palay (1974), Leibnitz y cols. (1982), Fernández y cols. (1984), Hatten, M.E. y Mason, C.A. (1986), Suárez I y Raff, M.C. (1989). ; Miller y cols. (1986), Stieber, A. y cols. (1987), Kimelberg H.K. y Norenberg, M.D. (1988).

En mamíferos, se ha afirmado que la relación entre astrocito y neurona es, por las prolongaciones astrogliales fundamentalmente, terminando estas en ocasiones en el propio soma neuronal. Palay (1958), Muganaini y Walberg (1965), Suárez y cols. (1980), Hatter y cols. (1986), Murphy y cols. (1987) o cubriendo una parte importante del soma neuronal Stensaas y Stensaas (1968b), Palay-Chan-Palay (1974) Hatten, M.E. y cols. (1986) Murphy, S. y cols. (1987).

Nosotros podemos afirmar que se han observado en ratón, zonas terminales de estas prolongaciones astrocitarias elongándose en otras muy finas y débiles a la inmunotinción, superponiéndose e incluso enfrentándose a somas neuronales, hecho que nos hace pensar que estas zonas, son el camino de crecimiento astrocitario, posiblemente relacionado, con alguna función entre estas células. King (1966) afirma que esta proximidad entre astrocitos y neuronas, se debe a los requerimientos metabólicos de estas últimas.

Brizze y Jacobs (1959) afirman que la relación glia-neurona, se incrementa con respecto a la complejidad

funcional de la zona del S.N.C. que se trate. Así nosotros hemos observado células astrogliales de pequeño tamaño en las astas dorsales de médula cervical que rodean prácticamente a las neuronas, con unas expansiones muy finas, provenientes de la parte terminal de las prolongaciones astrocitarias y en mayor número que en las motoneuronas de las zonas ventrales. Bignami, A y cols. (1984) encontraron similares resultados en astas dorsales, lumbares y torácicas de S.N.C.

Algunas prolongaciones amielínicas sin embargo, han sido observadas como englobadas (embebidas) en el soma astrocitario (Spacek, 1971) y también prolongaciones mielínicas se han observado envueltas por varias capas de prolongaciones astrogliales (Fernández y cols. 1984).

Las membranas plasmáticas de astrocitos y neuronas en unas ocasiones se observan adyacentes unas a otras, pero en otras ocasiones estas membranas están separadas por laminillas gliales. Palay (1958), Zambrano y De Robertis (1967) las encuentran en perro, Conradi (1969) en médula de gato, Murakani (1962) en ratón y Stensaas (1968) en médula de sapo. Nosotros también observamos estas laminillas gliales o lamelas en ratón y se presentan fundamentalmente en las zonas finales de las prolongaciones astrocitarias y son más grandes que las observadas por Murakani (1962) también en ratón. Guldner y Wolf (1973) acerca del número de lamelas que presentan estas prolongaciones astrocitarias, afirman que este número es mayor dependiendo del nivel de actividad de las neuronas.

Peters, Palay (1965) Pappas y cols. (1966) Conradi (1969) Peters (Palay) y Waxman (1972), Guldner y Wolf (1973) Guldner (1976), Suárez y cols. (1983), Fernández y cols. (1984), son también estudiosos de estas formaciones lamelares en distintas zonas del S.N.C. Estudios todos ellos realizados con M.E. Galambos (1965), Wolf (1970), Guldner (1976), Spacek (1971), Meshul y cols. (1988) afirman que estas lamelas están revistiendo en algunas ocasiones lateralmente las hendiduras sinápticas. Murabe y Sano (1982) atribuyen a estas prolongaciones astrocitarias la capacidad de aislar sinápsis. Bak y Choi (1974) afirman que estas lamelas astrocitarias pueden ayudar a conseguir una mejor transmisión sináptica.

Toledano y Carrato (1974) con respecto a la función de estas lamelas, advierten de la posible preservación en la polarización de la membrana neural o (la conducción del estímulo), por medio de la actividad colinesterasa encontrada en estas elongaciones gliales, impidiendo la difusión de la acetilcolina.

La astrogliá se supone hoy que tiene capacidad para evitar la libre difusión de los neurotransmisores en la sinápsis incluso para degradarlos total o parcialmente. Actualmente se conoce que sólo los engloba en las zonas postsinápticas recaptándolos, sino que además los descomponen en otras sustancias tan específicas como el glutamato. (Balaar y cols. 1977), (Berger y cols. 1977a) (Bridges y cols., 1987).

Sin embargo, Kuffler y Nocholls (1966), Trachtenberg (1970) y Pappas y Waxman (1972) afirman una función para estas lamelas sinápticas de modificadoras de la concentración de Potasio (K) influyendo también en la conducción del estímulo. Otras células astrocitarias, además de los propios astrocitos, tales como la microglía o la oligodendroglía también se relacionan con los somas nerviosos.

Así la microglía forma auténticos satélites perineuronales, que están rodeando a neuronas de diferentes tipos (Río Hortega, 1920).

También a los oligodendrocitos, se les asigna desde hace tiempo, como función principal la de satélite neuronal. (De Castro, 1946), King (1968), e incluso se afirma que esta posición de satélite perineuronal, es más frecuente que la de los propios astrocitos, Muganaini y Walberg (1965). Nosotros también hemos encontrado oligodendrocitos satélites aunque no en mayor proporción que los astrocitos.

Las células de microglía e incluso los propios astrocitos forman, o son capaces de formar, redes perisomáticas neuronales, Scharemborg (1954), Braner y cols. (1982), Lafarga y cols. (1984), Fernández B. y cols. (1984), Bodega y cols. (1985), Kesaka y cols. (1986). Otro aspecto de los astrocitos observados a M.E. es que los somas astrogliales pegados a los somas neuronales, tienen un gran número de orgánulos Muganaini y Walberg (1965). Sin embargo Muganaini

y Walberg (1965), no aprecian mayor desarrollo organular en somas adyacentes de astrocitos.

La relación entre sinápsis y prolongaciones astrocitarias ha sido estudiada en mamíferos inferiores por muchos autores De Robertis (1965), Spacek (1971) y Lieberman (1980) y también en anfibios por Carrato y cols. (1981). Nosotros hemos observado a M.E. que la relación entre prolongaciones astrocitarias y sinápsis es mayor en las neuronas sensitivas dorsales de la médula.

La relación que mantienen las prolongaciones astrogliales con las neuronas dentro de la sinápsis es en las espinas dendríticas. También en ocasiones estas prolongaciones astrogliales ocupan sinápsis degeneradas, situándose en la membrana neuronal sináptica Adams y Jones (1982).

Golgi (1911) fue el primero en decir que los astrocitos se relacionaban con los vasos sanguíneos por medio de pies vasculares, sin embargo, fue Achucarro (1913), quien posteriormente los denomina pies de implantación vascular o trompas vasculares. Ramón y Cajal (1916) intentó dar una funcionalidad a estos pies vasculares, diciendo que extraían sustancias de la sangre, por eso los denominó pies chupadores.

Son muchos autores posteriormente los estudiosos de la relación entre glía y vasos Serra (1921), King (1966), Sensharma y Amrendra (1981a). También a nivel de M.E. (Mugnaini y Walberg (1965), Kruger y Maxwell (1967) fundamentalmente destacan auténticos pies chupadores en los vasos, indicando que la envuelta perivascular en ocasiones es casi completa. Otros estudiosos de M.E. Schonbach (1969), Stensaas y Stensaas (1968b) Phelps (1972) estudian la densidad electrónica de estas prolongaciones perivasculares, afirmando que existe una abundancia de gliofilamentos, dato que nosotros también hemos visualizado por medio de la inmunotinción; Gianonatti y cols. (1984) encuentra glucógeno en estas prolongaciones.

A nivel histoquímico, Onteniente y cols. (1983) encuentra gran abundancia de G.F.A.P. en zonas perivasculares y relaciona elementos astrogliales con vasos sanguíneos, pero en ningún caso encuentra pies vasculares definidos, sin

embargo nosotros con la misma técnica, no sólo encontramos frecuentes pies vasculares, sino que incluso se visualizan a modo de gliofibrillas positivas en el interior de estos pies vasculares.

Achucarro en 1913, expone que además de pies chupadores los somas astrocitarios protoplásmicos pueden encontrarse adosados a los vasos sanguíneos, estos astrocitos perivascuales satélites, posteriormente fueron estudiados por Bairatti y Maccagnani (1950) y Onteniente y cols. (1983). Desde luego en nuestros resultados se puede apreciar que con la técnica G.F.A.P., no sólo se observan frecuentes astrocitos perivascuales satélites que adosan su soma a los vasos, sino que además en algunos casos se puede observar que la cubierta astroglial del vaso es completa, formada por varios somas astrocitarios. También se puede apreciar que el número de láminas astrogliales es mayor en los vasos de mayor calibre.

Los estudios con trazadores histoquímicos, para observar de forma clara la relación entre membranas astrocitarias y vasculares han sido realizados desde peces Gotow y Hashimoto (1984) hasta en mamíferos Reese y Karnousky (1967), Brightman y Reese (1969), De Juan y cols. (1986), Stone y cols. (1987) y Krum y cols. (1989) y a este respecto se han vertido múltiples opiniones desde que entre estas membranas existen uniones de tipo estrecho De Robertis (1965), Gotow y Hashimoto (1984), Ward y cols. (1988), hasta que la barrera hematoencefálica la forman las mismas células endoteliales del vaso. (Reese y Karnousky (1967), (Jancer y cols. 1987). Otros como Brightman y Reese (1969) observan uniones de tipo GAP, y por tanto estas prolongaciones tienen un valor secundario en la formación de la barrera hematoencefálica.

Otros autores como Dermietzel (1974), Landis y Reese (1981), Gotow y Hashimoto (1984), encuentran con criofractura, unos agregados ortogonales membranosos en estos pies vasculares y afirman que su número aumenta en algunos de estos pies vasculares. La función de estas formaciones membranosas parecen estar concebida como un sistema de transporte de partículas desde el vaso al soma astrocitario, así de Gotow y Hashimoto (1984) encuentran actividades enzimáticas en estas membranas perivascuales, lo que

ratifica su función transportadora ya intuida por S. Ramón y Cajal (1916).

También Newman (1984) (1985) y Lewis y cols. (1988) afirman que el K<sup>+</sup> absorbido por un tipo de célula astrogliar (c. de Muller), era realizado por estos sistemas membranosos de los pies chupadores. Desde luego, esta función de absorción por los pies vasculares parece clara, como función astrocitaria Phelps (1972). Sin embargo no hemos estudiado a nivel molecular esta función, pero sí a nivel de M.E. hemos observado vesículas de secreción en el límite del endotelio vascular y las prolongaciones astrocitarias.

También se ha postulado un posible papel secretor para los astrocitos por medio de estas prolongaciones perivasculares (Bodega y cols. 1986). Desde luego nosotros a pesar de haber encontrado vesículas en estos pies vasculares, observamos que estas parten de la lámina basal terminal pegada a la superficie vascular por lo que intuimos que posiblemente sean partículas emitidas a partir de la propia pared vascular.

La posesión de gliofilamentos en el soma y prolongaciones astrocitarias ha sido una característica diferencial contundente entre astrocitos y oligodendrocitos en los últimos años por carecer de gliofilamentos en su soma estos últimos, así nosotros en los resultados de este trabajo en ninguna ocasión hemos encontrado oligodendrocitos G.F.A.P. positivos.

Sin embargo en estadios postnatales donde varias estirpes celulares se encuentran indiferenciadas, ha sido difícil determinar con precisión qué estirpes pertenecían a oligodendrocitos y cuáles a astrocitos, por este grado de inmadurez. Ramón Moliner (1958) en un estudio completo acerca de este aspecto, sugiere que entre oligodendroglía y astroglía existe la posibilidad de dos formas transicionales: a) una es una forma indiferenciada y otra es una forma transicional a oligodendroglía a la que denomina oligodendrocito musgoso. Sin embargo, Palay y Chan Palay (1974) denominan a este oligodendrocito musgoso como un astrocito protoplásmico liso, estudiándolo a M.E., también Bodega y cols. (1984) confirman este parecido encontrado por

Palay y Chan Palay e incluso observan su capacidad para formar redes perineuronales.

Río Hortega (1928) ya planteaba esta idea de que existieran, formas transicionales entre estirpes gliales. De Castro (1946) encuentra oligodendrocitos con grandes similitudes morfológicas a las células astrogliales. Este aspecto también fue estudiado a M.E. por D'Agata (1950), Farquar y Hartmann (1957), Palay y Chan Palay (1974), Takahashi (1981), French y cols. (1986) Stalleup y cols. (1987), Small y cols. (1987), Holn (1989), Spranger y cols. (1989) y Ling y cols. (1989). Reyners (1982), Sijbesma y cols. (1986) y Aloisi y cols. (1988) describen las células astrogliales ricas en orgánulos como posibles formas transicionales entre oligodendrocitos y astrocitos.

Los astrocitos reactivos varían su morfología dependiendo del grado de diferenciación celular en que se encuentren e incluso son capaces de formar otras estirpes astrogliales Wendell y Smith (1986), Codina (1987), Miyake y cols. (1988). También en caso de lesión se cree que impiden la regeneración axonal Olson y cols. (1982), Mackenzie, (1983), Bignami y Eng, (1984), Raisman (1985), Giulian y cols. (1985), Linzzi y cols. (1987), (Janeczko, (1988), Hall y cols. (1989), Miyake y cols. (1989), Poltorak y cols. (1989), formando ellos mismos unos agregados ortogonales que determinan su capacidad de regeneración. Wirdle y cols. (1952), Reier (1983), Anderson y cols. (1984) afirman que en médulas regeneradas existe un gran aumento de G.F.A.P. Desde luego la función clara de estos astrocitos reactivos, hoy es desconocida con exactitud y se maneja la hipótesis de que sea reparadora de la lesión.

Anteriormente Fujita y Fujita (1964) habían propuesto a los glioblastos como células indiferenciadas, que posteriormente a su desarrollo, darán distintas estirpes de células gliales. Estos glioblastos después de sufrir varias transformaciones en las primeras fases de la gliogénesis, dejan de proliferar y se desarrollan como tales células astrogliales, Sturrock y cols, (1981).

Nosotros encontramos en los primeros días posteriores al nacimiento, una agrupación periepéndimaria dorsal, de células indiferenciadas astrogliales (glioblastos), opinión que

contrasta con la Ling (1976), Sturrock y McRae (1980), Sturrock (1981) (1982), que afirman no encontrar la génesis de las células gliales en zonas próximas al canal central. Sin embargo Sturrock (1982) encuentra dos estirpes de glioblastos, con características morfológicas diferentes, pero mitóticamente activas en conejo.

Desde luego, nosotros sólo hemos encontrado una estirpe astrogial G.F.A.P. positiva en estos estadios tempranos desde el día del nacimiento, dato que coincide con Bignami y cols. (1973), Bignami y cols. (1974), Dahl (1981), Pixley (1984) y Trimmer (1982) que afirman que la G.F.A.P. inmunotinción es útil en la demostración de cambios gliales durante el desarrollo. Pero existen otros tipos celulares indiferenciados que muestran en estos días prenatales una inmunotinción P.G.F.A. positiva, débil, que posteriormente han sido identificadas por nosotros como precursores de oligodendrocitos.

El oligodendrocito, es conocido que forma la mielina en el S.N.C. y que su maduración es un proceso lento. Mori y Leblond (1970). A los 8 o 10 días del nacimiento se produce la mielinización total del S.N.C. en rata (Mori y Leblond, 1970), (Ling y Leblond, 1973) , (Sturrock, 1974) y (Schwab M.E. 1988).

Mori y Leblond (1970), Ling y Leblond (1973) y Sturrock (1974) afirman que el oligodendrocito pasa por tres estadios antes de su maduración: fase clara, media y oscura. En nuestros resultados con M.E. mostramos claramente estos estadios en la formación de las capas de mielina.

La fase clara es la más inmadura, y a medida que evoluciona se produce una reducción del tamaño somático, una mayor complejidad de orgánulos y un incremento en su densidad electrónica. Este proceso también es visible en nuestros resultados de M.E.

Schultz y Farquar (1957) sin embargo consideraron a los astrocitos como células de citoplasma claro, debido a una mala fijación.

En posteriores estudios acerca del proceso de mielinización, se ha encontrado que la G.F.A.P. sirve como

marcador, en estados patológicos de hipomielinización en el S.N.C. por mutaciones del gen Jimpy en ratón hembra, Eng y cols. (1980), Matfield y cols. (1982), Ulrich y cols. (1983), Carroll y cols. (1987).

Ling y cols. (1973) también confirman la posibilidad de identificarlos por la presencia o ausencia de mitosis. Nosotros en este aspecto no podemos opinar porque en nuestros resultados hemos omitido este aspecto, que nos ha parecido poco contundente.

En estadios tempranos del desarrollo embrionario, cuando aún la neurogénesis no ha terminado ya existen precursores de células gliales Sturrock (1982), (1983). Estos precursores tal y como manifestábamos anteriormente no son exclusivos de células astrogliales. Sturrock en 1976 define las características atribuibles a los precursores astrocitarios y los encuentra en la médula de conejo embrionario.

Eng y cols. (1971) afirman que en el desarrollo ontogenético de los astrocitos, existen cambios en las proteínas intermedias de los gliofilamentos, existiendo algunas proteínas comunes con las neuronas, ya que se observa antigenidad cruzada.

La vinmetina y la proteína G, parecen ser dos proteínas que también están relacionadas con ellos, en los primeros estadios del desarrollo, como proteínas intermediarias de filamentos Dahl y cols. (1981), (1982), Bovolenta y cols. (1984), Kasper y cols. (1986).

Esto justifica de alguna forma que nosotros encontráramos en los primeros estadios postnatales, precursores de oligodendrocitos con P.G.F.A. positiva débil.

Aunque los gliofilamentos en adultos son considerados como exclusivos de las células astrogliales. Peters y cols. (1976). Sturrock (1976) afirma que los glioblastos suelen carecer de gliofilamentos y Salms y cols. (1982) afirman que la inmunotinción para la G.F.A.P., se produce en células con gliofilamentos o con capacidad para formarlos, porque esta proteína G.F.A.P. se puede encontrar también en estado nativo en las células embrionarias sin formar todavía los gliofilamentos.

También Schachner y cols. (1977), Monoury y cols. (1979), Salms y cols. (1982) confirman la presencia de tinción G.F.A.P positiva en células en que los gliofilamentos aún están ausentes y estudian la estrecha relación entre esta proteína y la formación de los gliofilamentos.

Nosotros, hemos observado que la positividad para la G.F.A.P. en los astroblastos fibrosos de la sustancia blanca es mucho más temprana y se hace más patente que en la sustancia gris donde esta no aparece hasta estadios de 1 y 2 días de edad. Posiblemente esto es debido a que los astrocitos fibrosos, formen antes los haces de filamentos protéicos en sus somas, que los protoplásmicos y por esta razón contengan mayores cantidades de G.F.A.P. nativa en sus somas, aunque estén sin formar todavía estos gliofilamentos. Pero por la claridad, en esta tinción de días 0 y 1, nosotros creemos que al menos algunos gliofilamentos en sustancia blanca se forman antes que en sustancia gris.

A medida que los astrocitos maduran se produce un recambio de microtúbulos por gliofibrillas, ocupando estos prácticamente todo el soma astrocitario, Vaughn y cols. (1967).

También en médula espinal se ha descrito un astrocito mixto, localizado de forma asidua entre sustancia blanca y sustancia gris Ramón y Cajal (1916), con características intermedias entre astrocito protoplásmico y fibroso, pero recientemente se ha confirmado que su morfología es más bien una adaptación morfológica por su ubicación medular, que una simple estirpe celular intermedia Bodega y cols. (1984), Gianonatti y cols. (1984). Nosotros por las imágenes obtenidas en nuestros resultados consideramos a este astrocito mixto, como un astrocito claramente protoplásmico, por su escasa semejanza con la inmunotinción a los astrocitos fibrosos.

Por último comentar que se han estudiado también los RNA mensajeros capaces de sintetizar la G.F.A.P. (proteína de nuestro interés) in vitro. Beguin y cols. (1980), Bigbee y cols. (1982), Kitamura y cols. (1987). También son muy

numerosos los trabajos realizados en cultivos celulares, Moblrey y cols. (1986), Fedoroff y cols. (1987), O'Callaghan y cols. (1989), García Segura y cols. (1989) y Watabe y cols. (1989).

## CONCLUSIONES

- 1.- La astrogliá ya aparece diferenciada en el día del nacimiento. Responde a la inmunotinción de manera muy leve porque se la puede considerar una población inmadura.
- 2.- En el día del nacimiento la astrogliá se localiza fundamentalmente en la limitante subpial de la sustancia blanca y en el territorio peiependimario dorsal.
- 3.- A partir del nacimiento, las reacciones positivas a la G.F.A.P. por parte de los astrocitos se intensifican. Los astrocitos progresivamente se van diferenciando primero en las zonas sensitivas de la sustancia gris y posteriormente en otras localizaciones.
- 4.- Los astrocitos en la médula de animales adultos, contribuyen no sólo a la formación de la limitante subpial, sino también a la configuración del tabique basal y a la delimitación del surco medio ventral.
- 5.- Existe una intensa reacción positiva a la G.F.A.P. en la sustancia blanca, en los límites de los haces medulares y en la sustancia gris en la delimitación de los núcleos. De donde se puede concluir que la astrogliá interviene en la citoarquitectura medular.
- 6.- Las prolongaciones astrocitarias hacia los vasos sanguíneos adoptan distinta configuración en la sustancia gris medular que en la sustancia blanca. En la primera se distinguen los clásicos pies vasculares, mientras que en la segunda son vainas vasculares.
- 7.- Sea cual sea su localización los astrocitos presentan distintos tipos de uniones entre ellos, incluidos los desmosomas.
- 8.- En el límite entre la sustancia blanca y la sustancia gris se han observado astrocitos con características intermedias entre los fibrosos y protoplásmicos.

- 9.- La relación entre somas neuronales o sus fibras y los astrocitos no responde a ningún patrón diferenciado, salvo el inherente a la propia constitución de una y otra sustancia.
- 10.- Por los resultados obtenidos podemos afirmar, bajo la base de la astroarquitectónica, que la astrogía contribuye a la delimitación territorial de los componentes neuronales y fibrilares en la médula y ello de manera progresiva a lo largo del desarrollo postnatal.

CONTENIDO DE AMINO ACIDOS ( $\mu$ MOL/100 mg de PROTEINA ó  $\mu$ MOL/G de PESO HUMEDO) EN CELULAS GLIARES

PREPARACION	GLUTAMICO	GLUTAMINA	GABA	ASPARTICO	GLICINA	ALANINA	TAURINA
Cantidad preparada de astrocitos a,e	2,30±0,29	0,48±0,06	0,41±0,05	0,63±0,08		0,28±0,01	
Cantidad preparada de astrocitos a,f	2,06±0,54		0,45±0,11	0,58±0,12	0,33±0,07	0,22±0,05	
Cantidad preparada de astrocitos b,g	1,84	0,56	0,72	1,00	0,48	0,30	0,60
Médula espinal microdisccionada b,h	4,29		0,66	5,34	5,18		
Cultivo primario de astrocitos c,i,n	5,56±0,40	9,66±0,47	0,06±0,01	3,82±1,97	0,75±0,12	1,37±0,15	
Cultivo primario de astrocitos c,i,o	9,92±0,93	18,94±1,76	0,06±0,01	7,44±1,53	0,71±0,08	1,67±0,19	
Cultivo primario de astrocitos a,c,j,o	11,70		0,50				0,50
Astroglia de crecimiento subcutaneo d,k	0,35	0,28	0,03	0,13	0,26	0,32	0,35
Línea celular de glioma C-6 a,l	9,00						
Línea celular de glioma C-6 a,k	3,88	0,77		0,60	5,50	2,70	1,51
Línea de glioma transformado de SV40 d,k	3,02	0,95		2,16	5,47	4,07	0,12
Cortex cerebral de recién nacido a,m	5,78±0,72	3,16±0,31	0,40±0,05	2,33±0,32	1,31±0,19	1,34±0,24	21,60±1,70
Cortex cerebral de adulto a,m	22,54		3,40	4,31			7,71
Cerebro entero de adulto a,m	13,60±0,42	4,40±0,22	2,32±0,11	3,66±0,18	1,66±0,11	1,07±0,05	4,84±0,30

a= rata, b= conejo, c= ratón, d= hamster.

e= Rose 1970, f= Nagata y cols 1974, g= Sellström y cols 1975, h= Berger y cols 1977a, i= L. Hertz P. Wuy M. Farmer (resultados no publicados), j= Schousboe y cols 1975, 1976b, 1977, k= Mokrasch 1971, l= Passonneau y cols 1976. -

CONTENIDO DE SÓLIDOS, ACIDOS NUCLEICOS, PROTEINAS Y LIPIDOS EN CELULAS GLIALES  
(pg por célula y/o % de peso seco)

PREPARACION	PESO SECO pg	DNA pg	RNA pg	PROTEINAS		LIPIDOS		COLESTEROL %	FOSFOLIPIDO %
				pg	%	pg	%		
ntidad preparada astrocitos a,g	900±77	6,7±0,3 <sup>u</sup>		401±21 <sup>m</sup>	44,4	294±16	32,6	5,2	23,35
ntidad preparada astrocitos a,h			10,3 <sup>t</sup>	411 <sup>t</sup>					
ntidad preparada astrocitos a,i	591	11,2±0,9	29,1±4,4	307	51,9	230±42	38,9		
ntidad preparada astrocitos a,j			12,6 <sup>t</sup>	767 <sup>t</sup>					
ntidad preparada astrocitos a,k			11,2±0,2	319±19					
ntidad preparada de igodendrocitos b,l	25	6,1±0,6	2,0±0,4			7±0,6	29,5		
ntidad preparada de igodendrocitos b,m					29,2		20,6	6,3	9,8
ntidad preparada de igodendrocitos c,n		5,3±0,6	1,6±0,1	47±3					
lulas gliales micro seccionadas d,o	500-2000		4-12 <sup>v</sup>		28		70		
troglio de creci- ento subcutáneo a,p	239		6,0 <sup>t</sup>	117 <sup>t</sup>	48,8				
trocitos de cul- vos primarios f,q				320-370 <sup>i</sup>					
nea celular de loma C-6 a,p			8,7 <sup>t</sup>	98 <sup>t</sup>	55,2				
nea celular de loma C-6 a,r						13,5±1,3	2,0	8,8±0,8	
nea celular de loma C-6 a,s		2,0-4,5	7-14	140-250					
nea celular NN e,r						16,1±1,4	1,7	11,6±0,9	
nea celular de glioma ferenciado que induce lomas e,p	285±18 <sup>t</sup>		5,9±0,5 <sup>t</sup>	167±3 <sup>t</sup>	58,5		8,9		

a-rata, b-ternero, c-hombre, d-conejo y f-ratón.

g- Freyza y cols 1968; h- Nagata y cols 1974; i- Norton y Poduslo 1971; j- Rose y Sinha 1969; k- Sellinger y cols 1971  
l- Poduslo y Norton 1971; m- Fawcett y Mead 1968; n- Iqbal Brundke-Iqbal y Wieniewski 1977; o- Hyden y Pignon 1960;  
p- Embree y cols 1973; q- L. Hertz y S. Fedoroff (sin publicar); r- Robert y cols 1976; s- Vernadakis y Nidees 1976;  
t- calculado en base a DNA que contiene 6,3 ó 6,6 pg/célula (Rose y Sinha 1969) pg/célula, esta es la cantidad de DNA  
por célula encontrada en la rata y probablemente aplicado para encontrar en el ratón. u- calculado en base a un supuesto  
contenido de P= 10,56 %. v- calculado para 123 pg por grupo de células gliales conteniendo de 10-30 células gliales  
w- calculado en base a un supuesto contenido de N de 16,0%. x- calculado en base de un peso molecular promedio de 775

CUADRO III

COMPOSICION EN AMINOACIDOS DE LAS PROTEINAS ACIDAS DEL SISTEMA NERVIOSO

Expresado en moles por ciento. El número de determinaciones entre paréntesis

AMINO ACIDO	G.F.A Tampón fosfato 0,05 M, pH = 8								
	INSOLUBLE		SOLUBLE						
	MS*(1)	PV*(1)	MS		GFA 1*** PV	(7) Keratina	(8) Filarina	(4) Tubulina	(9) S-100
			PPT**(1)	*(3)					
Asp °° +	9,1	9,5	9,7	10,5	8,4	8,0	13,3	10,6	11,1
Thr	4,7	5,4	4,3	4,4	3,5	3,5	5,1	5,4	4,3
Ser	5,9	6,9	4,1	4,2	4,7	5,8	8,6	6,8	5,3
Glu °° +	18,4	18,4	20,1	22,7	17,2	13,5	16,7	13,0	19,2
Pro °° -	3,0	3,2	2,4	2,2	-	2,5	2,3	5,3	0,5
Gly	4,9	5,7	3,1	3,1	4,2	4,0	5,3	8,4	4,9
Ala °° +	10,2	10,9	11,3	12,4	9,2	5,8	7,6	7,4	6,4
Val	4,5	5,9	4,2	4,1	6,0	5,0	5,0	5,8	6,9
Cys °	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4,3	1,4	2,4	1,6
Met °° -	2,0	1,3	1,5	1,5	-	0,6	5,8	2,9	2,1
Ile	3,2	3,6	3,9	3,1	-	3,1	3,5	4,5	3,2
Leu °° +	11,8	11,5	10,6	11,5	16,0	9,0	6,4	7,4	9,0
Tyr	2,8	1,4	2,4	2,4	2,7	1,8	2,0	3,4	1,6
Phe	2,7	2,5	2,2	2,3	4,8	1,5	1,6	4,1	8,5
Lys	6,0	5,4	9,6	4,8	-	7,2	8,9	4,6	9,0
His °° -	1,9	1,8	3,5	1,7	-	1,5	1,1	2,8	4,3
Arg °° +	8,5	6,7	7,2	9,2	-	23,0	5,4	5,0	1,6

\* Purificado con electroforesis en discos gel

\*\* Precipitado con sulfato amónico 32%

\*\*\* Expresado en g/100g de aminoácidos

MS = Placas viejas de esclerosis múltiple

PPT = Cicatrices post-leucotomía

PV = Capa corneal en individuos con hidrocefalia

## BIBLIOGRAFIA

ACHUCARRO, N. (1915)

De l'evolution de la neuroglie et specialement de ses relations avec l'appareil vasculaire. Trab. de Lab. Invest. Biol. XIII, 169-212.

ALLIOT, F. and PESSAC, B. (1988)

Macrophages express glial markers. Biol. Cell. 63, 109-111.

ALOISI, F., AGRESTI, C., D'URSO, D. and LEVI, G. (1988)

Differentiation of bipotential glial precursors into oligodendrocytes is promoted by interaction with type-1 astrocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 6167-6171.

ALVAREZ, M.P., SUAREZ, I., FERNANDEZ, B.

Ultrastructural features of satellite cell types in cat ganglia. I. Sympathetic ganglia. Arch. Biol. (Bruxelles) 99, 465-472 (1988a).

ALVAREZ, M.P., SOLAS M.T., SUAREZ, I., FERNANDEZ, B.

Ultrastructural features of satellite cell types in cat ganglia. II. Dorsal root spinal ganglia. Arch. Biol. (Bruxelles) 99, 473-479 (1988b).

ALVAREZ, M.P., SOLAS M.T., SUAREZ, I., FERNANDEZ, B.

Glial fibrillary acidic protein-like immunoreactivity in cat satellite cells of sympathetic ganglia. Acta Anat. 136, 9-11- (1989a).

ANDRIEZEN, W. LL. (1893)

The neuroglia. British Med. J, 427-435.

ANDRIEZEN, W. (1893)

On a system of fiber cells surrounding the blood vessels of the brain of man and mammals and its physiological significance. Int. Monat. Anat. Physiol. 10, 533-535.

AVRAMEAS, S. and TERNYCK, T. (1969)

The crosslinking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoabsorbents. Immunochemistry 6, 53-56.

AVRAMEAS, S. (1971)

Immunoenzyme techniques: enzymes as markers for the localization of antigens and antibodies. Int. Rev. Cytol. 27, 349-352.

AVRAMEAS, S. and GUILBERT, B. (1971)

A method for quantitative determination of cellular immunoglobulins by enzyme - labeled antibodies. Eur. J. Immunol. 1, 394-396.

BAIRATI, A. (1957)

Propriétés biophysiques des fibres néurogliales. C.R. Ass. Anat., 44, 113-119.

BAIRATI, A. (1958)

Fibrillar structure of astrocytes. In: W.F. WINDLE (Ed) Biology of Neuroglia, Thomas. Springfield, III. pp 66-72.

BARBER, P.C. and DAHL, D. (1987)

Glial fibrillary acidic protein (GFAP)-like immunoreactivity. Exp. Brain Res. 65, 681-685.

BARNETT, E.V., CONDEMI, J.J., LEDDY, J.R. and VAUGHN, J.H. (1964)

Gamma 2 gamma 1A and gamma 1M antinuclear factors in human sera. J. Clin. Invest. 43, 1104-1107.

BEGUIN, P., SHOOTER, E.M. and ENG, L.F. (1980)

Cell-free synthesis of glial fibrillary acidic protein. Neurochem Res., 513-521.

BENJAMIN'S A.M. and QUASTEL, J.H. (1972)

Locations of aminoacids in brain slices from the rat. Biochem. J. 128, 631-646.

BERNSTEIN, J.J. and GOLDBERG, W.J. (1989)

Rapid migration of grafted cortical astrocytes from suspension grafts placed in host thoracic spinal cord. Brain Res. 491, 205-211.

BEVER, C.T., SNYDER, D.S., ENDRES, R.O. (1989)

Activation of astrocytic lysosomal proteinases by factors released by mononuclear leukocytes. Neurochem. Res. 14, 37-41.

BIGBEE, J.W. and ENG, L.F. (1982)

Glial fibrillary acidic protein synthesized in vitro using messenger RNA from jimpy mouse spinal cord. Brain Res. 249, 383-386.

BIGNAMI, A., ENG, L.F., DAHL, D. and UYEDA, C.T. (1972)

Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. Brain Res. 43, 429-435.

BIGNAMI, A. and DAHL, D. (1977)

Specificity of the glial fibrillary acidic protein for astroglia. J. Histochem. Citochem. 25, 466-469.

BIGNAMI, A., DAHL, D. and RUEGER, D.C. (1980)

Glial fibrillary acidic protein (G.F.A.P.) in normal neural cells and in pathological conditions. In. S. FEDOROFF and HERTZ, L. Eds. Advances in cellular Neurobiology VOL-1, 285-310.

BIGNAMI, A. (1984)

The role of astrocytes in CNS regeneration. J. Neurosurg Sci. 28, 127-132.

BIGNAMI, A., and DAHL, D. (1986)

Brain-specific hyaluronate-binding protein. A. product of white matter astrocytes. J. Neurocytol. 15, 671-679.

BIGNAMI, A., ADELMAN, L.S., PERIDES, G. and DAHL, D. (1989)

Glial hyaluronate-binding protein in polar spongioblastoma. J. Neuropathol Exp. Neurol. 48, 187-196.

BJORKLUND, H., ERIKSDOTTER-NILSSON, M., DAHL, D. and OLSON, L. (1984)

Astrocytes in smears of CNS tissues as visualized by GFA and vimentin immunofluorescence. Med. Biol. 62, 38-48.

BLAKEMORE, W.F. and JOLLY, R.D. (1972)

The subependymal plate and associated apendyma in the dog. An ultrastructural study, J. of Neurocytol. 1, 69-84.

BOYES, B.E., KIM, S.U., LEE, V., and SUG, S.C. (1986)

Immunohistochemical co-localization of S-100b and the glial fibrillary acidic protein in rat brain. Neuroscience 17, 857-865.

BRIDGES, R.J., KESSLAK, J.P. and NIETO-SAMPEDRO, M. (1987)

al - (3H) glutamate binding site on glia: an autoradiographic study of implant. Brain. Research, 415, 163-168.

BRIGHTMAN, M.W. and PALAY, S.L. (1963)

The fine structure of ependyma in the brain of the rat. J. Cell. Biol. 19, 415-440.

BRIGHTMAN, M.W. and REESE, T.S. (1969)

Junctions between intimately apposed cell membrane in the vertebrate brain. J. Cell. Biol. 40, 648-677.

BROWNING, E.T. and RUINA, M. (1984)

Glial fibrillary acidic protein: norepinephrine stimulated phosphorylation in intact C-6 glioma cells. Neurochem 42, 718-726.

BULLON, M.M., ALVAREZ GAGO, T., FERNANDEZ RUIZ, B. and AGUIRRE, C. (1984)

Glial fibrillary acidic (G.F.A.) protein in rat spinal cord. An immunoperoxidase study in semithin sections. Brain Res. 309, 79-83.

BUNGE, R.P. (1968)

Glial cells and the central myelin sheath. Physiological Reviews. 48, 197-251.

CAJAL, S.R. (1899)

Textura del Sistema Nervioso del hombre y de los Vertebrados. Imprenta Nicolás Moya. Madrid.

CAJAL, S.R. (1909-1911)

Histologie du system nerveux de l'homme et des vertébrés. Vol. I et II. Edt. C.S.I.C. Madrid.

CAJAL, S.R. (1913)

Nuevo proceder para la impregnación de la neuroglía. Bol. Soc. Esp. Biol., año III, tomo II; 104-108.

CAJAL, S.R. (1913a)

Sobre un nuevo proceder de impregnación de la neuroglía y sus resultados en los centros nerviosos del hombre y los animales. Trab. Bab. Invest. Biol., XI, 219-237.

CAJAL, S.R. (1913b)

Contribución al conocimiento de la neuroglía del cerebro humano. trab. Lab. Invest. Biol., XI, 255-315.

CAJAL, S.R. (1916)

El proceder del oro sublimado de coloración de la neuroglía. Trab. Lab. Invest. Biol., XIV, 155-162.

CAJAL, S.R. (1928)

Degeneration and Regeneration of the Nervous System. Oxford. Univ. Press, London 329-396.

CAJAL, S.R. (1931)

Studes sur la neuroglia (macroglia). Trab. Lab. Inv. Biol. 27, 379-454.

CALEY, D.W. and MAXWELL, D.S. (1968)

An electron microscopic study of the neuroglia during post-natal development of the rat cerebrum. J. Comp. Neurol. 133, 45-70.

CARROL, W.M., JENNINGS, A.R. and MASTAGLIA, F.L. (1987)

Reactive glial cells in CNS demyelination contain both GC and GFAP. Brain Res. 411, 364-369.

CARRATO, A. TOLEDANO, A. and BARCA, M.A. (1981)

Postnatal development of astrocytic glia in the cerebellum of cyprinus carpio. 11th, Int. Cong of Anat. Glial and Neuronal Biology, 37-43. Ed. Alan. R. Liss. Inc.

CHI, N.H., BIGNAMI, A., BICH, N.T. and DAHL, D. (1980)

Autologous sciatic nerve grafts to the rat spinal cord: immunofluorescence studies with neurofilament and gliofilament (GFA) antisera. Esp. Neurol. 68, 568-580.

CHOI, B.H. and LAPHAM, L.W. (1978)

Radial glia in human fetal cerebrum: A combined Golgi immunofluorescent and electron microscopic study. Brain Res. 148, 295-311.

CHOI, B.H. and LAPHAN, L.W. (1980)

Evolution of Bergmann glia in developing human fetal cerebellum: A Golgi, electron microscopic and immunofluorescent study, Brain Res. 190, 369-375.

CHOI, B.H. (1981)

Radial glia of developing human fetal spinal cord: A Golgi, immunohistochemical and electron microscopic study. Develop. Brain Res. 1, 249-252.

CICERO, T.J., COWAN, W.M., MOORE, B.W. and SUNTZEFF, V.  
(1970)

The cellular localization of the two brain specific  
proteina S-100 and 14-3-2. Brain Res. 18, 25-34.

CODINA, M. (1987)

Efecto del ácido Kainico en el hipocampo del cobaya.  
Estudio histológico de las lesiones neuronales y de la  
glia reaccional. Resumen Tesis Doctoral. 1-54. Sin  
publicar.

COONS, A.H. and KAPLAN, M.H. (1950)

Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements  
in a method for the detection of antigen by means of  
fluorescent antibody. J. Exp. Med. 91, 1-13.

COONS, A.H., LEDUC, E.H. and CONNOLLY, J.M. (1955)

Studies on antibody production I Method for the  
histochemical demonstration of specific antibody and its  
application to a study of the hyperimmune rabbit. J. Exp.  
med. 102, 49-52.

COONS, A.H. (1958)

Fluorescent antibody methods. In: General Cytochemical  
methods. Vol. I. J.F. Danielli ed. Academic Press. New  
York, pp. 399-422.

COONS, A.H. (1961)

The beginnings of immunofluorescenc. J. Immunol. 87, 499-  
503.

DAHL, H.A. (1963)

Fine structure of cilia in rat cerebral cortex. Z.  
Zellforsch, 60, 369.-386.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1973a)

Glial fibrillary acidic protein from normal human brain. Purification and properties. Brain Res. 57, 343-360.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1973b).

Immunochemical and immunofluorescence studies of the glial fibrillary acidic protein in Vertebrates. Brain Res. 61, 279-293.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1974)

Heterogeneity of the glial fibrillary acidic protein in gliosed humans brains. J. Neurol. Sci. 23, 551-555.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1975)

Glial fibrillary acidic protein from normal and gliosed human brain. Demonstration of multiple related polypeptides. Biochim. Biophys. Acta 386. 41-51.

DHAL, D. (1976a)

Glial fibrillary acidic protein from bovine and rat brain. Degradation in tissues and homogenates. Biochim. Biophys. Acta 420, 142-154.

DHAL, D. and BIGNAMI, A. (1976a)

Immunogenic properties of the glial fibrillary acidic protein. Brain. Res. 116, 150-157.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1976b)

Isolation from peripheral nerve of a protein similar to the glial fibrillary acidic protein. F E B S. Letters. 66, 281-284.

DAHL, D. and BIGNAMI, A. (1977)

Effect of sodium dedecyl sulfate on the immunogenic properties of the glial fibrillary acidic protein, J. Immunol. Meth. 17, 201-220.

DAHL, D. (1981)

The vimentin - GFA. protein transition in the rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination. J. Neurosci, Res., 6, 741-748.

DAHL, D., RUEGER, D.C., BIGNAMI, A. WEBER, K. and OSBORN, M. (1981).

Vimentin, the 57000 molecular weight protein of fibroblast filaments, is the major cytoskeletal component in immature glia. J. Cell. Bio. 24, 191-196.

DAHL, D., CHI, N.H., MILES, L.E., NGUYEN, B.T. and BIGNAMI, A. (1982).

Glial fibrillary acidic protein in Schwann cells. Fact or artifact. J. Histochem Cytochem, 30. 912-918.

DAHL, D., STROCCHI, P. and BIGNAMI, A. (1982)

Vimentin in the central nervous system. A study of the mesenchymal type intermediate filament protein in Wallerian degeneration and in postnatal rat development by two - dimensional gel electrophoresis. Differentiation 22, 185-190.

DAHL, D., and BIGNAMI, A. (1982)

Immunohistological localization of desmin, the muscle-type 100 A filament protein, in rat astrocytes and muller glia. J. Histochem Cytochem 30, 207-213.

DAHL, D., GROSSI, M. and BIGNAMI, AL (1984)

Masking of epitopes in tissue sections. A study of glial fibrillary acidic (G.F.A.) protein with antisera and monoclonal antibodies. Histochemistry 81. 525-531.

DAHL, D., CROSSBY, C.J., SETHI, J.S. and BIGNAMI, A. (1985)

Glial fibrillary acidic (GFA) protein in vertebrates: immunofluorescence and immunoblotting study with monoclonal and polyclonal antibodies, J. Comp. Neurol. 239, 75-78.

DAHL, D., CROSSBY, C.J. and BIGNAMI, A. (1989)

Intermediate filament proteins immunologically related to desmin in astrocytes: a study of chicken spinal cord by two dimensional gel electrophoresis and immunoblotting. Neurochem. Res. 14, 1013-1016.

DAVISON, P.F. and HUNNEUS, F.C. (1970)

Fibrillar proteins from squid axons: microtubule protein. J. Molec. Biol. 52, 429-439.

DE ARMOND, S.J., ENG, L.F. and RUBINSTEIN, L.J. (1980)

The application of glial fibrillary acidic protein (GFA) protein immunohistochemistry in neurooncology. Path. Res. Pract. 168, 374-394.

DE ARMOND, S.J., SIEGEL, M.W., DIXON, R.G. and ENG, L.F. (1981)

Post - embedding immunoperoxidase staining of glial fibrillary acidic protein for light and electron microscopy. J. Neuroimmunol. 1, 3-15.

DE ARMOND, S.J., LEEY, L. and ENG, L.F. (1982)

Turnover of GFA protein in Jimpy and normal spinal cord. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 41, 359-365.

DE ARMOND, S.J., FAJARDO, M., NAUGHTON, S.A. and ENG, L.F. (1983)

Degradation of glial fibrillary acidic protein by a calcium dependent proteinase: an electroblot study. Brain Res. 262, 275-282.

DEBUS, E., WEBER, K. and OSBORN, M. (1983)

Monoclonal antibodies specific for glial fibrillary acidic (GFA) protein and for each of the neurofilament triplet polypeptides. *Differentiation*. 25, 193-203.

DECK, J.H. and RUBINSTEIN, L.J. (1981)

Glial fibrillary acidic protein in stromal cells of some capillary hemangioblastomas: significance and possible implications of an immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol: (Berl)* 54, 173-181.

DEITERS, O, (1865)

Untersuchungen über Gehirn und Rückenmark des Menschen und der säugethiere. Braunschweig.

DE JUAN, E. (Jr.), CHANDLER, D.B., HIDA, T. and MACHEMER, R. (1986)

Glio - vascular architecture in the rabbit - retina. *Inves. Ophthalmol. Vis. Sci.* 27, 1602-1608.

DELACOURTE, A. and BUEE, L. (1989)

Maladie d'Alzheimer: la reaction gliale est generale et intense dans tous les territoires du systeme nerveux central. *C.R. Acad. Sci. Ser. III.* 308, 359-365.

DE VRIES, G.H., ENG, L.F., LEWIS, D.L. and HADFIELD, M.G. (1976)

The protein composition of bovine myelin-free axons. *Biochim Biophys. Acta* 439, 135-139.

DIXON, R.G. and ENG, L.F. (1981)

Glial fibrillary acidic protein in the retina of the developing albino rat: an immunoperoxidase study of paraffin embeded tissue. *J. Comp. Neurol.* 195, 305-321.

DRAGUNOW, M., CURRIE, R.W., ROBERTSON, H.A., (1989)

Heat shock induces c-fos. protein - like immunoreactivity in glial - cells in adult rat brain. Exp. Neurol. 106, 105-109.

ENG. L.F., CHAO, F.C., GERSTL, B., PRATT, D. and TAVASTSTJERNA, M.G. (1968)

The maturation of human white matter myelin: fractionation of the myelin membrane proteins. Biochemistry, 7, 4455-4465.

ENG. L.F., GERSTL, B. and VANDER HAEGHEN, J.J. (1970)

A study of proteins in old multiples sclerosis plaques. Trans. Am. Soc. Neurochem. 1, 42-46.

ENG, L.F., VANDERHAEGEN, J.J., BIGNAMI, A. and GERTL, B. (1971)

An acidid protein isolated from fibrous astrocyte. Brain Res., 28, 351-354.

ENG, L.F. (1973)

Chemical characterization of the glial fibrillary acidic protein. Fed. Proc. 32, 485-491.

ENG, L.F. and UYEDA, C.T. (1973)

Immunologic specificity of the water-soluble and insoluble glial fibrillary acidic protein. Trans. Am. Soc. Neurochem 4, 79-83.

ENG, L.F. and KOSEK, J.C. (1974)

Light and electon microscopic localization of the glial fibrillary acidic protein and S-100 protein by immunoenzymatic techniques. Trans. Am. Soc. Neurochem. 5, 160-166.

ENG. L.F. and BIGBEE, J.W. (1978)

Immunohistochemistry of nervous system-specific antigens  
In: Advances in Neurochemistry Vol-3. Edited by BW.  
Agranoff and M.H. Plenum Press, New York.

ENG, L.F. and RUBINSTEIN, L.J. (1978)

Contribution of immunohistochemistry to diagnostic  
problems of human cerebral tumors. J. Histochem.  
Cytochem. 26, 513-522.

ENG, L.F. LEE, Y. and FUKAYAMA, G. (1979)

Isolation of glial fibrillary acidic (G.F.A) protein from  
bovine spinal cord. Trans. Amer. Soc. Neurochem 10, 126-  
132.

ENG, L.F. (1980)

The glial fibrillary acidic protein (G.F.A.) En:  
"Proteins of the nervous system" 2<sup>o</sup> ed. Bradshaw, R.A.  
y Schneider, D.M. Raven Press pp. 85-117, New York.

ENG. L.F. and DE ARMOND, S.J. (1981)

G.F.A.P. immunocytochemistry in development and  
neuropathology. 11th Int. Cong. of Anal.: Glial and  
Neuronal Biology. pp. 65-79. Ed. Alan. R. Liss, Inc.  
Prog. Clin. Biol. Res. 59, 65-79.

ENG, L.F. and DE ARMOND, S.J. (1983)

Immunocytochemistry of the glial fibrillary acidic  
protein. In. H.M. Zimmerman (Ed) Progress in  
Neuropathology, Raven, New York. Vol. 5, 19-39.

ENG, L.F. (1985)

Glial fibrillary acidic protein (G.F.A.P.) the major  
protein of glial intermediate filaments in differentiated  
astrocytes. J. Neuroimmunol. Amsterdam 8, 203-214.

EMBREE, L.J., HESS, H.H. and SHEIN, H.M. (1973)

Microchemical studies of lipids, proteins and nucleic acids in polyoma virus - transformed hamster astroglia. *J. Neuropath. Esp. Neurol.* 32, 542-551.

FADDIS, B.T. and VIJAYAN, V.K. (1988)

Application of Glial Fibrillary Acidic Protein Immunohistochemistry in the Quantification of Astrocytes in the Rat. Brain. *Amer. J. anat.* 183, 316-322.

FEDOROFF, S., AHMED, I., OPAS, M. and KALNINS, V.I. (1987)

Organization of microfilaments in astrocytes that form in the presence of dibutyryl cyclic amp. in cultures. *Neuroscience*, 22, 255-266.

FEDOROFF, S. and HERTZ, L. (1977)

Cell, Tissue, and Organ Cultures in Neurobiology. Academic Press, Inc. New York, San Francisco, London A subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich Publishers.

FERNANDEZ RUIZ, B. (1970)

Estudio citológico - topográfico de los núcleos hipotalámicos en el hamster. *Trab. Inst. Cajal*, LXII, 105-148.

FERNANDEZ, B. and SUAREZ, I. (1976)

The glial components in the supraoptic nucleus of the hamster. 6th. European. Congress on Electron microscopy, 604-606 Jerusalem.

FERNANDEZ RUIZ, B., SUAREZ NAJERA, I. and CARRATO IBAÑEZ, A. (1978).

An ultrastructural study of the subependymal plate in the hamster. *J. Hirnforsch.* 19, 479-484.

FERNANDEZ RUIZ, B. SUAREZ, I. and GIANONATTI, C. (1983)

Fine structure of astrocytic mitochondria in the hypothalamus of the hamster. *J. Anat.* 137, 483-488.

FERNANDEZ, B., SUAREZ, I. and GONZALEZ, G. (1984)

Topographical distribution of the astrocytic lamellae in the hypothalamus. *Anat. Anz.*, 156, 31-37.

FEWSTER, M.E. and MEAD, J.F. (1968)

Lipid composition of glial cells isolated from bovine white matter. *J. Neurochem.* 15, 1041-1052.

FRENCH - CONSTANT, C.H. and RAFF, M.C. (1986)

The oligodendrocyte-type-2 astrocyte cell lineage is specialicez. *Nature.* 323, 335-338.

FREYZS, L.R., BIETH, C., JUDES, M., SENSENBRENNER, M., JACOB and MANDEL, P. (1968)

Quantitative distribution of phospholipids in neurons and glial cells isolated from rat cerebral cortex. *J. Neurochem* 15, 307-313.

FRIEDE, R.L. (1964)

The enzymatic response of astrocytes to various ions in vitro. *J. Cell. Biol.* 20, 5-15.

FRIEDE, R.L. (1965)

Enzyme histochemistry of neuroglia. In "Progress, in Brain. Research vol. 15. Biology of neuroglia". Robertis y Carrera eds. pp. 35-47. Amsterdam.

FRIEDE, R.L. and SAMORAJSKI, T. (1967)

Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibres of vagus and sciatic nerves of mice. *Journal of Comparative Neurology*, 130, 223-232.

FRIEDE, R.L. (1972)

Control of myelin formation by axon caliber (with a model of the control mechanism). Journal of Comparative Neurology 144, 233-252.

GARCIA-SEGURA, L.M., TORRES-ALEMAN, I. and NAFTOLIN, F. (1989)

Astrocytic shape and glial fibrillary acidic protein immunoreactivity are modified by estradiol in primary rat hypothalamic cultures. Develop Brain. Res. 47, 298-302.

GIULIAN, D. and BAKER, T.J. (1985)

Peptides released by amoeboid microglia regulate astroglial proliferation, J. Cell. Biol. 101, 2411-2415.

GOLGI, C. (1986)

Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. Edt. U. Hoepli, Milan.

GÜLDNER, F.H. and WOLFF, J.R. (1973)

Neurono - glial synaptoid contacts in the median eminence of the rat: ultrastructure, staining properties and distribution of tanycytes. Brain. Research. 61, 217-234.

HALL, L.L., BORKE, R.C. and ANDERS, J.J. (1989)

Transection or electrical stimulation of the hypoglossal nerve increase glial fibrillary acidic protein immunoreactivity. Brain. Res. 490, 157-161.

HANSEN, L.A., ARMSSTRONG, D.M. and TERRY, R.D. (1987)

An immunohistochemical quantification of fibrous astrocytes. Neurobiol. Aging. 8, 1 - 6.

HATCHER, V.G. and MACPHERSON, C.F.C. (1969)

Studies on brain antigens II. Water soluble antigenic proteins of bovine brain. J. Immunol. 102, 877-883.

HATFIELD, J.S. and SKOFF, R.P. (1982)

GFAP immunoreactivity reveals astrogliosis in females heterozygous for jimpy. Brain. Res. 250, 123-131.

HATTEN, M.E. and MASON, C.A. (1986)

Neuron-astroglia interactions in vitro and in vivo. Tins, 9, 168-174.

HIRANO, A. and ZIMMERMAN, H.M. (1971)

Glial filaments in the myelin sheath after vinblastine implantation. J. Neuropath. Exp. neurol. 30, 63-67-

HOLOPAINEN, I. and KONTO, P. (1990)

D-aspartate release from cerebellar astrocytes: modulation of the high K-induced release by neurotransmitter aminoacids. Neuroscience. 36, 115-120.

HOLM, I.E. (1989)

Electron microscopic analysis of glial cells in the rat telencephalon stained with the Neo-Timm and selenium methods. Histochemistry 32, 301-120.

HOLMGREN, E. 1904.

Über die Trophospongien der Nervenzellen. anat. Anzeiger. 24, 225-244.

HUNNEUS, F.C. and DAVISON, P.P. (1970)

Fibrillary proteins from squid axons: neurofilament protein. J. Molec. Biol. 51, 415-428.

HYDEN, H. and PIGON, A. (1960)

A cytophysiological study of the functional relationship between oligodendroglial cells and nerve cells of Deiter's nucleus. J. Neurochem 6, 57-72.

HYDEN, H. (1967a)

Dynamic aspects on the neuron-glia relationship. A study with micro-chemical method. In: the Neuron. H. Hyden. ed. Elsevier Amsterdam, pp. 179-219.

HYDEN, H. (1967b)

RNA, in brain cells. In: the Neurosciences. G.C. Quarton. T. Melnechuck and F.O. Schmitt. eds. the Rockefeller University Press. New York pp. 248-266.

IQBAL, K. GRUNDKE, J., IQBAL, K. and WISNIEWSKI, H.M. (1977).

Oligodendroglia from human autopsied brain. Buld isolation and some chemical properties. J. Neurochem. 28, 707-716.

ISHIZAKI, Y., TASHIRO, T. and KUROKAWA, M. (1983)

A calcium-activated protease which preferentially degrades the 160 - KDa component of the neurofilament. Triplet. Eur. J. Biochem, 131, 41-45.

JACQUE, C., LACHAPPELLE, F., COLLIER, P. RAOUL, M. BAUMANN, N. (1980)

Accumulation of GFA., the monomeric precursor of the gliofilaments, during development in normal mice and dusmyelinating mutants. J. Neurosci. Res. 5, 379-385.

JANCER, R.C. and RAFF, M.C. (1987)

Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. Nature. 325, 253-257.

JANECZKO, K. (1988)

The proliferative response of astrocytes to injury in neonatal rat brain. A combined immunocytochemical and autoradiographic study. Brain. Res. 456, 280-285.

KARSCHIN, A., WASSLE, H. and SCHNITZER, J. (1986)

Immunocytochemical studies on astroglia of the cat retina. J. Comp. Neuro. 249, 564-576.

KASPER, M., GOERTCHEN, R., STOSIED, P., PERRY, G. ... (1986)

Coexistence of cytokeratin vimentin and neurofilament protein in human. Virchows. Arch. A: 410, 173-177.

KELLY, J.S. and DICK, F. (1978)

GABA in glial cells of the peripheral and CNS. Dynamic properties of glial cells. Pergamon. Oxford.

KIMELBERG, H.K. and NORENBURG, M.D. (1989)

Astrocytes, Invest. Cien. 44 and 55.

KITAMURA, T., NAKANISHI, K., WATANABE, S., ENDO, Y. and FUJITA, S. (1987).

GFA - protein gene expression on the astroglia in cow and rat brains. Brain Res. 423, 189-195.

KLINKERFUSS, G.H. (1964)

An electron microscopic study of the ependyma and subependymal glia of the lateral ventricle of the cat. Am. J. Anat. 115, 71-99.

KÖLLIKER, A. (1890)

Zur feiner anatomic des Zentrales Nervensystems. I. Daskleinhirn. Z. Wiss. Zool. 49, 663-689.

KOSINSKI, M. E. and GRABAR, P. (1969)

Immunochemical studies of rat brain. J. Neurochem. 14, 273-281.

KRUGER, L. and MAXWELL, D.S. (1966)

The fine structure of ependymal processes in the teleost optic tectum. *am. J. Anat.* 119, 479-498.

KRUGER, L. and MAXWELL, D.S. (1967)

Comparative fine structure of vertebrates neuroglia teleost and reptiles. *J. Com. Neurol.* 129, 115-142.

KRUM, J.M. and ROSENSTEIN, J.M. (1989)

The fine structure of vascular-Astroglial Relations in transplanted Fetal Neo-cortex. *Exp. Neurol.* 103, 203-212.

LANDIS, D. and REESE, J.S. (1974a)

Arrays of particles in freeze-fractured astrocytic membranes. *J. Cell. Biol.* 60, 316-320.

LAZARIDES, E. (1980)

Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space. *Nature (London)* 283, 249-256.

LEPRINCE, P., RIGO, J.M. and LEFEBURE, P.P. (1989)

In vitro kinetics of a newborn rat astroglia-derived neuronotoxic activity. *Neurosci. Lett.* 102, 268-272.

LEVITT, P. and RAKIC, P. (1980)

Immunoperoxidase localization of glial fibrillary acidic-protein in radial glial cells and astrocytes of the developing rhesus monkey brain. *J. Comp. Neurol.* 193, 815-840.

LE VINE, S.M. and GOLDMAN, J.E. (1988)

Embryonic divergence of oligodendrocyte and astrocyte lineages developing rat cerebrum. *J. Neurosci.* 8, 3992-4006.

LEWIS, G.P., ERICKSON, P.A. and KASKA, D.D. (1988)

An immunocytochemical comparison of Muller cells and astrocytes in the cat retina. *Exp. Eye. Res.* 47, 839-853.

LING, T., MITROFANIS, J. and STONE, J. (1989)

Origin of retinal astrocytes in the rat: evidence of migration from the optic nerve. *J. Comp. Neurol.* 286, 345-352.

LIUZZI, F.J. and LASEK, B.J. (1987)

Astrocytes block axonal regeneration in mammals. *Science*, 237, 642-645.

LUDWIN, S.K., KOSEC, J.C. and ENG, L.F. (1976)

The topographical distribution of S-100 and G.F.A. proteins in the adult rat brain. An immunohistochemical study using horseradish peroxidase - labelled antibodies. *J. Comp. Neurol.* 165, 197-208.

MACKENZIE, A. (1983)

Immunohistochemical distribution of glial fibrillary acidic protein in scrapie. *J. Comp. Pathol* 93, 251-259.

MARGOLIS, R.K., HELLER, A. and MOORE, R.Y. (1968)

Effects of changes in cellular composition following neuronal degeneration of amino-acids in brain. *Brain Res.* 11, 19-31.

MASON, T.E., PHIPER, R.F., SPOICER, S.A., SWALLOW, R.A. and DRESKIN, R.B. (1969)

An immunoglobulin - enzyme bridge method for localizing tissue antigens. *J. Histochem. Cytochem* 17, 563-568.

MASON, D.Y., CORDELL, J.L. ZAINALABIDEEN ALDULAZIZ, M.N. and BORDENAVE, G. (1982)

Preparation of peroxidase - antiperoxidase (PAP) complexes for immunohistological labeling of monoclonal antibodies. J. Histochem. Cytochem. 30, 1114-1121.

MENNEL, H.D. and SIMON, H. (1985)

Morfology of early stages of ENU-induced brain tumors in rats. Exp. pathol. 28, 207-214.

MESHUL, C.K. and SEIL, F.J. (1988)

Transplanted astrocytes reduce synaptic density, Brain Res. 441, 23-32.

MILLER, R.H., FRENCH.CONSTANT, C. and RAFF, M.C. (1989)

The macroglial cells of the rat optic nerve. Ann. Rev. Neurosci. 12, 517-534.

MIYAKE, T., HATTORI, T., FUKUDA, M. and KITAMURA, T. (1988)

Quantitative studies on proliferative changes of reactive astrocytes. Brain. Res. 451, 133-138.

MIYAKE, T., IMAMURA, Y., FUKUDA, M. and KITAMURA, T. (1989)

Delay of astrocyte reaction in the injured cerebral cortex of hypothyroid mouse. Brain. Res. 493, 376-379.

MIKAYE, T., HATTORI, T., FUKUDA, M. and KITAMURA, T. (1989)

Reactions of S-100-positive glia after injury of mouse cerebral cortex. Brain. Res. 489, 31-40.

MOORE, B.W. (1965)

A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochem. Biophys. Res. Commun. 19, 739-744.

MOORE, B.W. and PEREZ, V.J. (1968)

Specific acidic proteins of the nervous system. In: Physiological and Biochemical Aspects of Nervous Integration. F.D. Carlson, ed Prentice - Hall. Englewood Cliffs. N.J. pp. 343-360.

MOORE, B.W. PEREZ, V.J. and GEHRING, M. (1968)

Assay and regional distribution of a soluble protein characteristic of the nervous system. J. Neurochem. 15, 265-272.

MORALES, R. and DUNCAN, D. (1971)

Specialized contacts of astrocytes with astrocytes and with other cell types in the spinal cord of the cat. Anat. Rec. 182, 255-266.

MORI, S. and LEBLOND, C.P. (1969b)

Electron microscopic features and proliferation of astrocytes in the corpus callosum of the rat. J. Comp. Neurol. 137, 197-226.

MORI, S. and LEBROLD, C.P. (1970)

Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats. J. Comp. Neurol 139, 1-30.

MUGNAINI, E. and WALBERG, F. (1964)

III. Ultrastructure of neuroglia. Ergebn. Anat. Entwickl., 37, 403-418.

MURPHY, S. and PEARCE, B. (1987)

Funcional receptors for neurotransmitters on astroglial cells. Neuroscience, 22, 381-394.

NAGATA, Y., MIKOSHIBA, K. and TSUKADA, Y. (1974)

Neuronal cell body enriched and glial cell enriched fractions from young and adult rat brains: Preparation and morphological and biochemical properties. J. Neurochem, 22. 493-503.

NAKANE, P.K. and PIERCE, G.B. (1966)

Enzym - labelled antibodies: Preparation and application for the localization of antigens. J. Histochem. Cytochem 14, 929-936.

NAKANE, P.J. and PIERCE, G.B. Jr. (1967)

Enzyme - labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. J. Cell. Biol. 33, 307-313.

NAKANE, P.K. (1973)

Ultrastructural localization of tissue antigens with the peroxidase-labeled antibody method. In: Electron Microscopy and Cytochemistry. E. Wisse, W. th. Daems, I. Molenaar and P. ran. Duijn eds. North. Holland. 129-143.

NAKANE, P.K. and KANDI, A. (1974)

Peroxidase - labeled antibody: a new method o conjugation. J. Histochem. Cytochem. 22, 1084-1091.

NORTON, W.T. and PODUSLO, S.E. (1971)

Neuronal perikarya and astroglia of rat brain: Chemical - composition during myelination. J. Lipid. Res. 12, 84-90.

O. CALLAGHAN, J.P., BRINTON, R.E. and MCEWEN, B.S. (1989)

Glucocorticoids regulate the concentration of glial fibrillary acidic protein throughout the brain. Brain. Res. 494, 159-161.

OGAWA, M., ARAKI, M., NAGATSU, I. and YOSHIDA, M. (1989)

Astroglial cell alteration caused by neurotoxins: immunohistochemical observations with antibodies to glial fibrillary acidic. *Exp. neurol.* 106, 187-196.

OLSON, L., BJORKLUND, H., HOFFER, B.J., PALMER, M.R. and SEIGER, A. (1982)

Spinal cord grafts: an intraocular approach to enigmas of nerve growth. regulation. *Brain. Res. Bull.* 9, 519-537.

PALAY, S.L. (1958)

An electron microscopical study of neuroglia. In: *Biology of Neuroglia*, W.F. Windle, Ed., Springfield. Thomas, 24-38.

PALAY, S.L., MCGEE-RUSSELL, S.M., SPENCER, G.Jr. and GRILLO, M. A. (1962).

Fixations of neural tissues for electron microscopy by perfusion with solutions of osmium tetroxide. *J. Cell. Biol.* 12, 385-410.

PALAY, S.L. (1966)

The role of neuroglia in the organization of the C.N.S. Nerve as a tissue pp. 3-10. Edts. Rodhal and Issekutz. Hoeber. New York.

PALAY-CHAN, V. and PALAY, S.L. (1972).

The form of velate astrocytes in the cerebellar cortex of monkey and rat. High voltage electron microscopy of golgi preparations. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 138, 1-19.

PALAY-CHAN, V. and PALAY, S.L. (1972a).

The stellate cells of the rat's cerebellar cortex. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* 136, 224-248.

PALAY-CHAN, V. and PALAY, S.L. (1972b).

High voltage electron microscopy of rapid Golgi preparations Neurons and their processes in the cerebellar cortex of monkey and rat. Z. Anat. Entwickl. Gesch. 138, 20-36.

PALAY, S.L. and PALAY-CHAN, V. (1974).

Cerebellar cortex. Cytology and Organization. Edt. Springer New York. pp. 1-348.

PELC, S., FONDU, P. and GOMPEL, C. (1986)

Immunohistochemical distribution of glial fibrillary acidic protein, neurofilament polypeptides and neuronal specific enolase. J. Neurol: Sci. 73, 289-297.

PETERS, A. and PALAY, S.L. (1965)

An electron microscopic study of the distribution and patterns of astroglial processes in the C.N.S. J. anat. (London) 99, 419-423.

PHELPS, C.H. (1972)

The development of glio-vascular relationships in the rat spinal cord. An electron microscopic. Study Z. Zellforsch. 128, 555-563.

PITTELLA, J.E.H. and BRASILEIRO-FILHO, G. (1987)

The significance of paired astrocyte nuclei in normal human nervous. J. Anat. 151, 101-105.

PODUSLO, S.E. and NORTON, W.T. (1971)

Isolation and some chemical properties of oligodendroglia from calf brain. J. Neurochem. 19, 727-736.

POLAK, M. (1965)

Morphological and functional characteristics of the central and peripheral neuroglia. (Light microscopical observations) Prog. Brain. Res. 15, 12-34.

POLAK, M., HAYMAKER, W., JOHNSON, J.E., Jr. and D'AMELIO, F. (1982)

Neuroglia and their reactions. En "Histology and Histopathology of the nervous system". Haymaker, W. and Adams, R.D. Charles. C. Thomas. Vol. I, cap. V, 363-480.

POLTORAK, M. and FREED, W.J. (1989)

Immunological Reactions Induced by Intracerebral Trasplantation: Evidence that Host Microglia but not Astroglia. Exp. Neurol 103, 222-233.

RAISMAN, G. (1965)

Specialized neuroglial arrangement may explain the capacity of vomeronasal axons to reinnervate central neurons. Neuroscience. 14, 237-254.

RAKIC, P. (1982)

The role of neuronal-glial cell interaction during brain development. En "Neuronal - glial cell interrelationships". Sears, T.A. ed. Springer - Verlag, pp. 25-38, Berlin, Heidelberg, New York.

REGAN, C.M. (1988)

Neuronal and glial markers of the central nervous system. Experientia, 44, 695-696.

RETZIUS, G. (1893)

Studien uber Ependyma und Neuroglia. Biol. Unters. N.F. 5, 259-260. Stockholm.

REYNER, H., REYNER, E.G. de and MAISON, J.R. (1982)

The beta astrocyte: a newly recognized radiosensitive glial cell type in the cerebral cortex. J. Neurocytol. 11, 967-983.

RIO-HORTEGA, P. del (1918)

Noticia de un nuevo y fácil método para la coloración de la neuroglia y del tejido conectivo. Trab. Lab. Invest. Biol: XV, (4) (367-738), 1-12.

RIO-HORTEGA, P. del (1919)

El tercer elemento de los centros nerviosos. Bol. Soc. Esp. Biol. 9, 69-120.

RIO-HORTEGA, P. del (1920)

Estudio sobre la neuroglia. La microglia y sus transformación en células en bastoncito y cuerpos granuloadiposos. Trab. Lab. Histopatol. 9, 1-46.

RIO-HORTEGA, P. del (1921)

Estudio sobre neuroglia. La glia de escasas radiaciones (oligodendroglia). Bol. Real. Soc. Esp. Histol. Nat., 21, 63-92.

RIO-HORTEGA, P. del (1961)

Estructura fibrilar del protoplasma neuróglia y origen de las gliofibrillas. Trab. lab. Invest. Biol. XIV, 269-307.

RIO-HORTEGA, P. del (1925)

Algunas observaciones acerca de la neuroglia perivascular. Bol. Soc. Esp. Hist. Nat. 34, 1-21.

ROBERT, J., MANDEL, P. and REBEL, G. (1976)

Neutral lipids and phospholipids from cultured astroblasts. J. Neurochem. 26, 771-777.

ROBERTSON, W.F. (1900)

A microscopic demonstration of the normal and pathological histology of mesoglia cells. J. Ment. Sci. 46, 724-733.

RODNING, CH. B., ERLANDSEN, S.L., COULTER, H.D. and WILSON, I.D. (1980)

Immunohistochemical localization of Ig A antigens in sections embedded in epoxy resin. J. Histochem. Cytochem. 28, 199-205.

ROESSMANN, U., VELASCO, M.E., SINDLEY, S.D. and GAMBETTI, P. (1980)

Glial fibrillary acidic protein (G.F.A.P.) in ependymal cells during development. An immunocytochemical study. Brain Res. 200, 13-21.

ROSE, S.P.R. and SINHA, A.K. (1969)

Some properties of isolated neuronal cell fractions. J. Neurochem. 16, 1319-1328.

RUBINSTEIN, L.J. (1986)

Contribution of immunohistochemical methods to the study of central nervous system tumors. Ann. Pathol. 6, 157-163.

RUNGER BRANDLE, E., ACHTSTATTER, T. and FRANKE, W.W. (1989)

An epithelium - type cytoskeleton in a glial cell: astrocytes of amphibian optic nerves contain cytokeratin filaments. J. Cell. Biol. 109, 705-716.

SAMSON, F.E. and QUINN, D.J. (1967)

Na<sup>+</sup> k<sup>+</sup> - activated ATPase in rat brain development. J. Neurochem. 14, 421-427.

SAMSON, F.E., Jr. RUSCHA, M.F., and TWOMEY, S.A. (1971)

Antagonicity of brain microtubule protein. Brain Research, 28, 143-151.

SASAKI, H., SATO, F. and MANNEN, H. (1989)

Morphological analysis of single astrocytes of the adult cat central nervous system visualized by HRP microinjection. Brain Res. 501, 339-354.

SELLINGER, O.Z., AZCURRA, J.M., JOHNSON, D.E., OHLSSON, W.G. and LODIN, Z. (1971)

Independence of protein synthesis and drug uptake in nerve cells bodies and glial cells isolated by a new technique. Nature (Lond) New Biol. 230, 253-256.

SCHALAEPPER, W.W. and GRAY, W. (1971)

Preparation of microtubular protein antibody from vinbrastine-precipitated supernatants. Fed. Proc. 30, 287-296.

SCHLAEPFER, W.W. and FREEMAN, L.A. (1978)

Neurofilament proteins of rat peripheral nerve and spinal cord. J. Cell. Biol. 78, 653-662.

SCHALAEPPER, W.W. and ZIMMERMAN, U.P.J. (1981)

Calcium-mediated breakdown of glial filaments and neurofilaments in rat optic nerves and spina cord. Neurochem. Res. 6, 243-255.

SCHMECHEL, D.E. and RAKIC, P. (1973)

Evolution of radial glial cells in developing monkey telencephalon: A. Golgi study. Anat. Rec. 175, 436-443.

SCHMECHEL, D.E. and RAKIC, P. (1979a)

Arrested proliferation of radial glia cells during midgestation in rhesus monkey. *Nature (Lond)* 277, 303-305.

SCHMECHEL, D.E. and RAKIC, P. (1979b)

A Golgi study of radial cells in developing monkey telencephalon: Morphogenesis and transformation into astrocytes. *Anat. Embriol.* 156, 115-152.

SCHNITZER, J. and KARSCHIN, A. (1986)

The shape and distribution of astrocytes in the retina of the adult rabbit. *Cell. Tissue, Res.* 246, 91-102.

SCHNITZER, J. (1987)

Immunocitochemical localization of S-100 protein in astrocytes and muller cells in the rabbit retina. *Cell. Tissue. Res.* 248, 55-61.

SCHNITZER, J. (1988)

Immunocytochemical studies on the development of astrocytes, Muller (glial) cells, and oligodendrocytes in the rabbit retina. *Develop. Brain. Res.* 44, 59-72.

SCHONBACH, C. (1969)

The neuroglia in the spinal cord of the newt, *triturus viridescens*. *J. Comp. Neurol.* 135, 93-120.

SCHWAB, M.E. (1988)

Aparici regional de mielina constituyen en el desarrollo de médula espinal. *Soc. Neurosci, Abtr.* 14, 1200-1210.

SIJBESMA, H. and LEONARD, C.M. (1986)

Developmental changes in the astrocytic response to lateral olfactory tract section. *Anat. Rec.* 215, 374-382.

SINGER, S.J. and SCHICK, A.F. (1961)

The properties of specific stains for electron microscopy prepared by conjugation of antibody molecules with ferritin. *J. Biophys, Biochem. Cytol* 9, 519-526.

SMALL, P.K., RIDDLE, P. and NOBLE, M. (1987)

Evidence for migration of oligodendrocyte. Type-2 astrocyte progenitor cells. *Nature* 328, 155-157.

SMITH, M.E. SOMERA, F.P. and ENG, L.F. (1983)

Immunocytochemical staining for glial fibrillary acidic protein and the metabolism of cytoskeletal proteins in experimental allergic encephalomyelitis. *Brain Res.* 264, 241-253.

SPRANGER, M., LINDHOLM, D., BANDTLOW, C. (1989)

Regulation of nerve growth factor (NGF) synthesis in the rat central nervous system. *Eur. J. Neurosci*, 2, 69-76.

STALLCUP, W.B. and BEASLEY, L. (1987)

Biopotential glial precursor cells of the optic nerve express the ng 2. *J. Neurosci.* 9, 2737-2744.

STENSAAS, L.J. and STENSAAS, S.S. (1968a)

Astrocyte neuroglial cells, oligodendrocytes and microgliaocytes in the spinal cord of the toad II. Electron microscopy. *Z. Zellforsch*, 86, 184-214.

STERNBERGER, L.A. HARDY, P.H. Jr. CUCULIS, J.J. and MEYER, H.G. (1970)

The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* 18, 315-333.

STERNBERGER, N.H. ITOYAMA, Y., KIES, M.W. and WEBSTER, H.  
(1978)

Immunocytochemical method to identify basic protein in  
myelin - forming oligodendrocytes of newborn. rat. C.N.S.  
J. Neurocytol. 7, 251-263.

STIEBER, A., GONATAS, O., GONATAS, N.K. and LOUVARD, D.  
(1987)

The Golgi apparatus - complex of neurons. Brain. Res.  
408, 13-21.

STONE, J. and DREHER, Z. (1987)

Relationship between Astrocytes, Ganglion, cells and  
vasculature. J. Comp. Neurol. 255, 35-49.

STROCCHI, P., DAHL, D. and GILBERT, J.M. (1982)

Studies on the biosynthesis of intermediate filament  
proteins in the rat C.N.S. J. Neurochem. 39, 1132-1141.

STURROCK, R.R. (1976)

Quantitative changes in neuroglia in the white matter of  
the mouse brain following hypoxic stress. J. of Anat.  
121, 7-14.

STURROCK, R.R. (1982a)

Gliogenesis in the prenatal rabbit spinal cord. J. Anat.  
134, 771-793.

SUAREZ NAJERA, I, FERNANDEZ RUIZ, B. and CARRATO IBAÑEZ, A.  
(1978)

The Fine Structure of Ependyma in the Hypothalamus of the  
Hamster (*Cricetus cricetus*). Anat. Anz. 143, 446, 477.

SUAREZ, I., FERNANDEZ, B. and GARCIA SEGURA, L.M. (1980)

Specialized contacts of astrocytes with astrocytes and with other cell types in the hypothalamus of the hamster. J. Anat. 130, 55-61.

SUAREZ, I. and FERNANDEZ, B. (1983)

Structure and ultrastructure of the External Glial Layer in the Hypothalamus. J. Hirnforsch. 24, 99-109.

SUAREZ, I., FERNANDEZ, B., BODEGA, G., TRANQUE, P., OLMOS, G. and GARCIA-SEGURA, L.M. (1987)

Postnatal development of glial fibrillary acidic protein immunoreactivity cells in the hamster arcuate nucleus. Developmental Brain. Research, 37, 89-95.

SUAREZ, I. and RAFF, M.C. (1989)

Subpial and perivascular astrocytes associated with nodes of Ranvier in the rat optic nerve. J. of Neurocytol. 18, 577-582.

SZERDAHELY, P. and KASA, P. (1986)

Histochemical demonstration of copper in normal rat brain and spinal cord. histochemistry, 85, 341-347.

TAKAHASHI, K. (1981)

Studies of experimental oligodendroglioma with special reference to the ultrastructure and immunohistochemical localization of S-100 protein. GFA protein and galactocerebroside. To Shinkei 33, 703-714.

TAYLOR, C.R. and BURNS, J. (1974)

The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin containing cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using peroxidase labelled antibody. J. Clin. Pathol. 27, 14-20.

TAYLOR, C.R. and BCHIR, A. (1978)

Immunoperoxidase techniques. Practical and theoretical aspects. Arch. Pathol. Lab. Med. 102, 113-121.

TENNYSON, V.M. and PAPPAS, G.D. (1962)

An electron microscope study of ependymal cells of the fetal early postnatal and adult rabbit. Z. Zellforsch. 56, 595-619.

TOKUTAKE, S. (1984)

Complete separation of the triplet components of neurofilament by DE-52, column chromatography depends upon urea concentration. Anal. Biochem. 140, 203-207.

TOWER, D.B. (1960)

The neurochemistry of asparagine and glutamine. In. Neurochemistry of Nucleotides and Amino Acid. Brady R.O. and tower D.B. Eds. pp. 173-204.

ULRICH, J., MATTHIEY, J.M. HERSCHKOWITZ, N., KOHLER, R. and HEITZ, P.V. (1983)

Immunocytochemical investigations of murine leukodystrophies. A study of the mutants "jimpy" and myelin deficient. Brain. Res. 268, 267-274.

UYEDA, C.T., ENG, L.F. and BIGNAMI, A. (1972)

Immunological study of the glial fibrillary acidic protein. Brain. Res. 37, 81-89.

VAQUERO, J. (1972)

Glioarquitectonia de la médula espinal. Invest. Clin. 13, 15-27.

VAQUERO, J. (1973)

Estudio anatómico de la organización neuróglia de la médula espinal. Arch. Fac. Med. mad. XXIII, 359-374.

VARON, S.S. and SOMJEN, G.G. (1979)

Neuron-glia interactions. Neurosci. Res. Prog. Bull. Vol. 17, n<sup>o</sup> 1.

VAUGHN, J.E. and PEASE, D.C. (1967)

Electron microscopy of classically stained astrocytes. J. Comp. Neurol. 131, 143-154.

VAUGHN, J.E. and PETERS, A. (1967)

Electron microscopy of the early postnatal development of fibrous astrocytes. Amer. J. Anat. 121, 131-152.

VAUGHN, J.E. and PETERS, A. (1971)

The morphology and development of neuroglial cells. En "Cellular aspects of neural growth and differentiation". Pease, D.C. Ed. University of California. Pp. 103-140, Los Angeles.

VAUGHN, J.E. and SKOFF, R.P. (1972)

Neuroglia in experimentally altered central nervous system: In: the Structure and Function of the Nervous System. Vol. V (ed. G.H. Bourne) pp. 39-72. New York.

VERNADAKIS, A. and NIDESS, R. (1976)

Biochemical characteristics of C-6 glial cells. Neurochem. Res. 1, 385-402.

VIRCHOW, R. (1846)

Meber das granulirte Ansehen der Wandungen der gehirnventikel. Allgem. Z. Psychiat. 3, 424-450.

VIRCHOW, R. (1856)

Zur pathologische Anatomie der Netzhaut an des sehnerven. Virchow's Arch. 10, 170-193.

WARECKA, K. and BAUER, H. (1967)

Studies on "brain-specific" proteins in aqueous extracts of brain tissue. J. Neurochem. 14, 783-787.

WARECKA, K., MÖLLER, H.J., VOGEL, H.M. and TRIPATZIS, I. (1972)

Human brain-specific alpha<sub>2</sub> - glycoprotein: purification by affinity chromatography and detection of a new component: localization in nervous cells. J. Neurochem. 19, 719-725.

WATABE, K., OSBORN, D. and KIM, S.U. (1989)

Phagocytic activity of human adult astrocytes and oligodendrocytes in culture. J. Neuropathol. Esp. Neurol. 48, 499-506.

WEIGERT, F. (1895)

Beiträge Z. kennntniss der normales menschlichen neuroglia. Weisbrod ed. Frankfurt a Mein.

WILSON, L., BRYAN, J., RUBY, A. and MAZIA, D. (1970)

Precipitation of proteins by vinblastine and calcium ions. Proc. Nat. Acad. Sci. 66, 807-814.

WOLFF. J.R. (1965)

Elektronemikroskopische Untersuchungen über struktur und fertalt von Astrozyten frosätzen. Z. Zellforsch. 66, 811-828.

WOLFF, J.R. (1968)

Die astroglia in fewebsverband des gehirns. Acta. Neuropathol. 4, 33-39.

WOLFF, J.R. (1970)

El astrocito, elemento de enlace entre el capilar y la célula nerviosa. Triángulo. (Rev. Sandoz Cien.Med.) 9, nº 5, 153-163.

WOLFF, J.R. (1970a)

Quantitative aspects of astroglia. VI th Intern. Congr. Neuropathology, Paris, pp. 327-333.

WOLFF, J.R. (1970b)

The astrocyte as link between capillary and nerve cell. Triangle. 9, 153-164.

WORTHINGTON and CATHCART (1963)

Worthington Biochemical Corporation: Enzyme Catalog. Freehold N.J. pp. 1-11.

WUERKER, R.B. (1970)

Neurofilaments and glial filaments. Tissue. Cell. 2, 1-9.

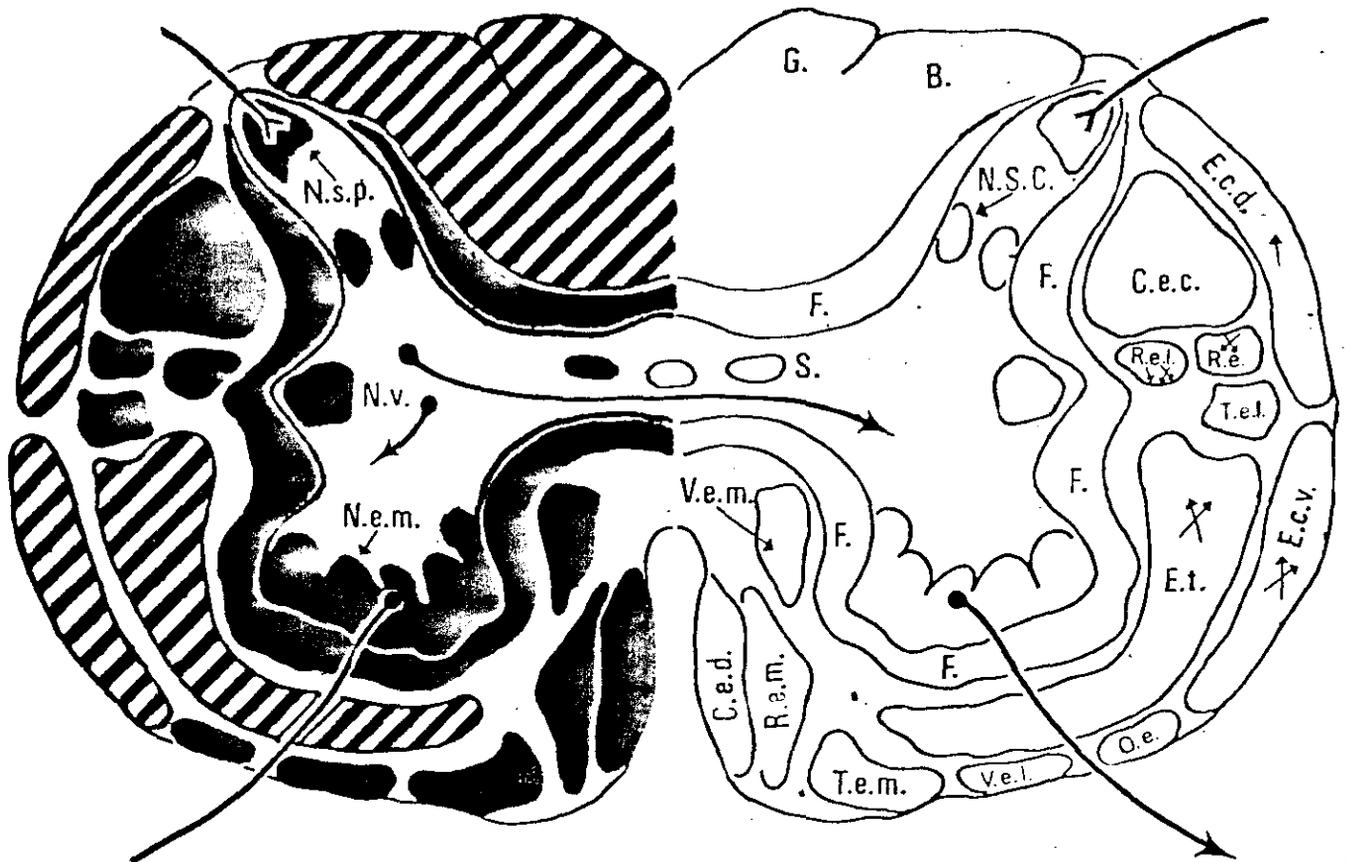
YEN, S., LEE, V. and SHELANSKI, M.L. (1975)

Evidence for identity of 9nm. filaments in neurons and astroglia. J. Cell. Biol. 67, 468-474.

YEN, S.H., DAHL, D., SCHACHNER, M. and SHELANSKI, M.L. (1976)

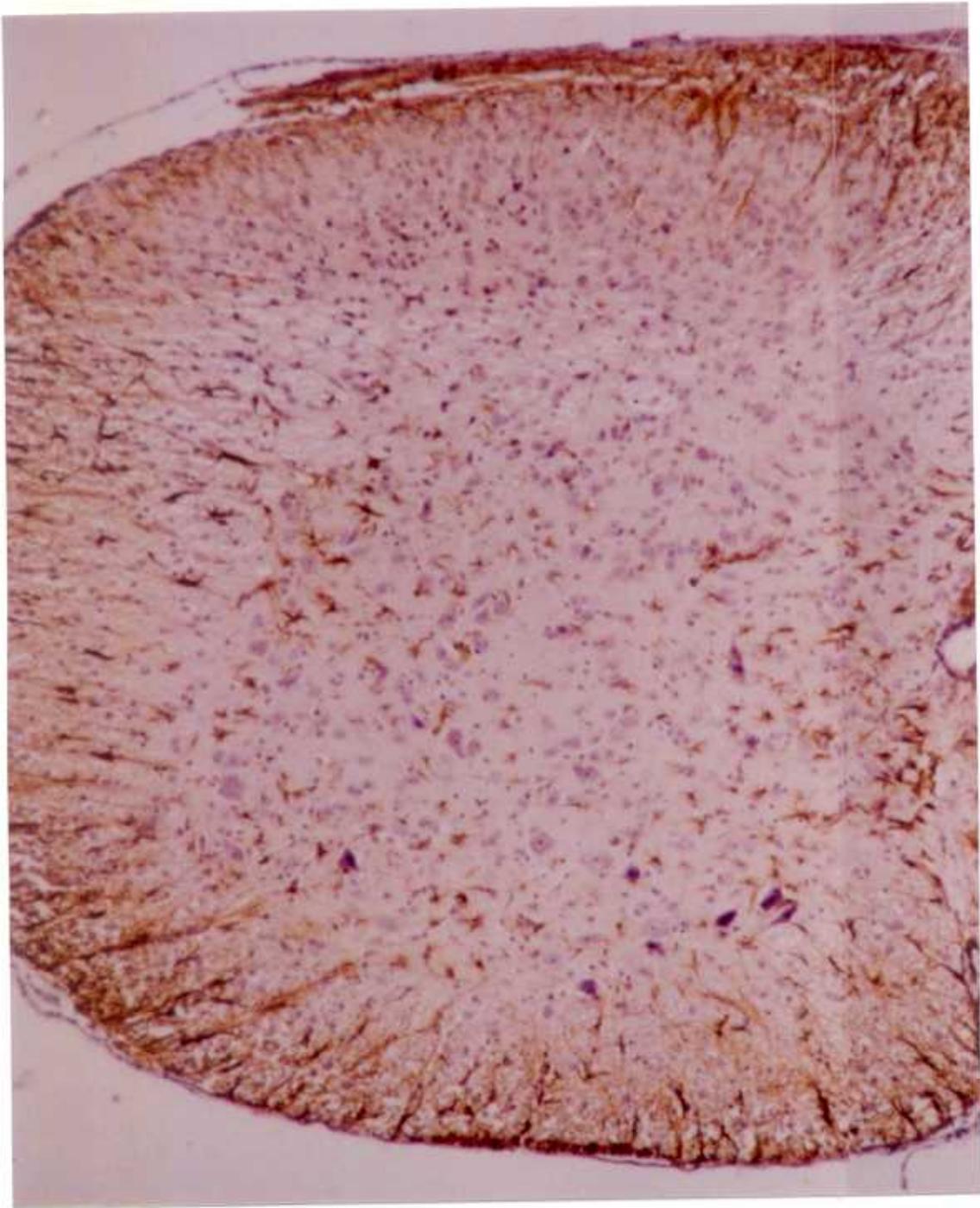
Biochemistry of the filaments of brain. Proc. Natl. Acad. Sci. 73, 529-533.

Fig. 1 Esquema general de las sustancias gris y blanca de la médula cervical de ratón adulto. x 500.

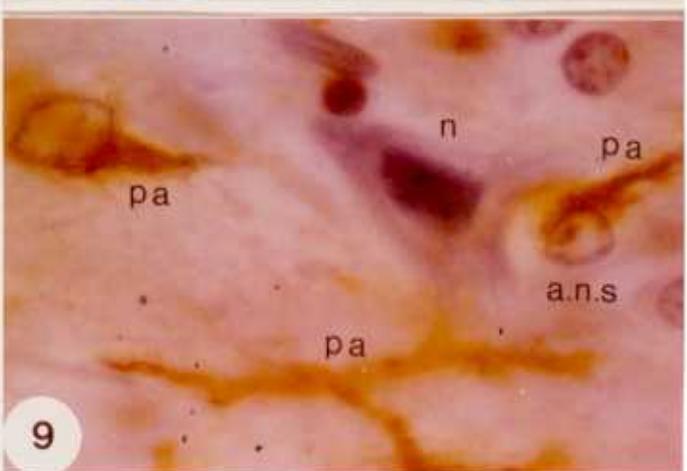
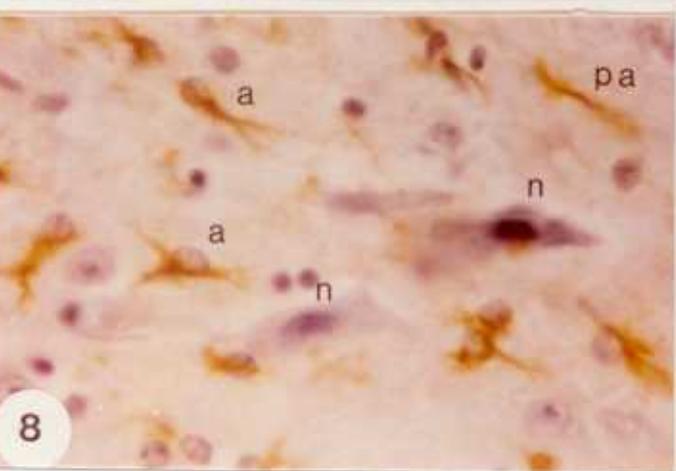
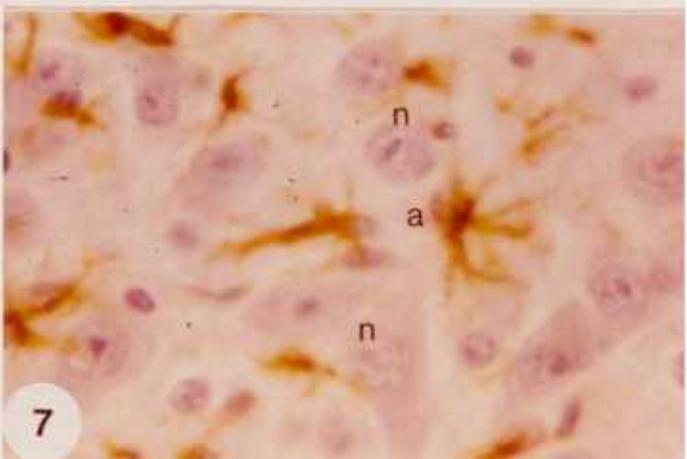
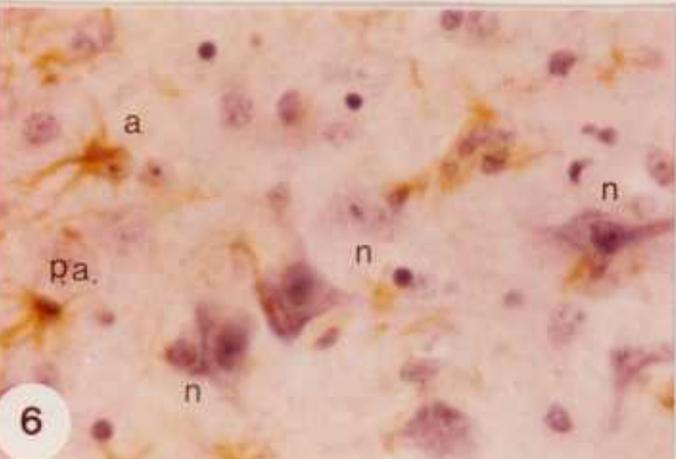
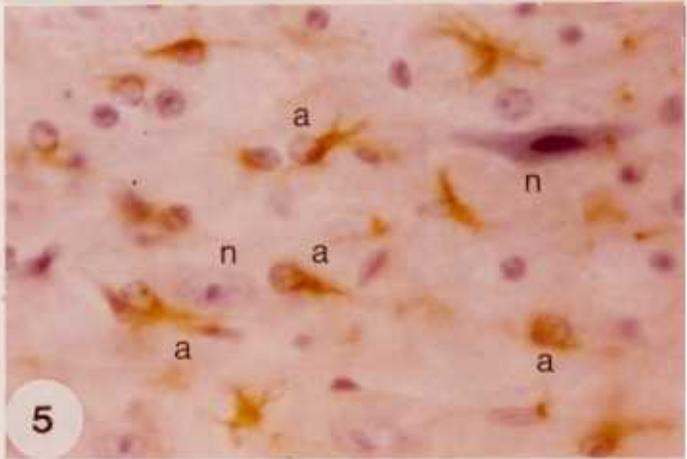
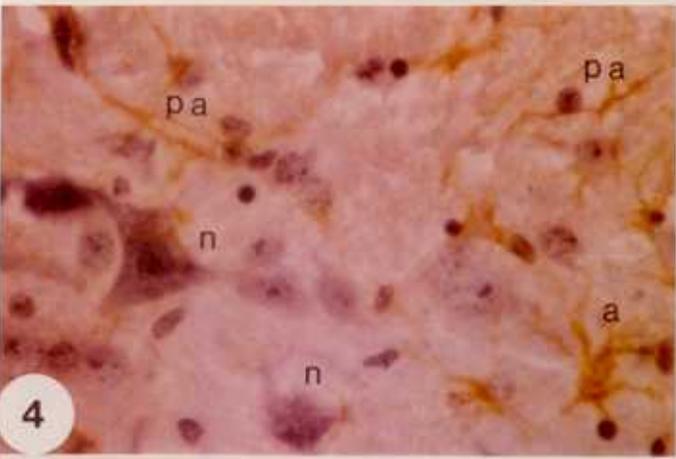
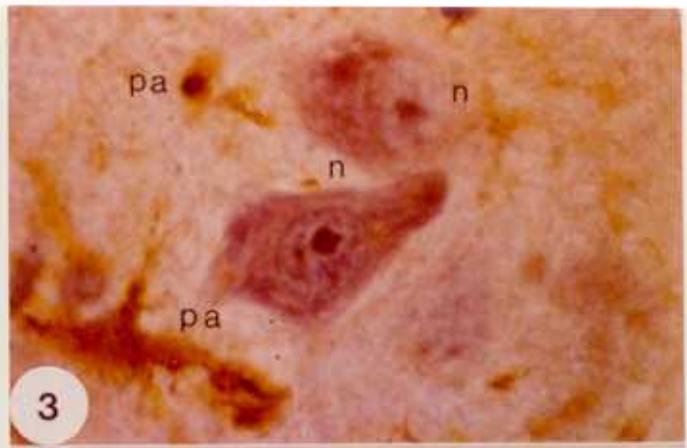
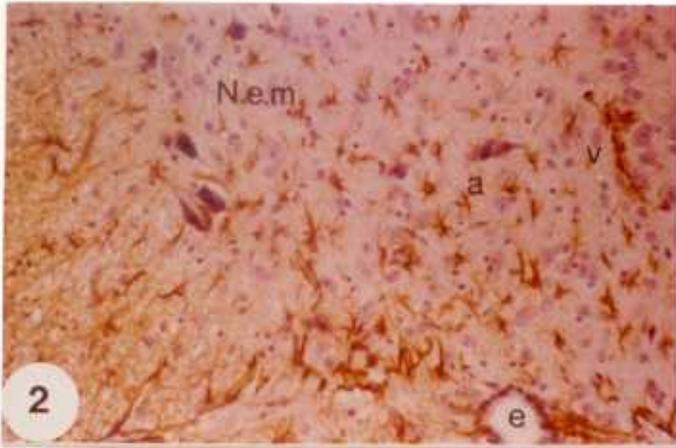


**Esquema síntesis de la Médula Cervical de ratón (Gómez del Bosque, P.)**

- B: Haz de Burdach
- C.e.c.: Haz cortico - espinal cruzado
- C.e.d.: Haz cortico - espinal directo
- E.c.d.: Haz espino - cerebeloso dorsal
- E.c.v.: Haz espino - cerebeloso ventral
- E.t.: Haz espino - talámico
- F: Haces fundamentales
- G: Haz de Goll
- N.e.m.: Núcleos estriopares de la médula
- N.s.c.: Núcleo de Stilling - Clark
- N.s.p.: Núcleo sensitivo propio del asta posterior
- N.v.: Núcleo vegetativo simpático de la médula espinal
- O.e.: Haz olivo - espinal
- R.e.: Haz rubro - espinal
- R.e.l.: Haz reticulo - espinal lateral
- R.e.m.: Haz reticulo - espinal medial
- S: Haz de Schütz
- T.e.l.: Haz tecto-espinal lateral
- T.e.m.: Haz tecto-espinal medial
- V.e.l.: Haz vestibulo - espinal lateral
- V.e.m.: Haz vestibulo - espinal medial



- Fig. 2 Area perteneciente al núcleo medial ventral de la sustancia gris. Agrupación de motoneuronas situando su frontera con la sustancia blanca. x 625.
- Fig. 3 Neurona motora de soma poligonal o triangular perteneciente al área del núcleo medial ventral. x 1575.
- Fig. 4 Soma de neurona motora poligonal con expansiones filamentosas multipolares. x 625.
- Fig. 5 Soma de neurona motora poligonal con expansiones bipolares. x 1000.
- Fig. 6 Neuronas motoras poligonales con núcleos visibles. x 1000
- Fig. 7 Neurona motora de forma ovoidea o fusiforme con escasas ramificaciones, presenta un núcleo que ocupa casi todo el soma. x 1000.
- Fig. 8 Distribución de los astrocitos en el área perteneciente al núcleo medial ventral. x 1000.
- Fig. 9 Neuronas motoras triangulares multipolares. Algunos somas astrocitarios se disponen adosados a los somas de estas neuronas. x 1575.



- Fig. 10 Astrocitos perineuronales que envían una prolongación, que discurre paralela a una expansión neuronal. x 1575.
- Fig. 11 Somas astrocitarios a cierta distancia del soma neuronal enviando prolongaciones hacia él. x 1575.
- Fig. 12 Neuronas motoras bipolares, acompañadas de astrocitos perineuronales. x 1575.
- Fig. 13 Neuronas ovoideas. x 1000
- Fig. 14 Prolongaciones astrocitarias rodeando a somas de neuronas motoras ovoideas formando como unos cestos envolventes en los que las incluyen. x 1575.
- Fig. 15 Area del núcleo ventral con motoneuronas y astrocitos que difieren en muy poco a los de los núcleos contiguos medio ventral y latero ventral. Aparente descenso en la densidad astrocitaria. x 625.
- Fig. 16 Astrocito perineuronal satélite, adosan completamente parte de su soma al de una neurona ovoide grande. x 1575.
- Fig. 17 Astrocito perineuronal satélite, adosando parte de su soma al de una célula glial de soma pequeño. x 1575.

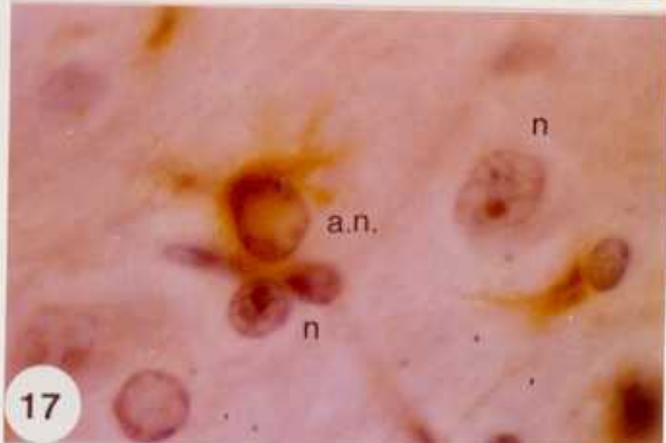
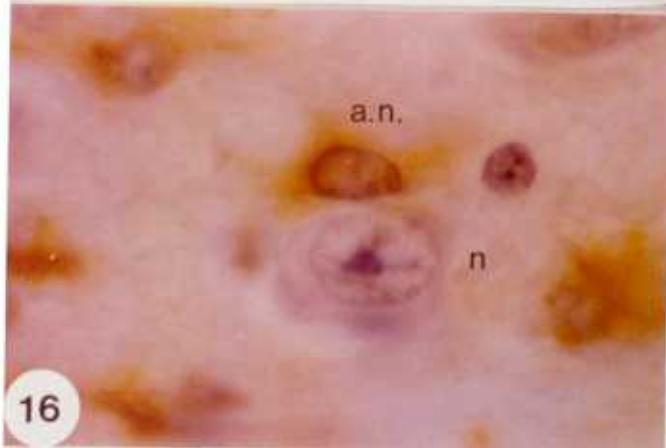
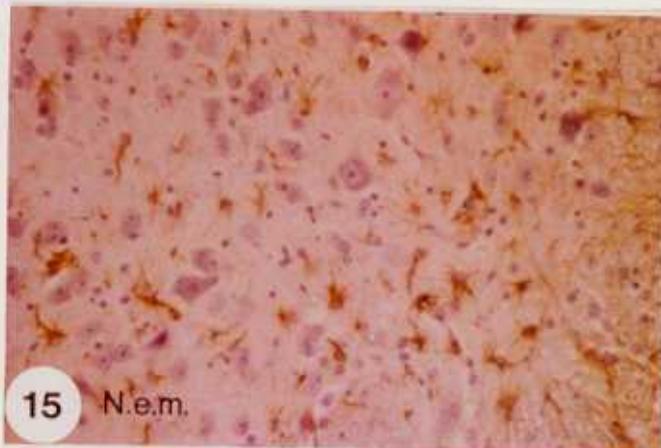
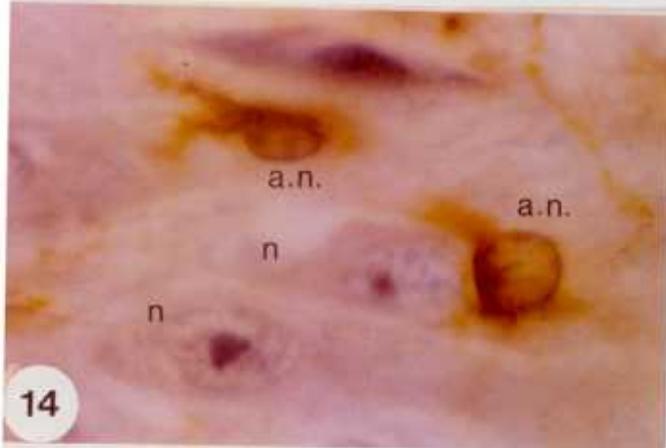
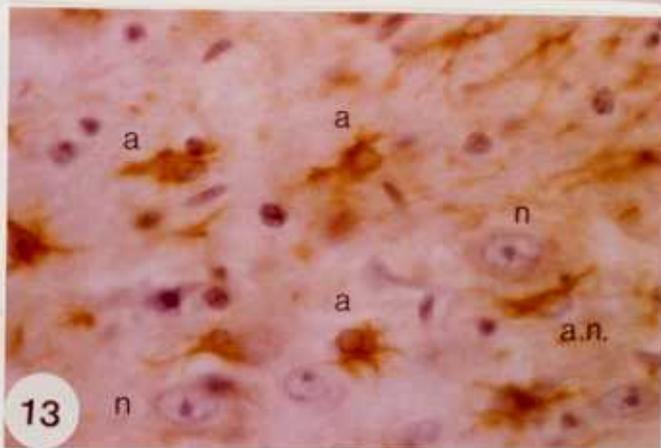
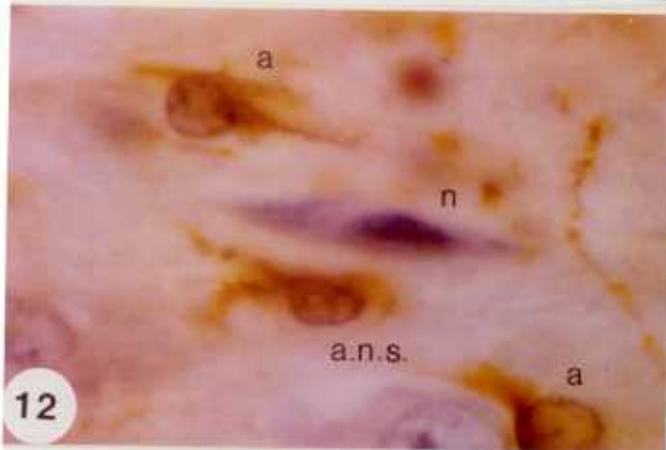
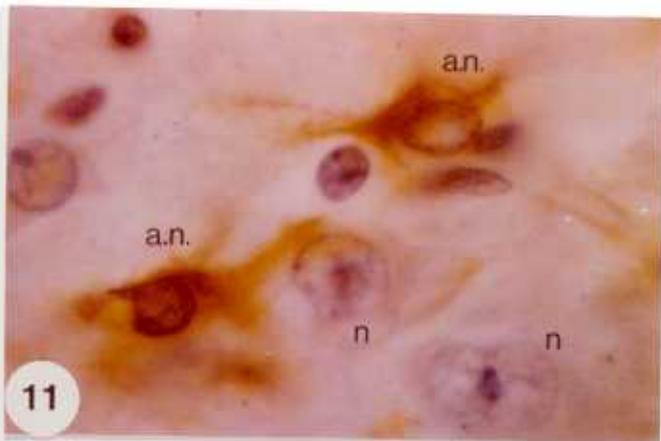
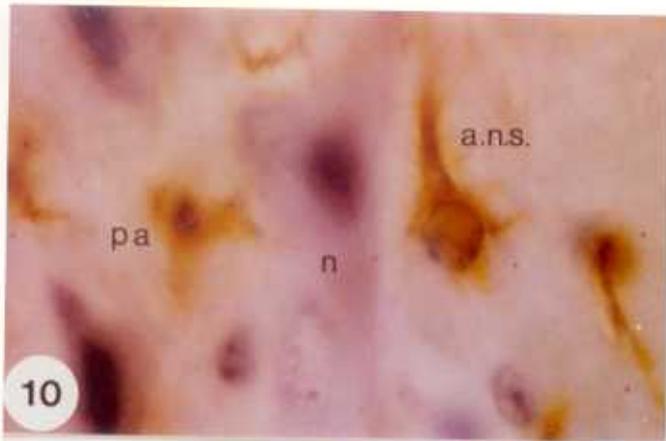


Fig. 18 Neurona ovoide, rodeada por los somas de dos astrocitos perineuronales satélites uno de ellos adosado a la neurona y el otro interpone sus prolongaciones entre el soma neuronal y el del astrocito. x 1575.

Fig. 19 Area del núcleo lateroventral. x 625.

Fig. 20 Astrocito interneuronal, con su soma entre dos neuronas, adosa su soma al de una de estas neuronas. x 1575.

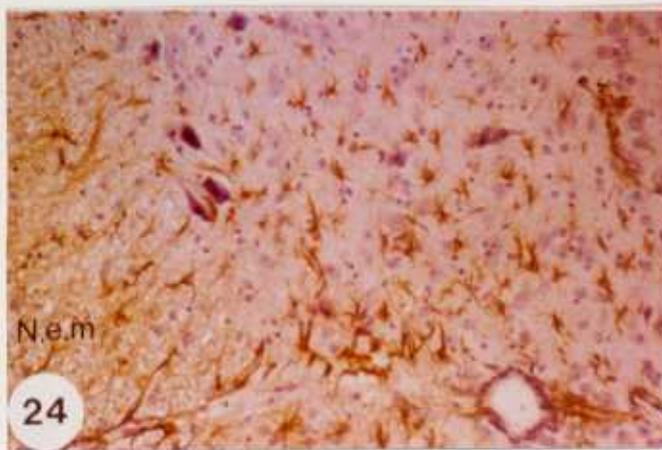
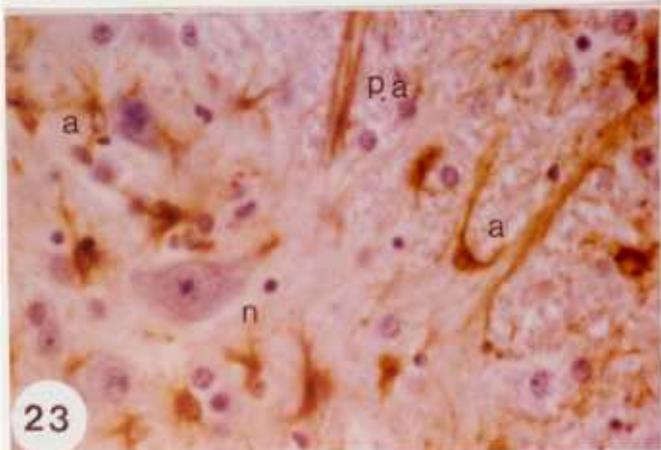
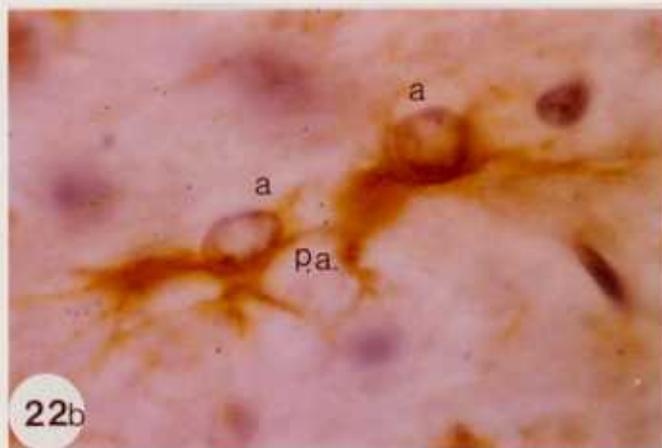
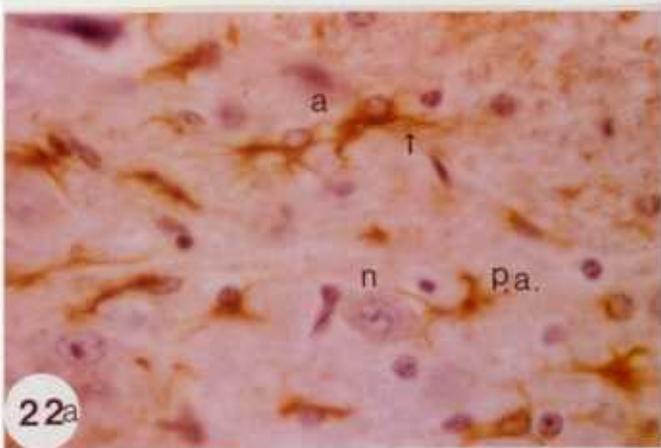
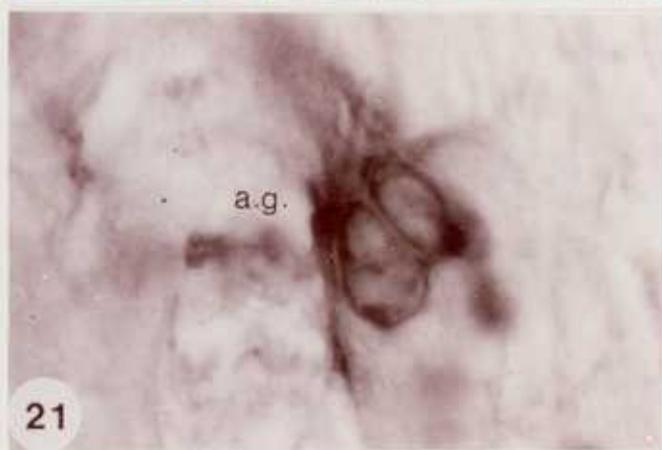
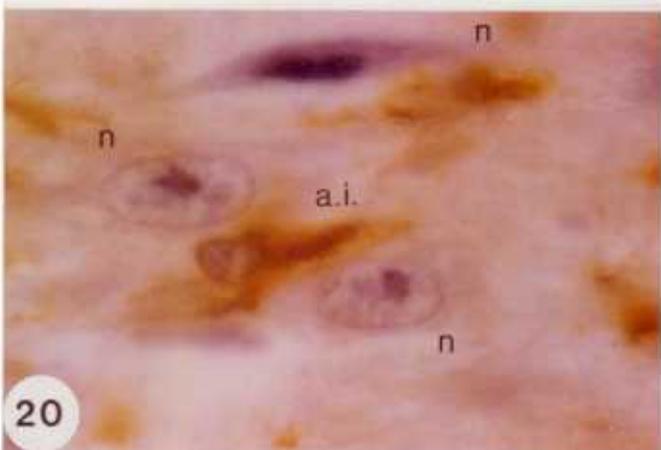
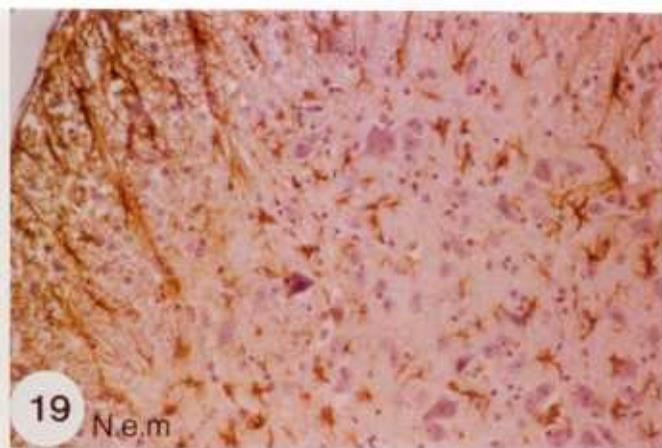
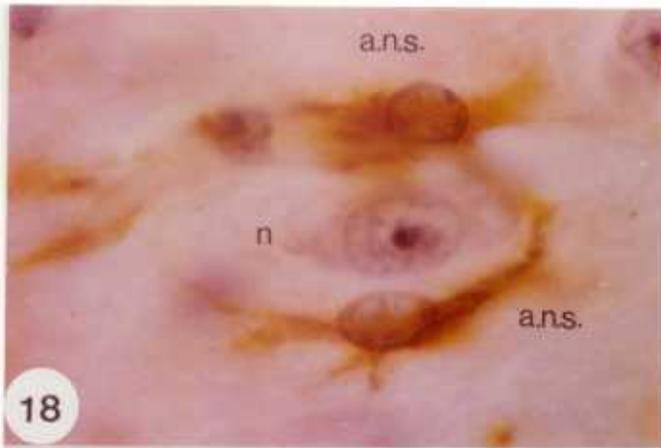
Fig. 21 Astrocitos gemelos, con somas firmemente acoplados emitiendo varias prolongaciones. x 1575.

Fig. 22a Formación de tabiques medulares. Astrocitos que disponen su soma en la s. gris, enviando prolongaciones hacia la s. blanca (flecha). En la zona inferior de la foto se visualiza como finas prolongaciones astrocitarias rodean una neurona ovoide. x 1000.

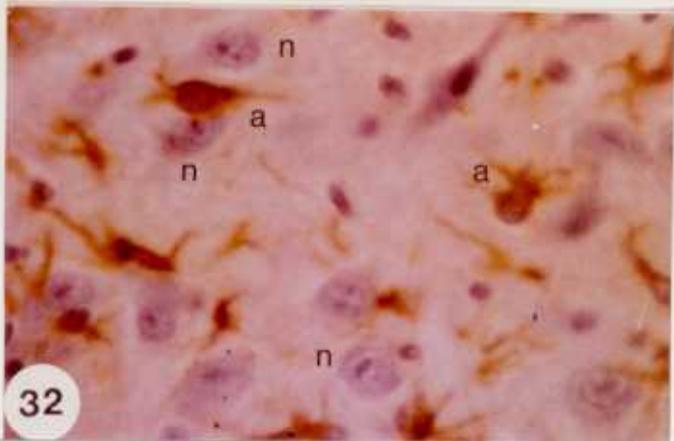
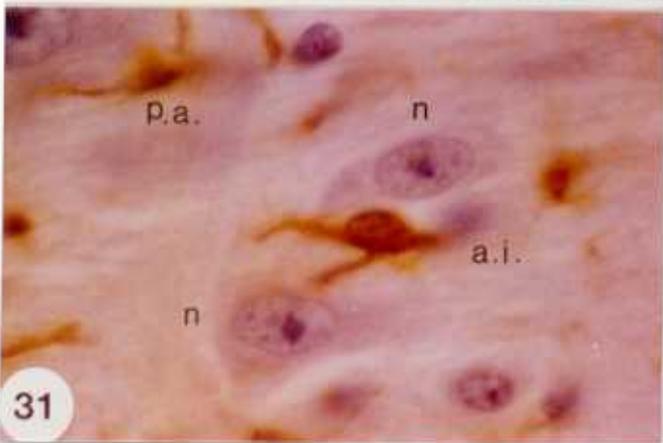
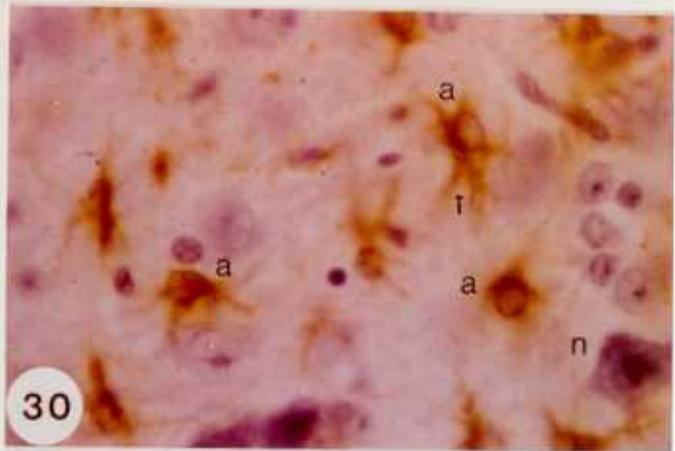
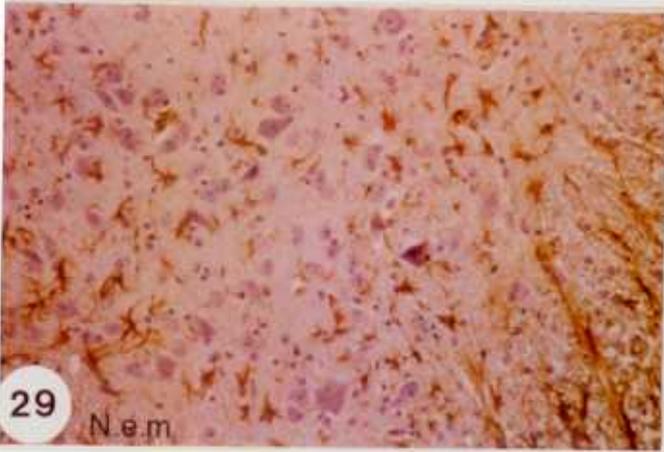
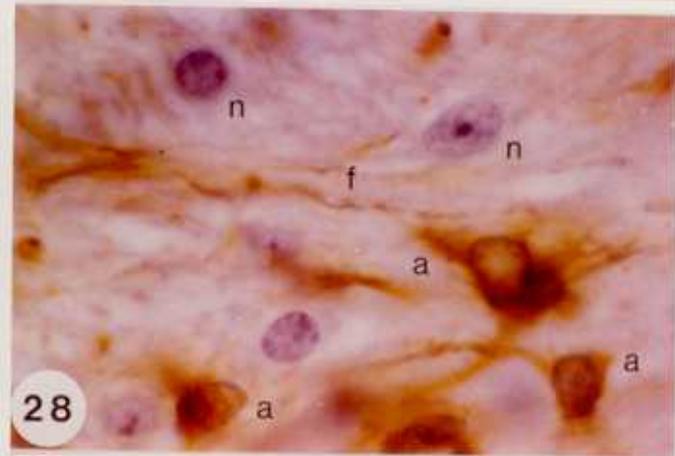
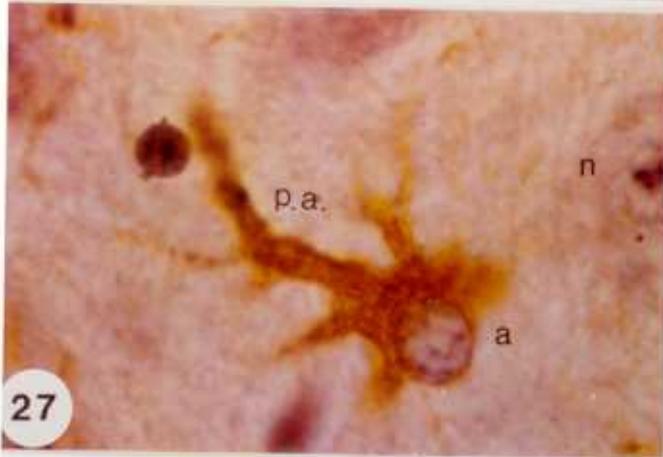
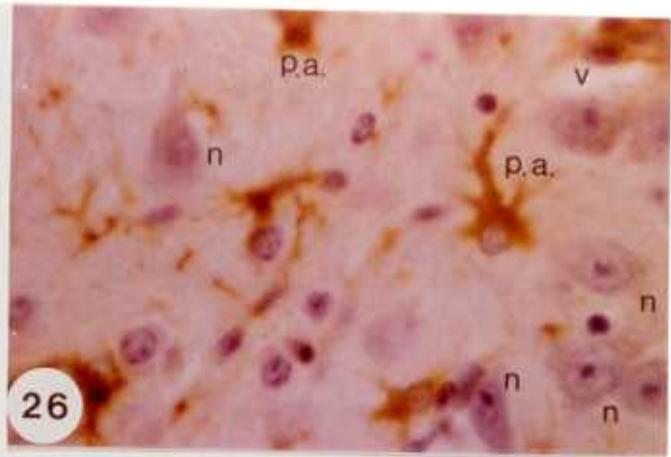
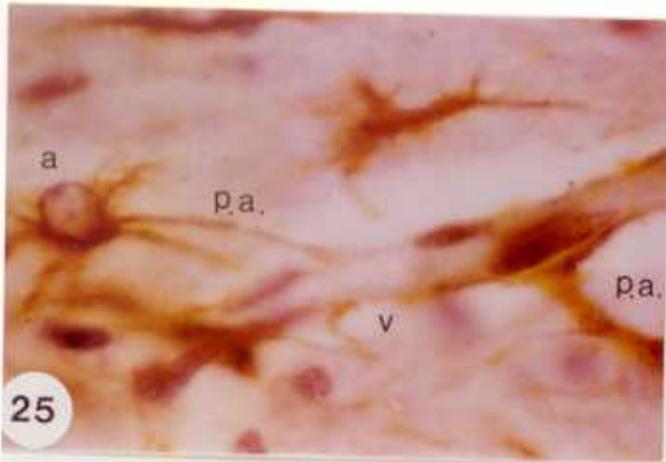
Fig. 22b Ampliación de la imagen anterior con astrocitos que contactan sus prolongaciones. x 1575.

Fig. 23 Zonas laterales del área del núcleo ventral, que contactan con la sustancia blanca. Astrocitos mixtos o de carácter intermedio, envían largas prolongaciones a la sustancia blanca para formar los tabiques medulares. x 1000.

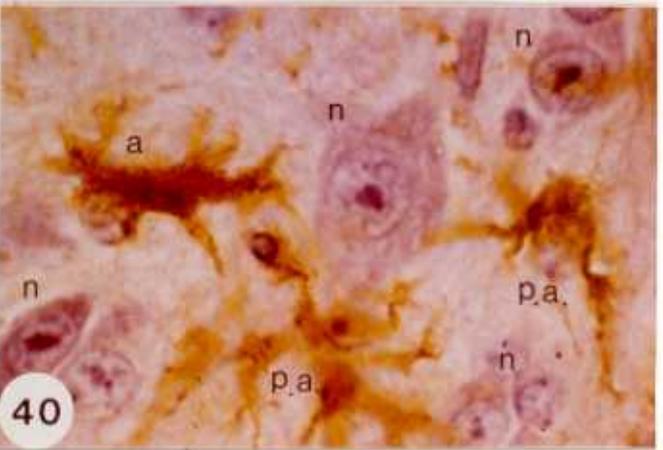
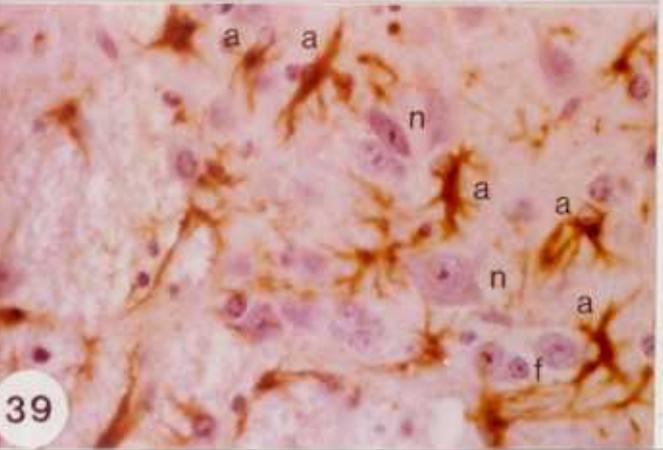
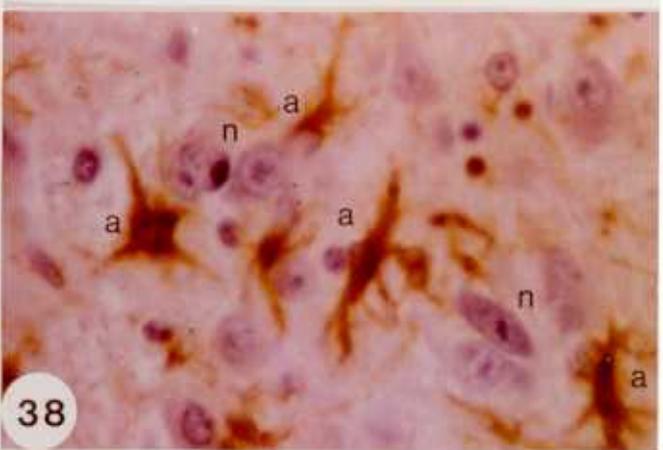
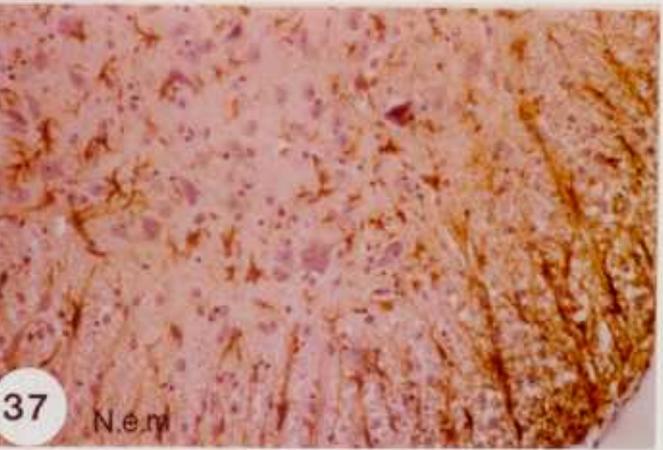
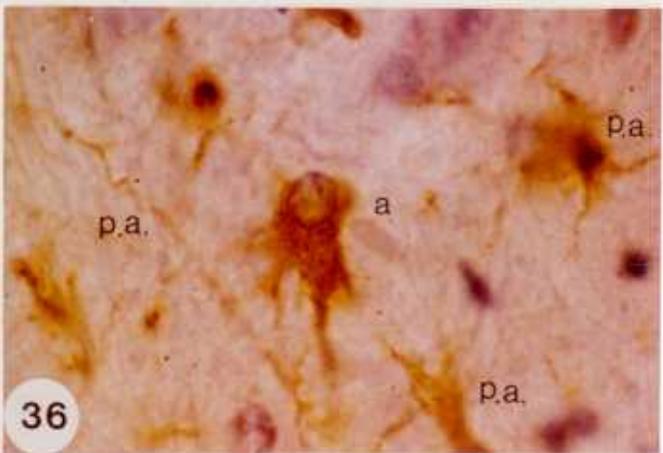
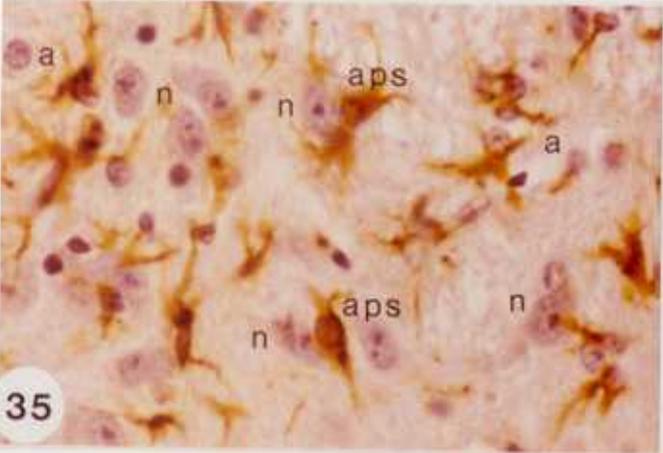
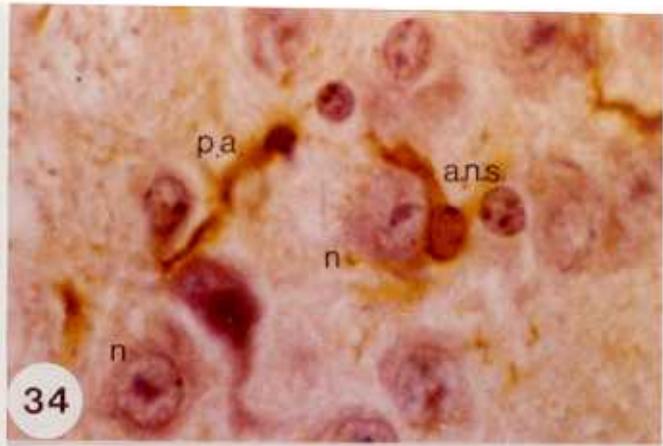
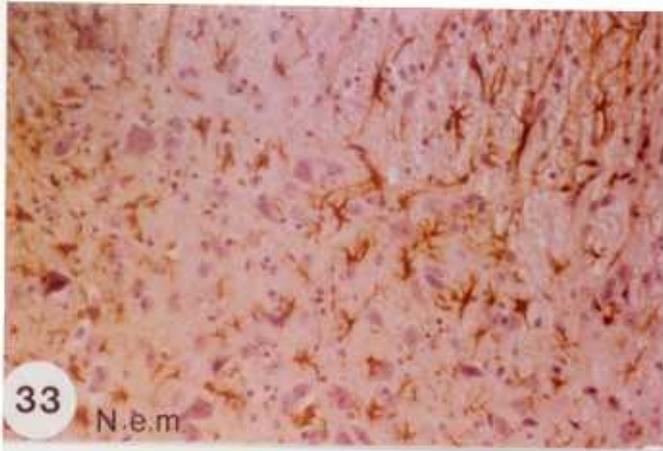
Fig. 24 Area del núcleo dorsomedial. Obsérvese el epéndimo. x 625.



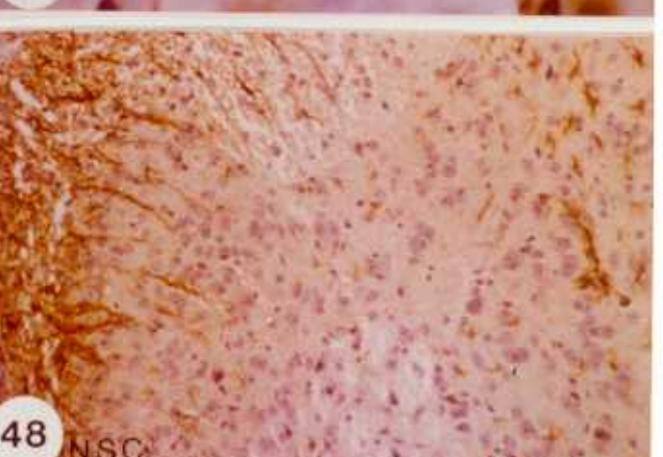
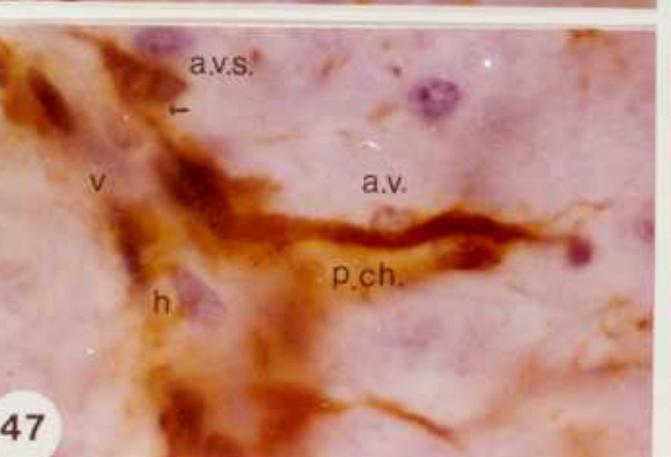
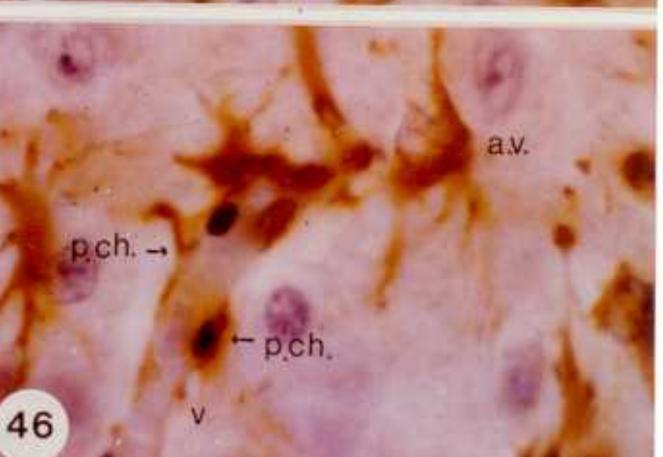
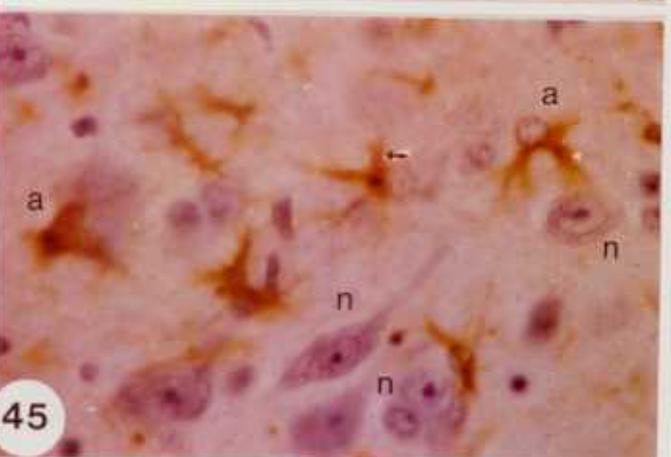
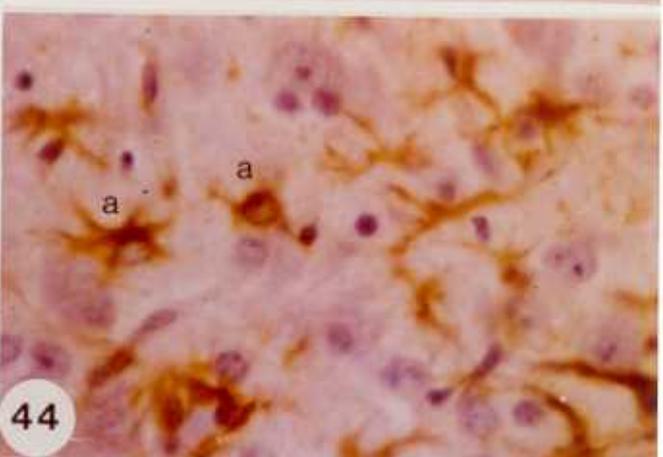
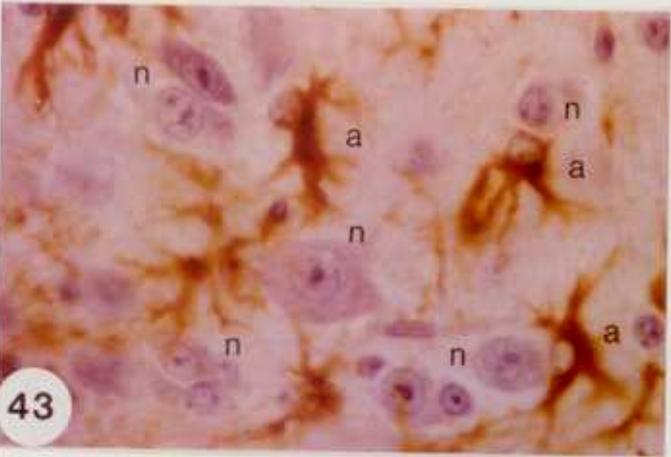
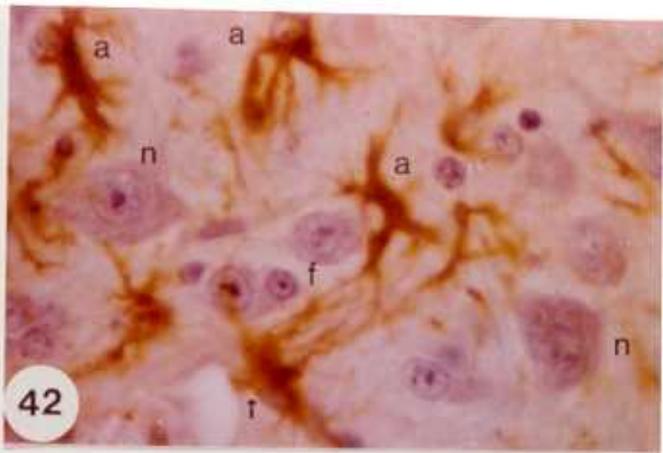
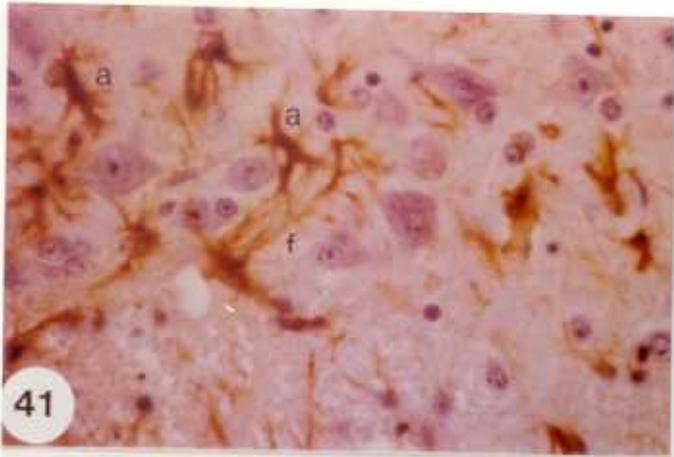
- Fig. 25 Astrocito perivascular con múltiples prolongaciones, dos de ellas hacia un vaso formando un pie vascular de forma triangular. En esta misma imagen (zona inferior derecha) se aprecia otro pie vascular de mayor tamaño. x 1575.
- Fig. 26 Astrocito con soma triangular y una prolongación ventral más gruesa y larga que las restantes. Esta prolongación gruesa se va adelgazando hasta que con su extremo terminal contacta con un vaso. x 1250.
- Fig. 27 Detalle de las prolongaciones cortas y estrechas que presentan un contorno espinoso del astrocito anterior. x 1575.
- Fig. 28 Soma astrocitario con prolongaciones largas y finas. x 1575.
- Fig. 29 Area del núcleo intermedio dorsal. x 625.
- Fig. 30 Astrocitos con somas polimorfos, algunos de ellos emiten todas sus prolongaciones en un solo sentido a partir del soma (flecha). x 1250.
- Fig. 31 Astrocitos interneuronales, que emiten dos prolongaciones una más gruesa y larga en ambos sentidos, entre las neuronas y otra más corta originada por dicotomía de la primera y ramificada hacia el soma de una de las neuronas. x 1575.
- Fig. 32 Area central de núcleo intermedio dorsal. x 1250.



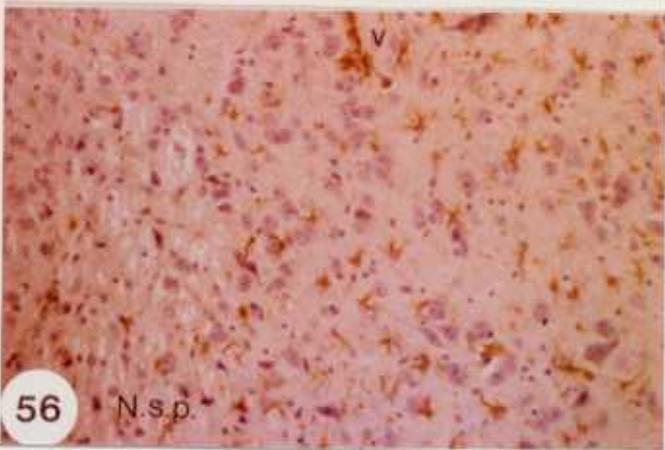
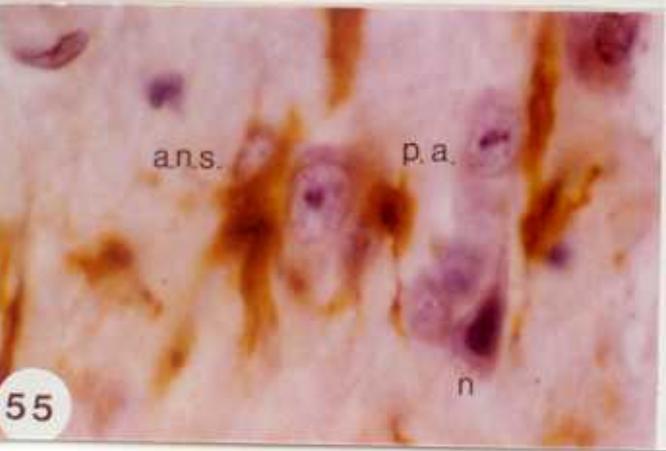
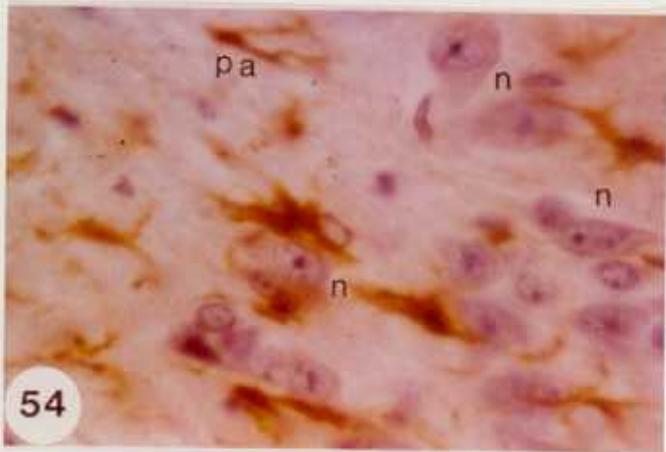
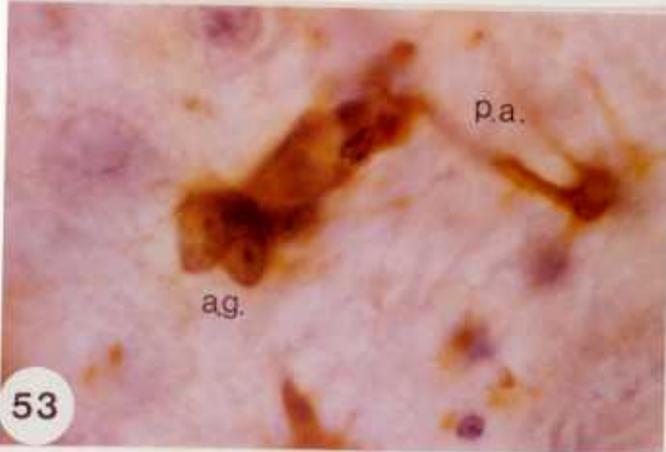
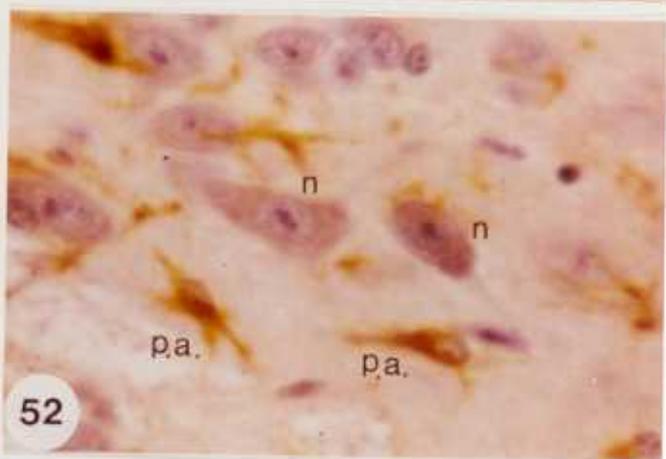
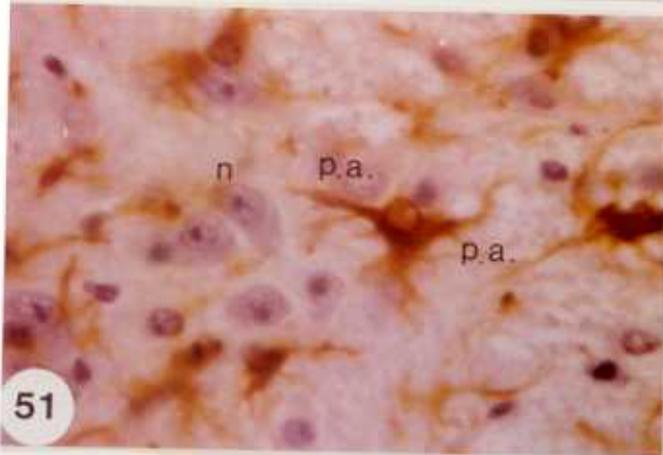
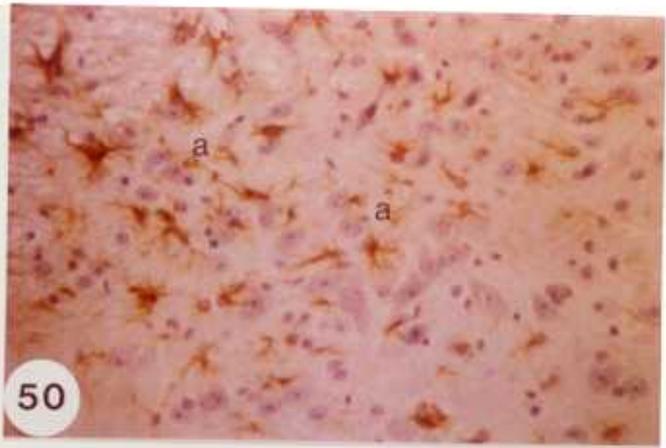
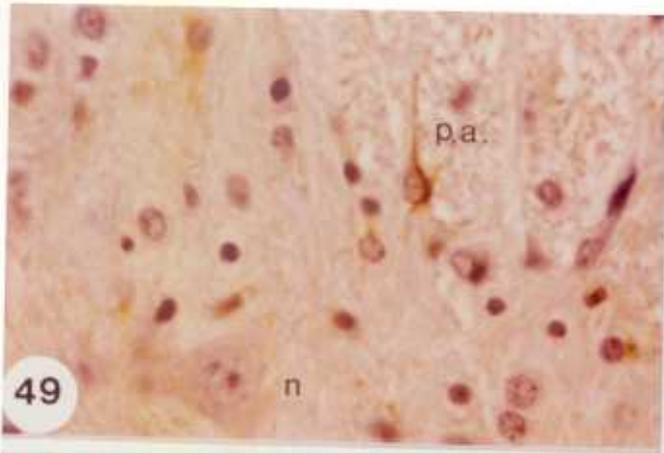
- Fig. 33 Area perteneciente al núcleo dorsal lateral. x 625.
- Fig. 34 Astrocito satélite con una única prolongación que va adelgazándose a medida que rodea a la neurona en su contorno. x 1250.
- Fig. 35 Somas astrocitarios y neuronales ubicados en este area. x 1000.
- Fig. 36 Astrocito con soma triangular, similar a los del núcleo ventral, pero de menor tamaño, y con algunas prolongaciones sin espículas. x 1250.
- Fig. 37 Area lateral de la sustancia gris que incluye los núcleos intermedios medial e intermedio lateral. Condensación astrocitaria en el límite externo lateral de este área en la zona próxima a la sustancia blanca. x 625.
- Fig. 38 Soma triangular astrocitario, con prolongaciones entre neuronas ovoideas y fusiformes. En esta misma imagen se observan unos puntos densos pertenecientes a las fibras cortadas transversalmente. 1250.
- Fig. 39 Astrocitos alineados, en este límite entre la sustancia gris y blanca, contactan sus prolongaciones con las de otros de la sustancia blanca. x 1000.
- Fig. 40 Astrocito de soma redondeado con una sola prolongación gruesa erizada de espículas en su trayecto y otras fibras más finas, desarrolladas en todas direcciones. Algunas prolongaciones astrocitarias enfrentan sus zonas terminales al soma neuronal ovoide. x 1575.



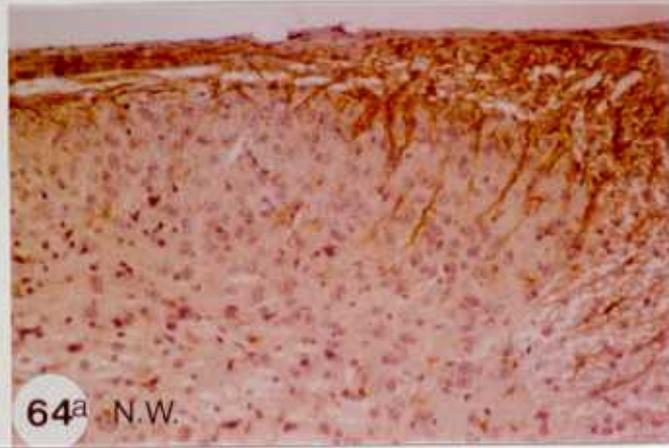
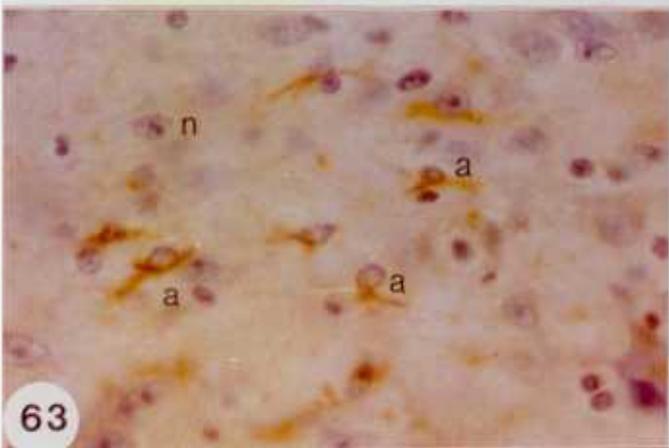
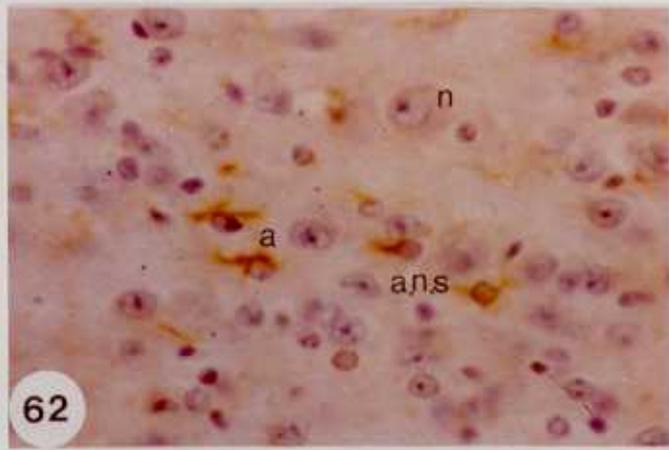
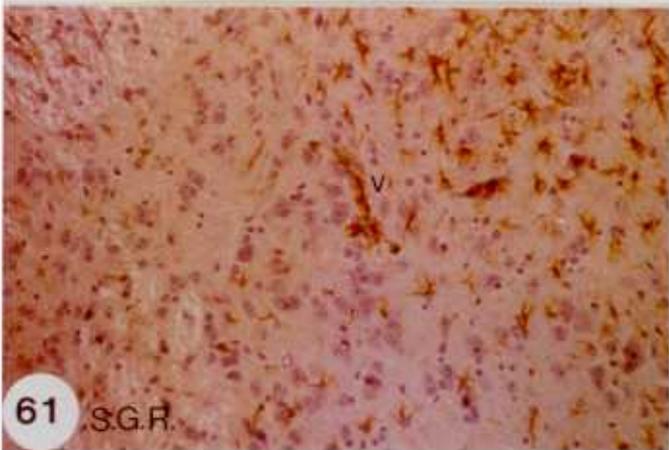
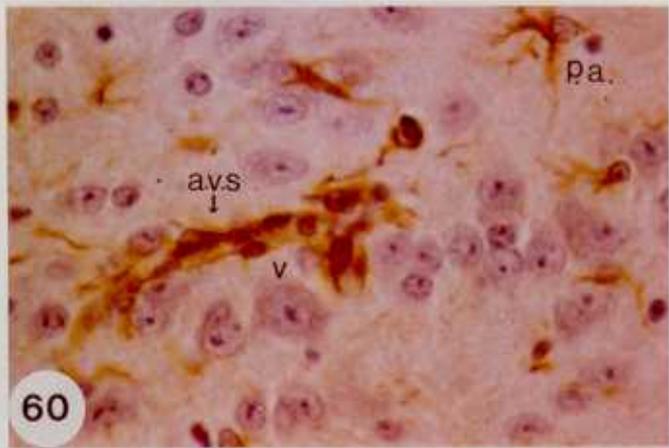
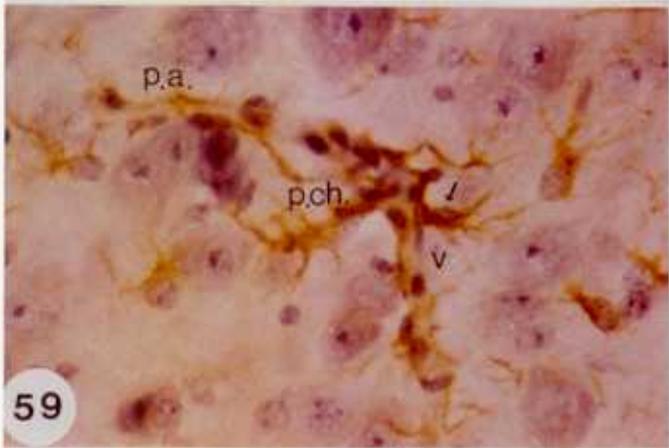
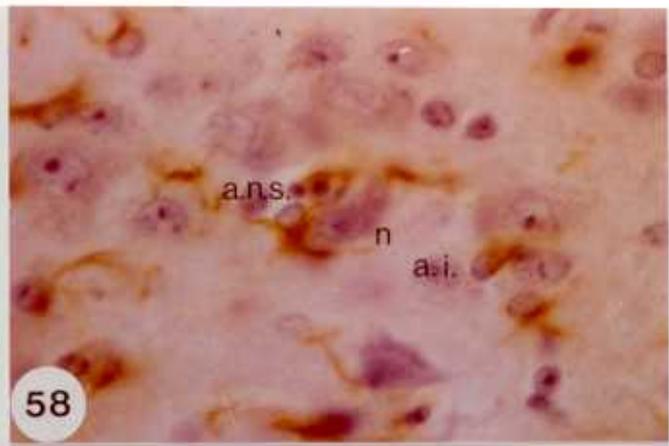
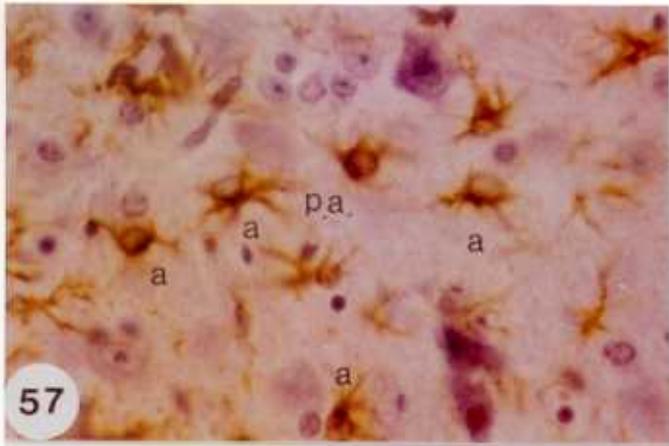
- Fig. 41 Limitante entre s. gris y blanca. Vaso en sustancia blanca, con dos astrocitos contactando mutuamente sus prolongaciones para posteriormente deshilacharse a corta distancia del soma. x 1000.
- Fig. 42 Prolongación astrocitaria contactando con la pared vascular, (flecha) sólo se observa inmunotinción positiva en la pared vascular en esta zona de contacto. x 1250.
- Fig. 43 Somas astrocitarios emitiendo prolongaciones más finas que rodean a los somas de neuronas motoras viscerales con siluetas fusiformes y redondeadas. x 1250.
- Fig. 44 Astrocitos con cuerpo polimorfo y prolongaciones adaptadas a somas y fibras neuronales, formando todo un entramado muy tupido glioneural. x 1250.
- Fig. 45 Neuronas con somas polimorfos, predominando los bipolares, con prolongaciones finas. Entre ellas se observan espacios densamente poblados de astrocitos. x 1250.
- Fig. 46 Astrocitos con una prolongación que contacta con una pared vascular y en esta a su vez se van destacando pies vasculares a lo largo de su trayecto, con diferentes tamaños. (flechas) x 1575.
- Fig. 47 Astrocito satélite perivascular (flecha). Largas prolongaciones astrocitarias que terminan en pies vasculares. x 1575.
- Fig. 48 Base de las astas dorsales. Núcleo de Stilling-Clarke. En él se observan neuronas cuyos axones penetran en la sustancia blanca y se integran en los haces espino cerebelosos dorsales (de Flechsig) y ventrales de (haz de Gowers). x 626.



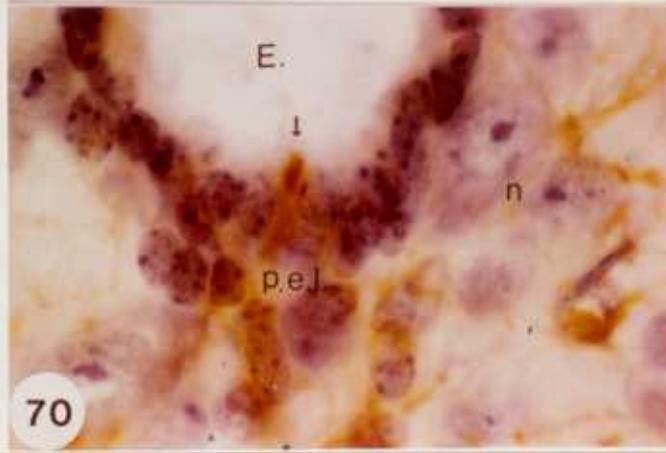
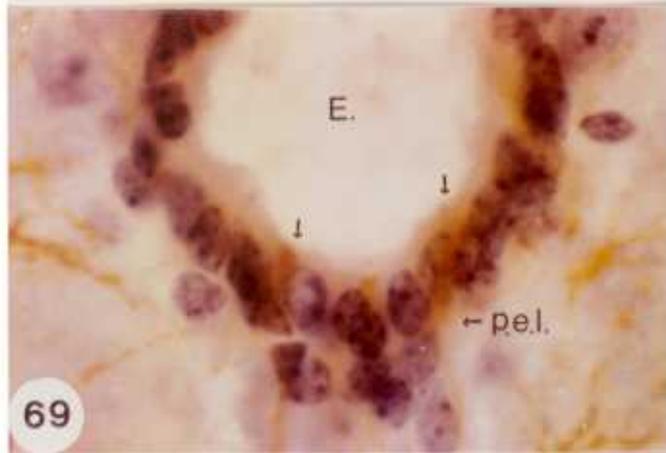
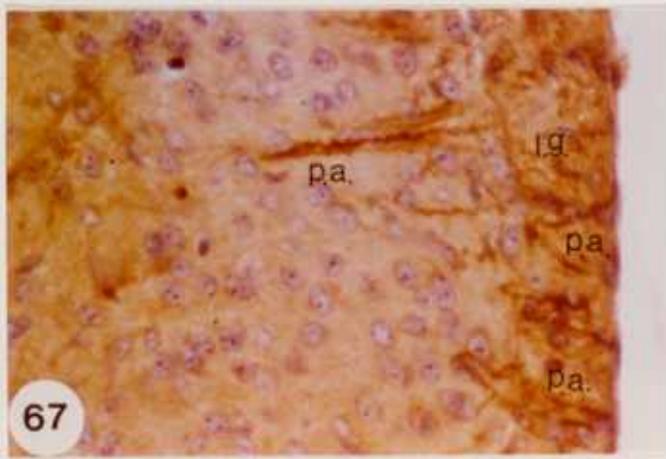
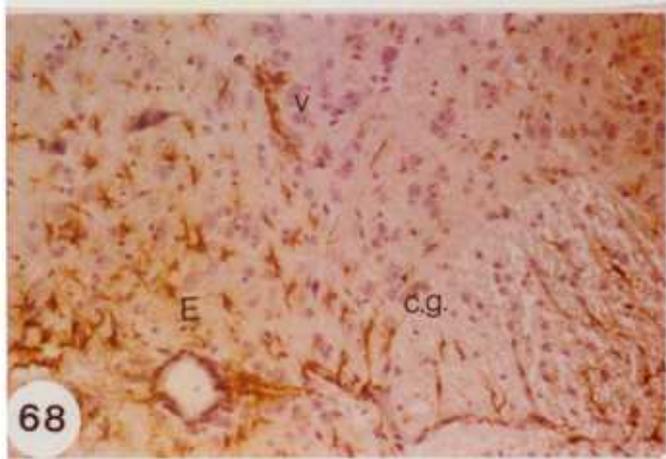
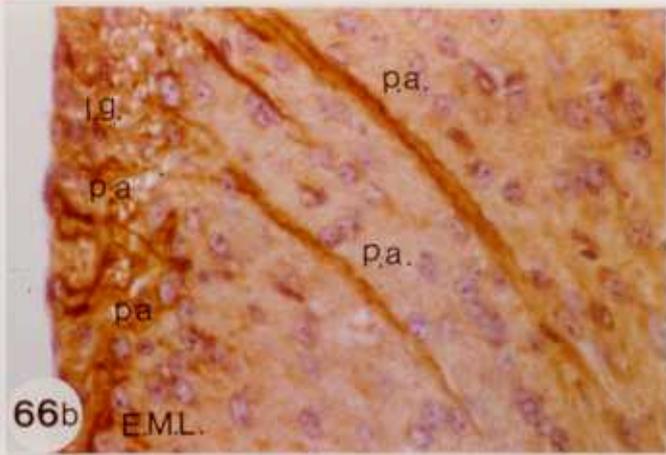
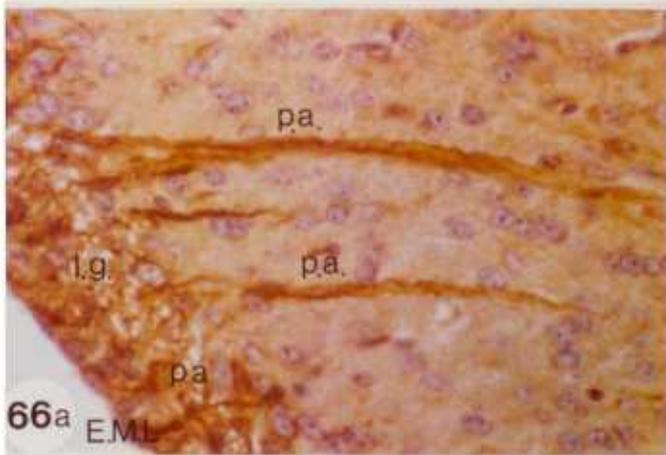
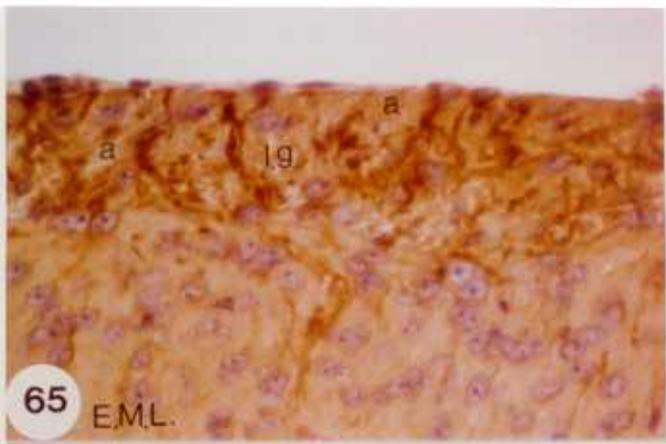
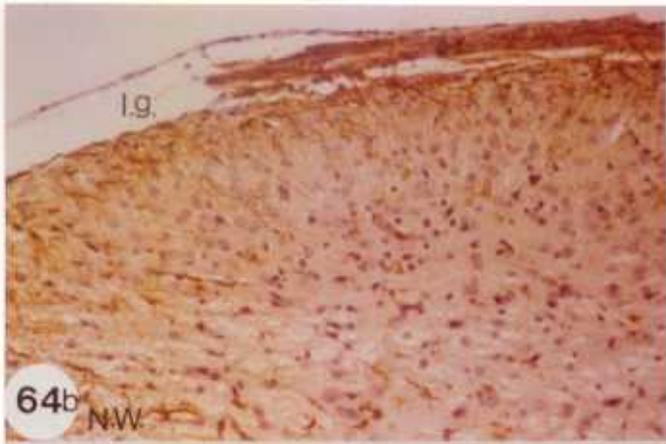
- Fig. 49 Prolongación astrocitaria a su salida a la sustancia blanca. x 1000.
- Fig. 50 Astrocitos que sitúan su soma en la sustancia gris y envían sus prolongaciones, acompañando a axones neurales situados detrás del núcleo de Clarke. x 625.
- Fig. 51 Soma astrocitario entre sustancia gris y blanca. x 1250.
- Fig. 52 Prolongaciones astrocitarias rodeando somas neuronales. A veces solo unidireccionalmente. x 1250.
- Fig. 53 Astrocitos gemelos, con adosamiento de dos somas en paralelo y entrelazamiento de sus prolongaciones. x 1250.
- Fig. 54 Astrocitos del núcleo de Clarke, enviando sus prolongaciones en diferentes sentidos sobre un soma neuronal ovoide. x 1000.
- Fig. 55 Soma neuronal rodeado prácticamente en todo su contorno por el componente astrocitario. Núcleo de Clarke. x 1250.
- Fig. 56 Núcleo propio. x 625.



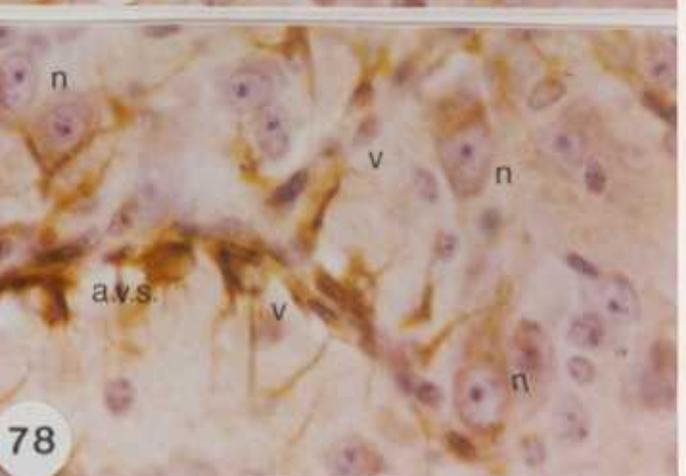
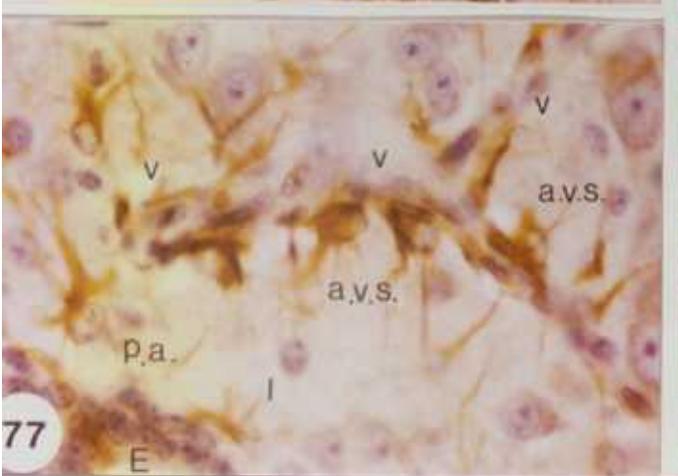
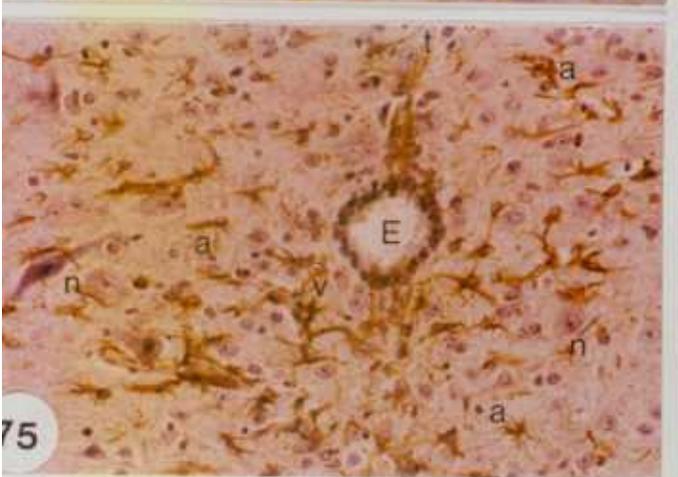
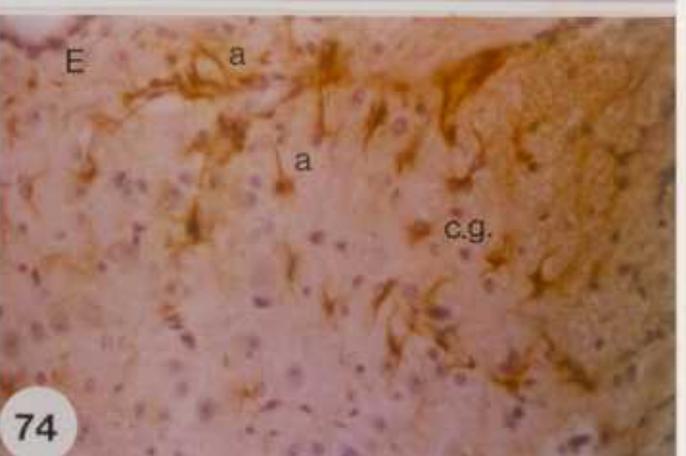
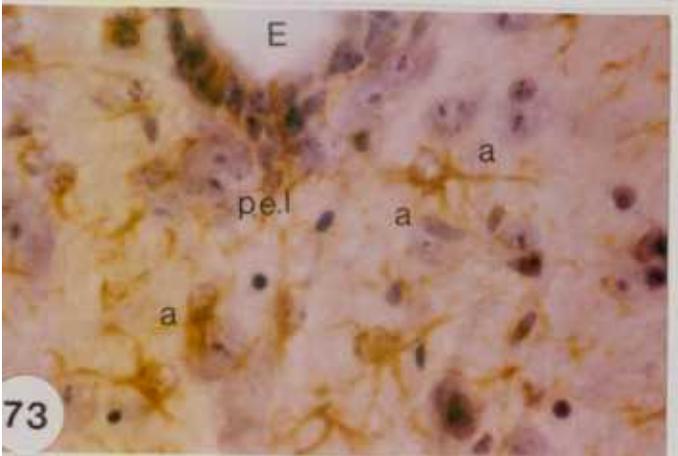
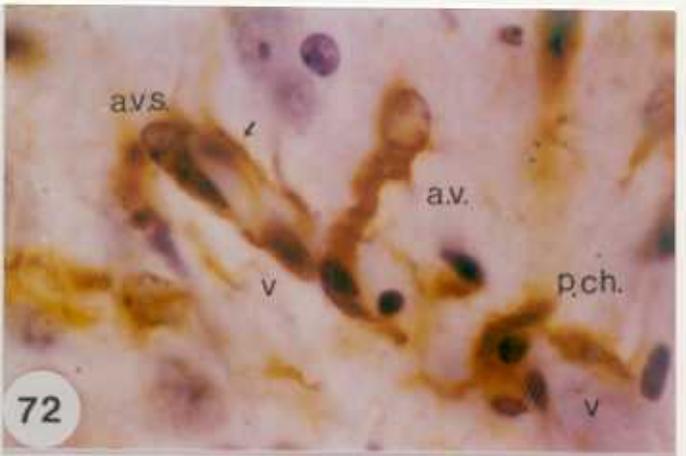
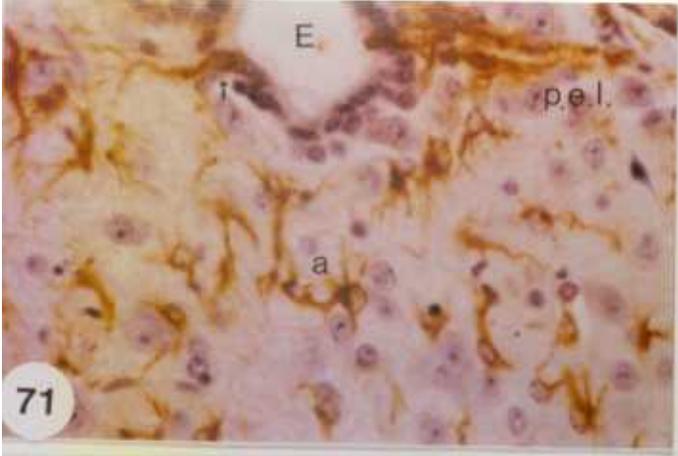
- Fig. 57 Somas astrocitarios de los que parten cuatro o cinco prolongaciones en sentido contrario a donde se sitúa el soma. x 1000.
- Fig. 58 Zona próxima a la sustancia blanca donde se observa un astrocito que adosa su pequeño soma y una prolongación gruesa a una neurona. x 1000.
- Fig. 59 Zona periependimaria dorsal. Algunos vasos son abordados por numerosas prolongaciones finas, de astrocitos próximos, formando numerosos pies vasculares. x 1000.
- Fig. 60 Somas gliares adosados a la pared vascular (flecha), en la zona periependimaria dorsal. x 1000.
- Fig. 61 Sustancia gelatinosa de Rolando en la zona de transición próxima al cuello de las astas dorsales, por encima del Núcleo Propio. x 625.
- Fig. 62 Astrocito satélite con su soma adosado al de una neurona y otros dos próximos a él. x 1000.
- Fig. 63 Zona dorsal de la sustancia gelatinosa próxima al Núcleo de Waldeyer, donde la densidad astrocitaria aparentemente aumenta. x 1000.
- Fig. 64a Núcleo de Waldeyer, concentración neuronal que recibe aferencias estereoceptivas, donde la densidad astrocitaria es muy escasa y solo ocasionalmente se observa algún soma astrocitario. x 625.



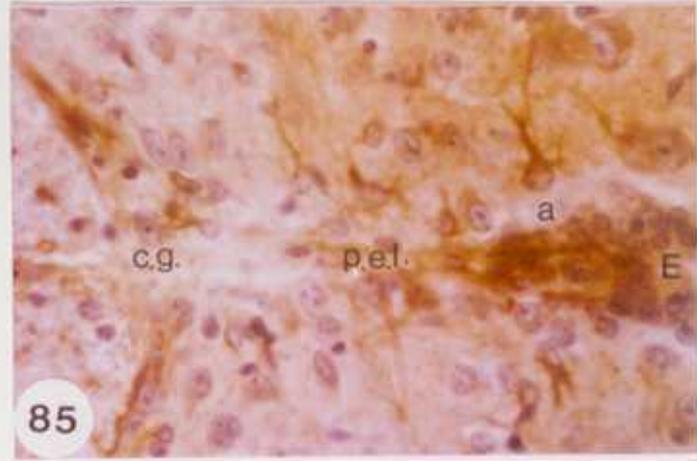
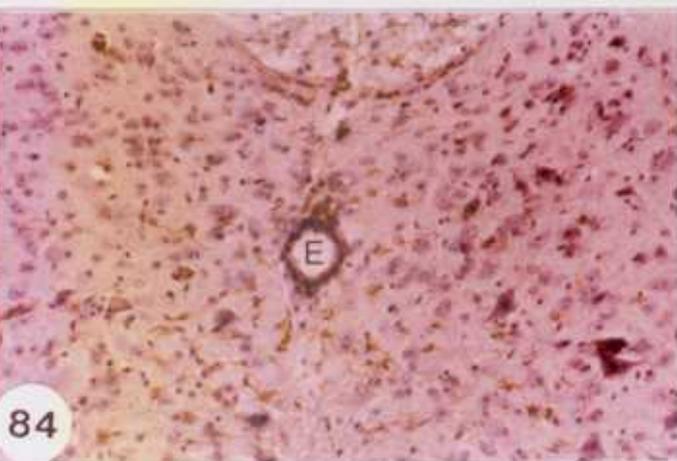
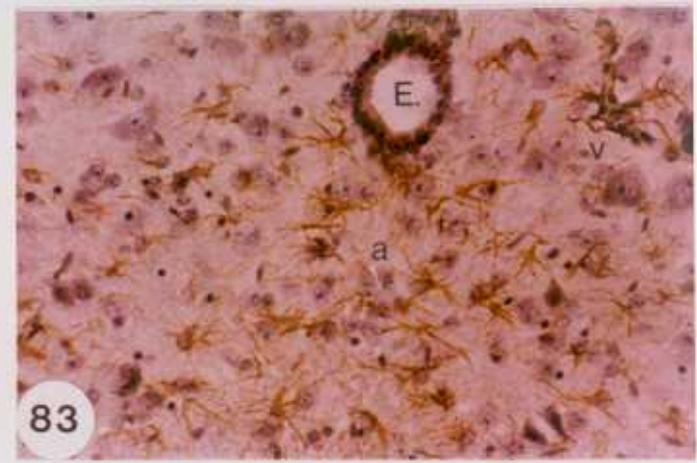
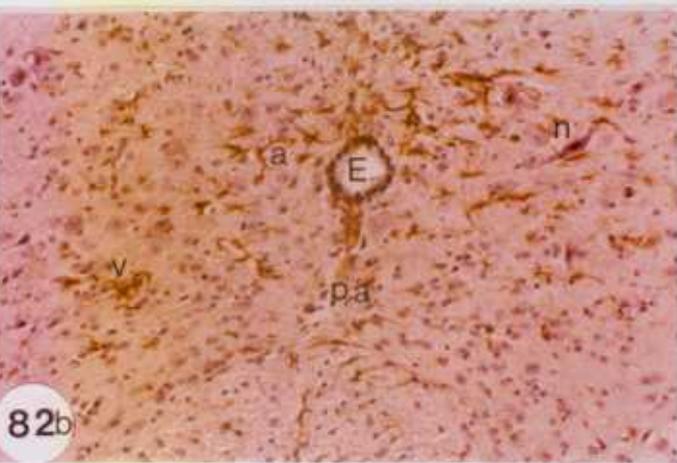
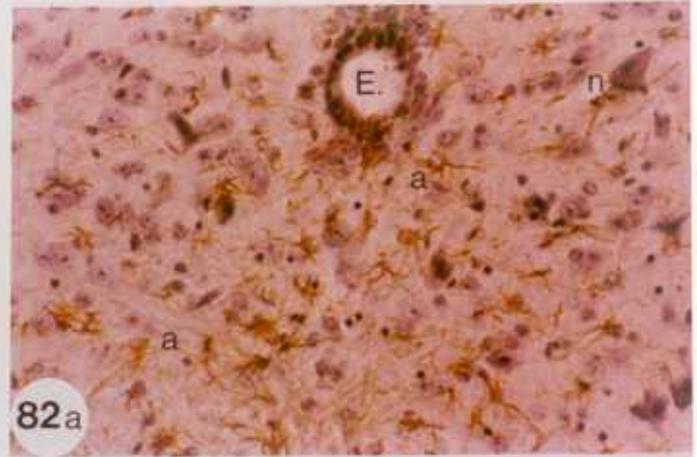
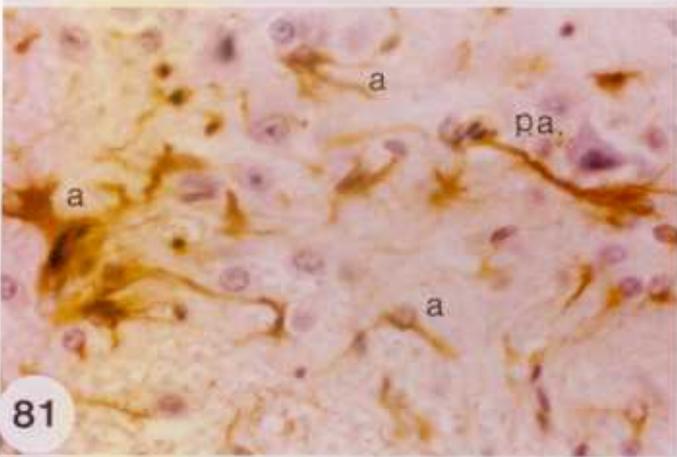
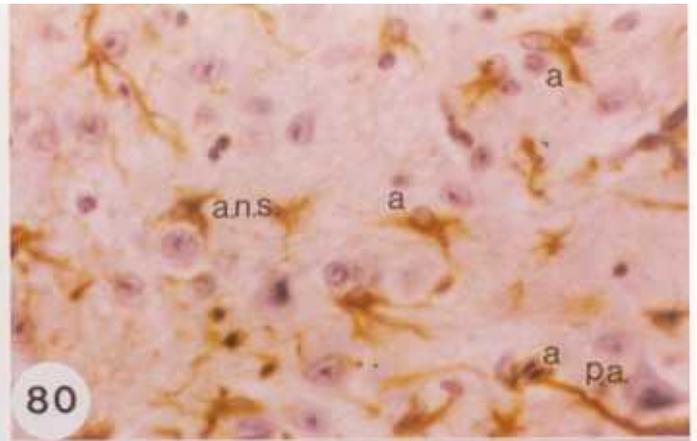
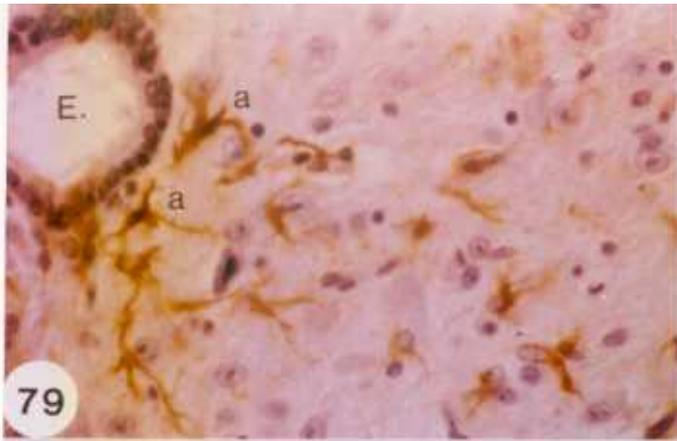
- Fig. 64b Prolongación del área del Núcleo de Waldeyer. x 625.
- Fig. 65 Espacio marginal de Lissauer, los somas astrocitarios se encuentran en el límite de la sustancia blanca, desde donde emergen multitud de prolongaciones de gran longitud. x 1000.
- Fig. 66a Prolongaciones astrocitarias muy largas del espacio marginal de Lissauer, 300 $\mu$ . acompañadas de otras cortas que pertenecen a la sustancia blanca y forman parte de la limitante externa. x 1000.
- Fig. 66b Estas prolongaciones astrocitarias que discurren especialmente, en los sitios próximos a la entrada de las raíces dorsales, las finas prolongaciones astrocitarias se agrupan para formar fibras más gruesas. x 1000.
- Fig. 67 Panorámica de la zona marginal de Lissauer donde se observa que aparentemente la densidad astrocitaria desciende. x 1000.
- Fig. 68 Panorámica del epéndimo, zonas periependimarias dorsal, ventral y laterales, también se incluyen las comisuras grises ventral y dorsal. x 625.
- Fig. 69 Glía endimaria, representada por los endimocitos, se observan asociados para formar una capa epitelial neuróglia de un solo estrato revistiendo la pared de las cavidades del neuroeje, formando la limitante interna. x 1250.
- Fig. 70 Limitante endimaria externa, formada por los cuerpos celulares de glía especializada, y los extremos ensanchados de las prolongaciones astrocitarias. x 1250.



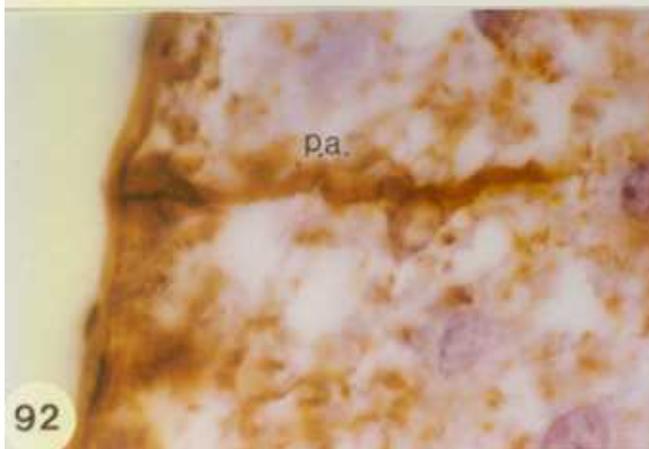
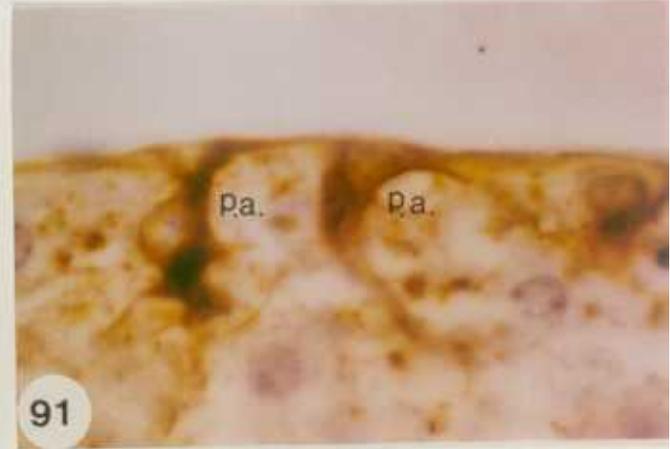
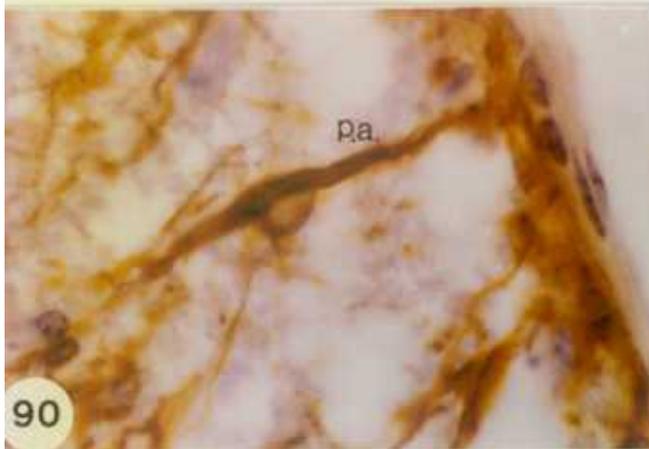
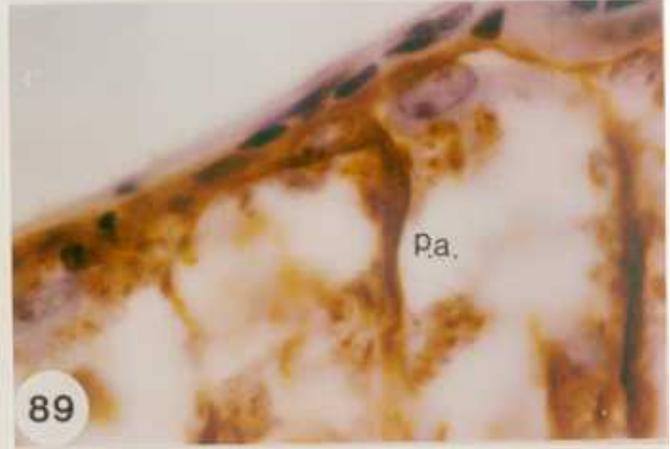
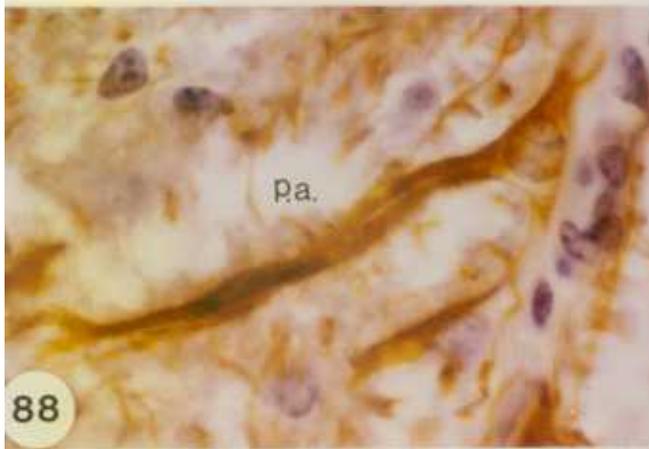
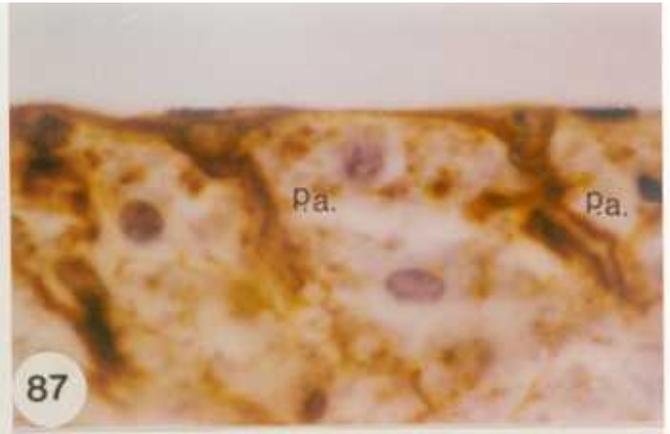
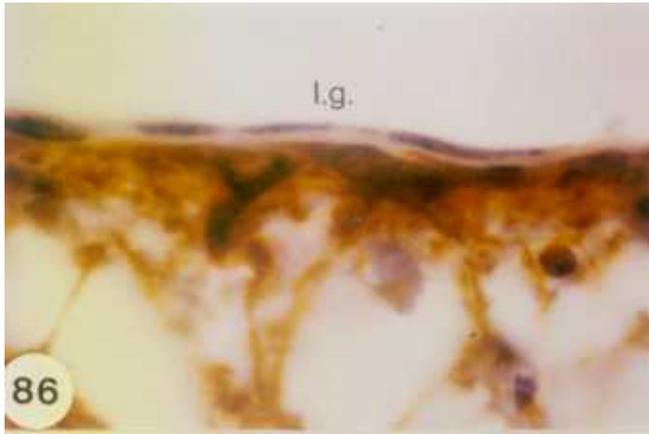
- Fig. 71 Soma glial participando en la formación del epéndimo. En la zona dorsal se observan prolongaciones astrocitarias largas que contactan con la luz endimaria. x 1000.
- Fig. 72 Astrocito perivascular enviando una prolongación gruesa a la pared vascular donde se adosa. En el extremo del vaso se observa un astrocito perivascular satélite. x 1575.
- Fig. 73 Zona endimaria dorsal o supraendimaria, donde se observa una tupida red astroglial. x 1000.
- Fig. 74 Comisura gris dorsal. x 625.
- Fig. 75 Zona perieendimaria con abundantes astrocitos. x 1000.
- Fig. 76 Vaso de gran tamaño, con somas astrocitarios sobre la pared vascular, emitiendo prolongaciones tanto a lo largo del vaso como hacia la sustancia gris, envolviendo a somas neuronales. x 1250.
- Fig. 77 Prolongaciones que llegan a la luz endimaria y contactan con otras de astrocitos próximos. Astrocitos enviando prolongaciones tanto al vaso como a la luz endimaria (abajo y a la izquierda de la imagen). x 1250.
- Fig. 78 Somas neuronales próximos a la pared del vaso interponiéndose siempre un componente astrocitario (flechas). Astrocitos perivascuales satélites. x 1250.



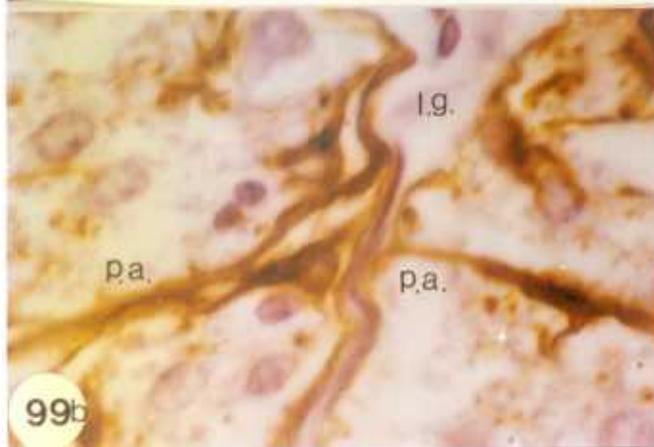
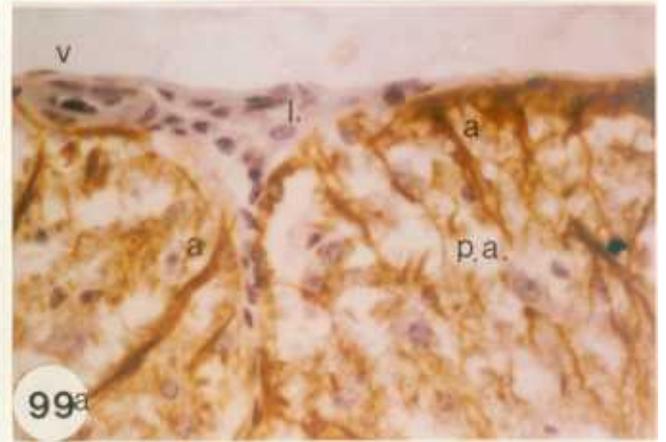
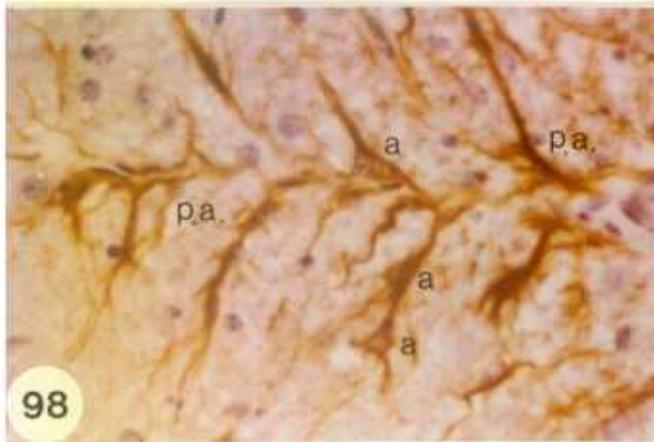
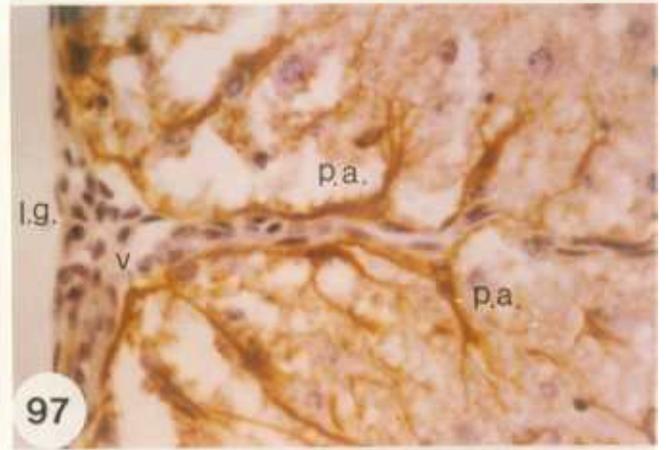
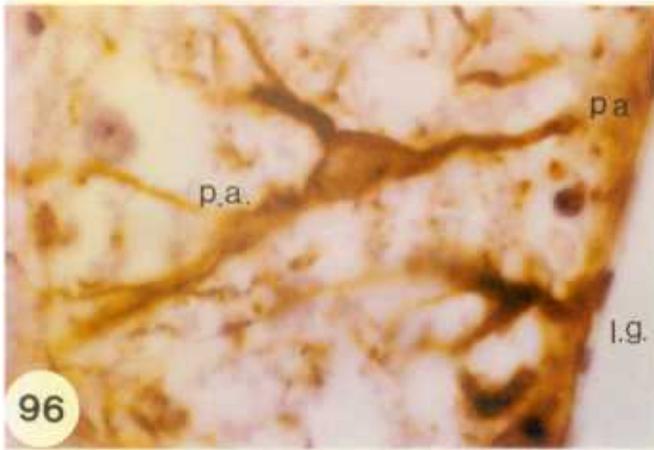
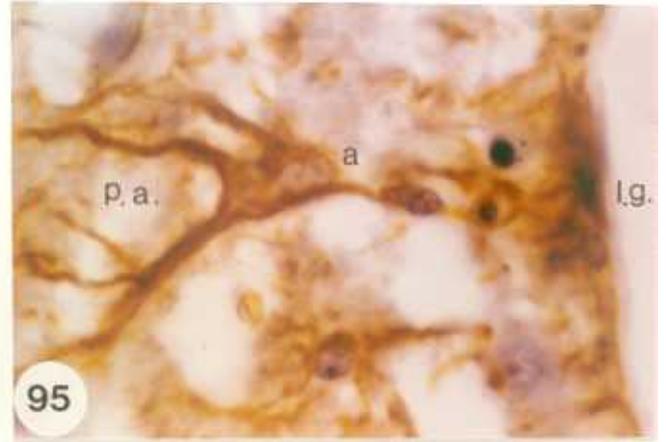
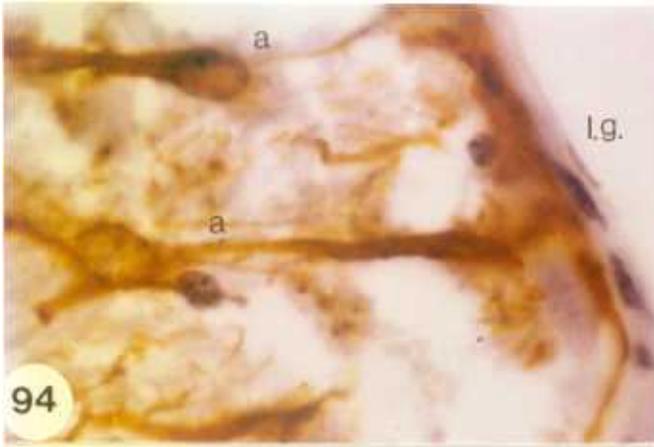
- Fig. 79 Zonas laterales periependimarias, donde se observan astrocitos grandes con sus somas, próximos al epéndimo y envían largas prolongaciones a las zonas laterales de sustancia gris. x 1000.
- Fig. 80 Astrocitos perineuronales satélites con su soma y prolongaciones rodeando prácticamente todo el contorno neuronal. x 1000.
- Fig. 81 Zonas laterales próximas a la sustancia blanca. x 1000.
- Fig. 82a Panorámica de la zona ventral periependimaria. x 625.
- Fig. 82b Zona ventral periependimaria, con numerosos astrocitos. x 1000.
- Fig. 83 Zona dorsal ependimaria formada por finas prolongaciones astrocitarias que se entrecruzan entre ellas, contactando entre sí en multitud de ocasiones. x 625.
- Fig. 84 Comisura gris dorsal, prolongaciones de astrocitos contribuyen a formar una frontera discontinua en la que discurren haces de prolongaciones muy finas entre la sustancia gris y blanca. x 500.
- Fig. 85 Comisura gris dorsal y Surco medio dorsal. x 1000.



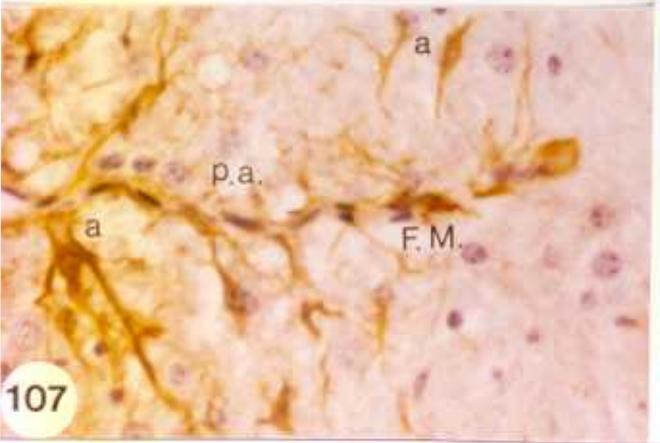
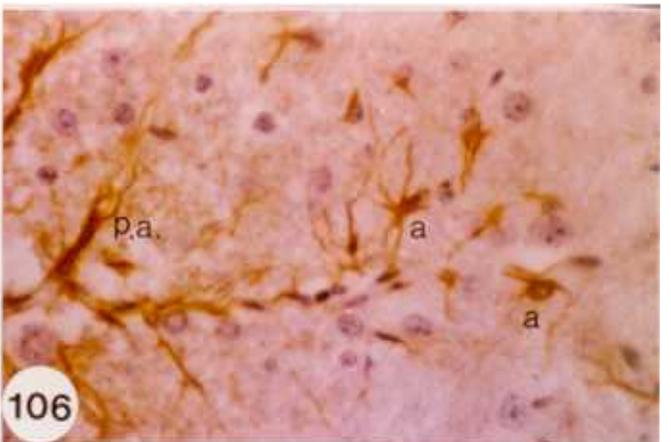
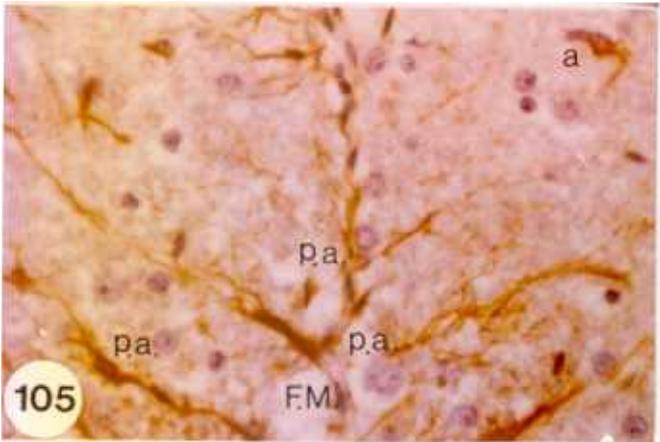
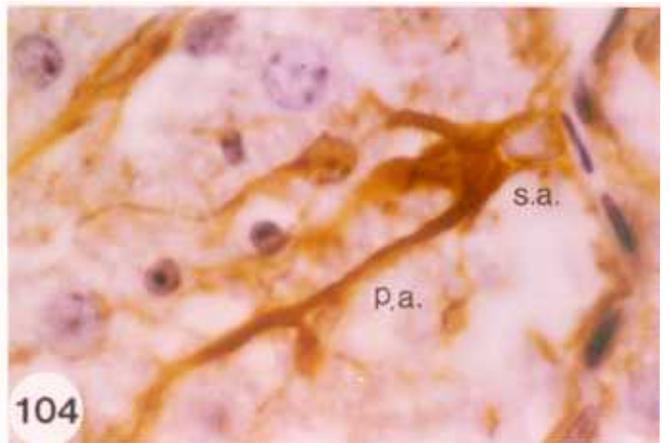
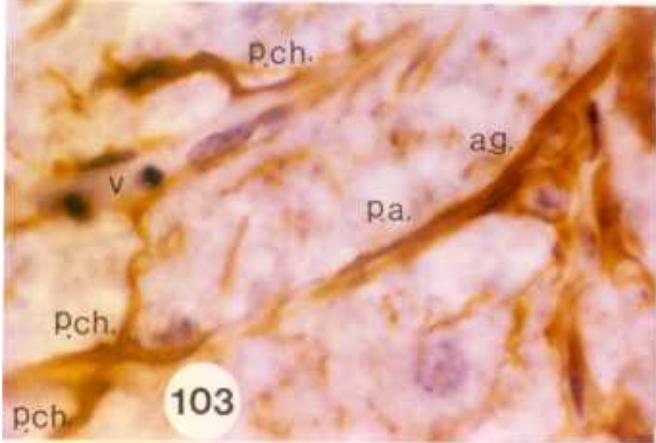
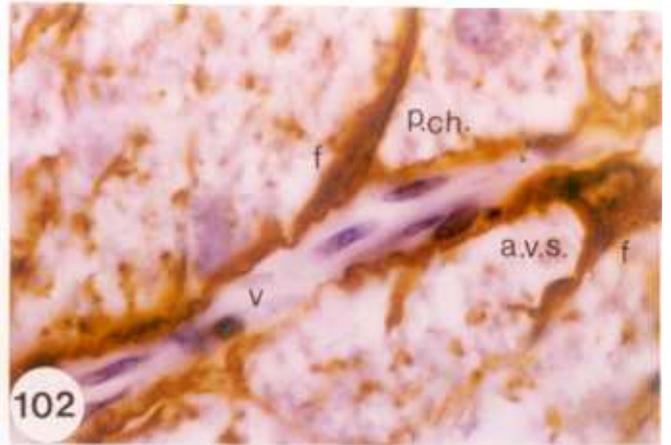
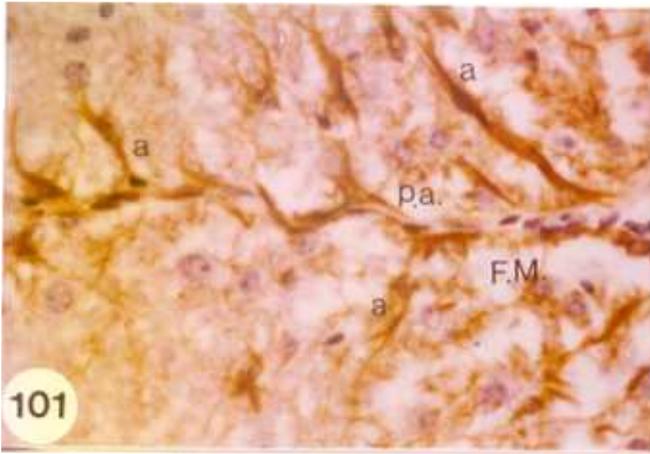
- Fig. 86 Limitante subpial de la zona ventral de sustancia blanca. Somas y prolongaciones densamente agrupados con inmunotinción G.F.A.P. positiva. Debajo de esta limitante se observa en la periferia medular una condensación de capas meníngicas. x 1575.
- Fig. 87 Astrocitos de soma triangular o poligonal que emiten unas finas prolongaciones a ambos lados del soma en situación paralela al límite medular. También emiten otra mucho más larga y gruesa hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 88 Astrocitos de soma redondeado, emitiendo finas prolongaciones a ambos polos del núcleo en paralelo a la limitante leptomeníngica y otra más larga y ancha hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 89 Astrocitos de soma ovalado adosado al límite medular según el eje opositopolar de las dos prolongaciones primarias. Emite una colateral gruesa a este límite externo y otra hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 90 Astrocito de soma redondeado que emite una sola prolongación y ésta bordea al propio soma para luego dividirse en dos sentidos opuestos, uno incluido en la franja subpial y otro extremo hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 91 Astrocitos de soma poligonal, que contacta su soma poligonal a la limitante subpial. x 1575.
- Fig. 92 Astrocitos que disponen su soma a cierta distancia de la limitante subpial y envían una sola prolongación subdividida en dos sentidos hacia la limitante subpial, donde se engrosa y otra hacia la sustancia gris donde se adelgaza y es más corta. x 1575.
- Fig. 93 Astrocito que dispone su soma a cierta distancia de la limitante subpial. Envía una prolongación somática hacia la sustancia gris que se engrosa en su base. xx 1575.



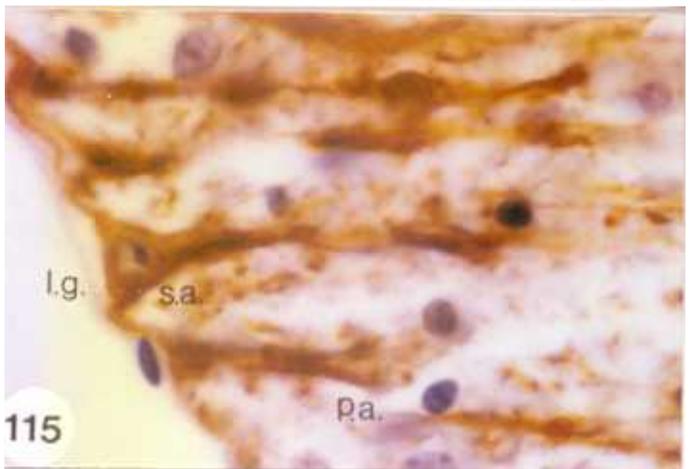
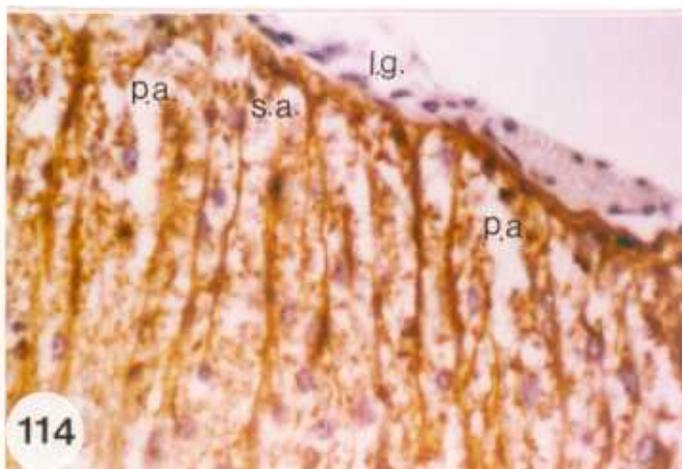
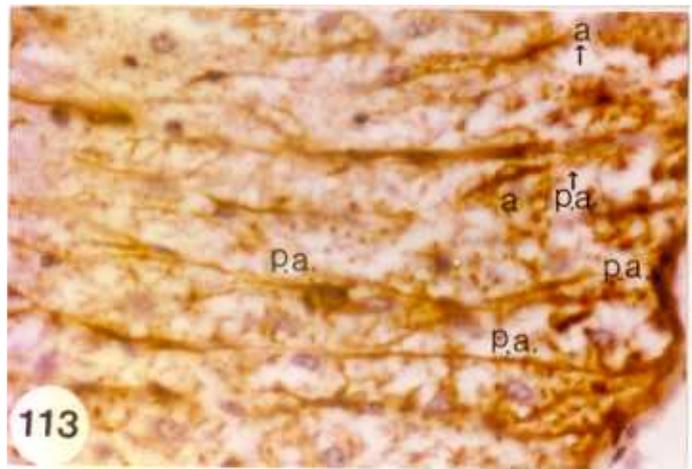
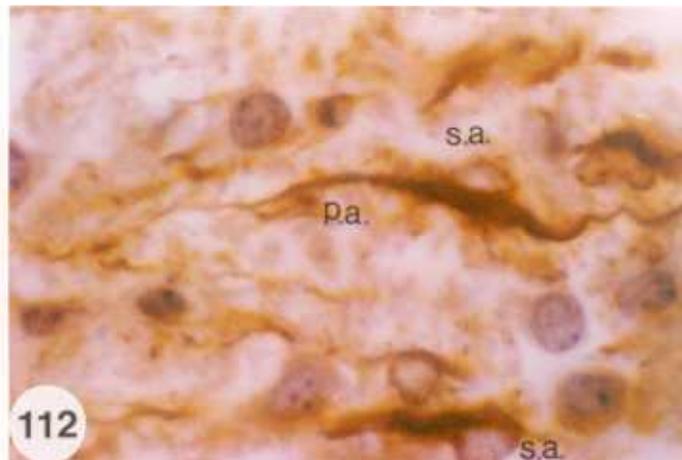
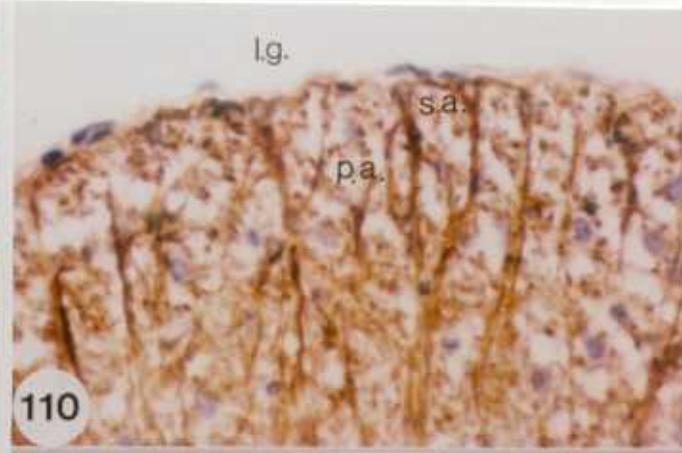
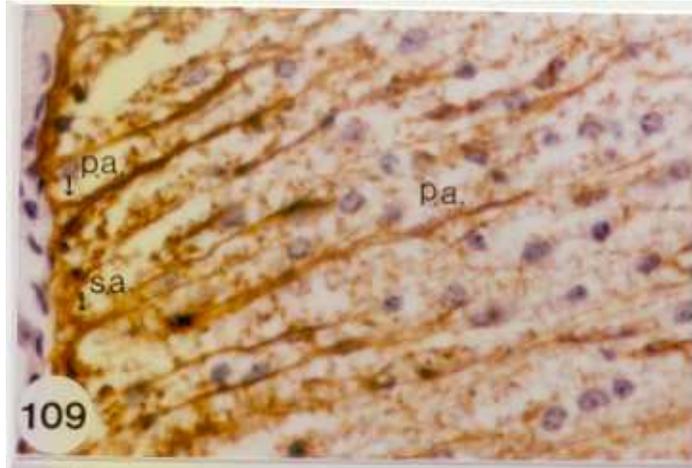
- Fig. 94 Astrocito que dispone su soma a cierta distancia de la limitante subpial. La prolongación somática que envía hacia la limitante se va engrosando paulatinamente hacia esta limitante también envía cuatro prolongaciones más cortas y mucho más finas que la anterior en sentidos contrapuestos. x 1575.
- Fig. 95 Astrocito de soma poligonal o triangular, con prolongaciones muy polimorfas, que progresan hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 96 Astrocito de soma triangular con una única prolongación somática hacia la limitante subpial y dos mucho más gruesas que la anterior, hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 97 Fisura media ventral. La franja subpial G.F.A.P. positiva, cubre todo el contorno de esta. x 1250.
- Fig. 98 Zona terminal de la Fisura media ventral. x 1250.
- Fig. 99a Entre los brazos superiores de la fisura media ventral existen restos de meninges y la arteria medular anterior que discurre de forma continua perpendicular a los cortes. (flecha) x 1250
- Fig. 99b Los somas astrocitarios se disponen mayoritariamente en la propia franja subpial, enviando prolongaciones largas en sentido contrario. x 1575.
- Fig. 100 Astrocitos que sitúan su soma ovalado a cierta distancia, de esta franja subpial enviando una sola prolongación a ambos lados del soma hacia la sustancia gris y hacia la propia franja subpial. x 1575.



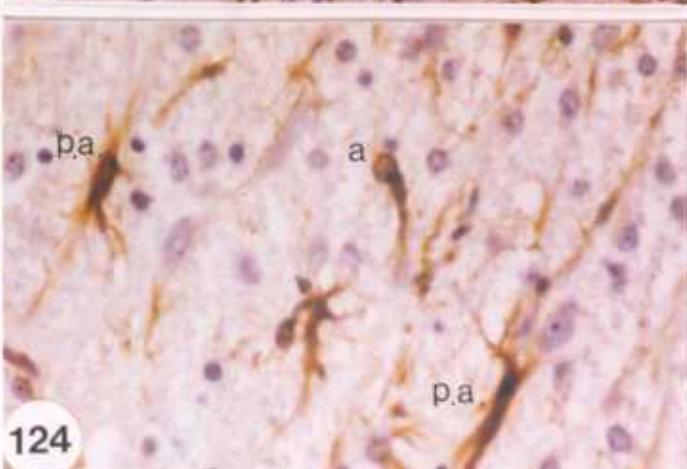
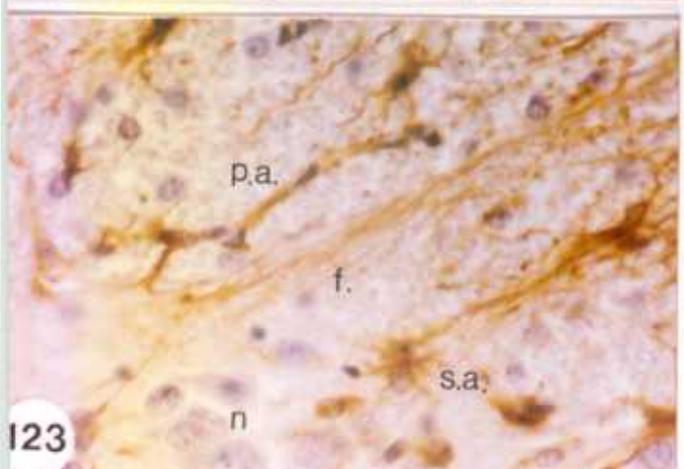
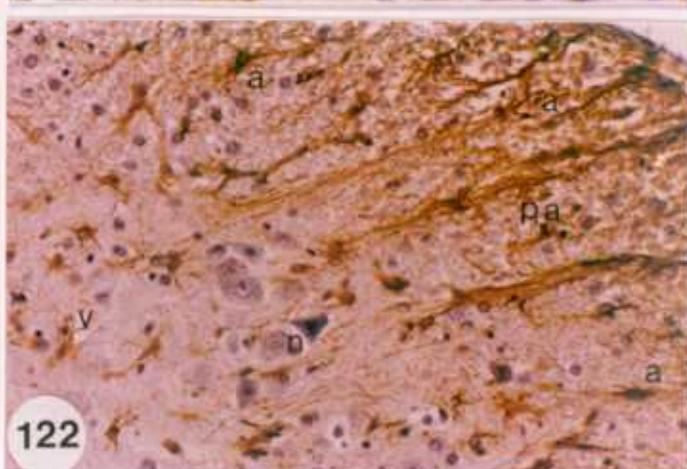
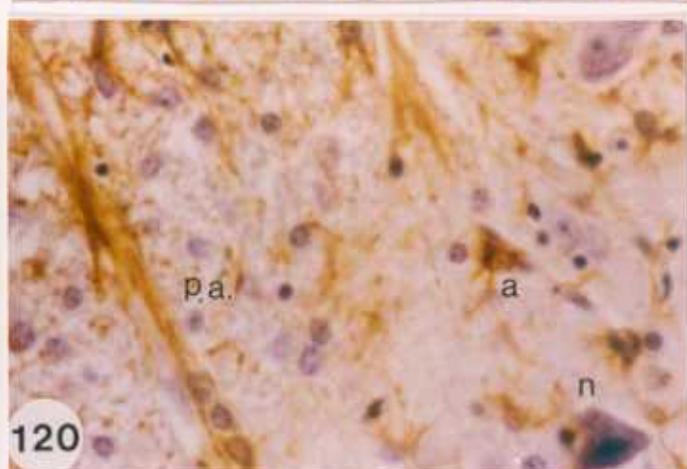
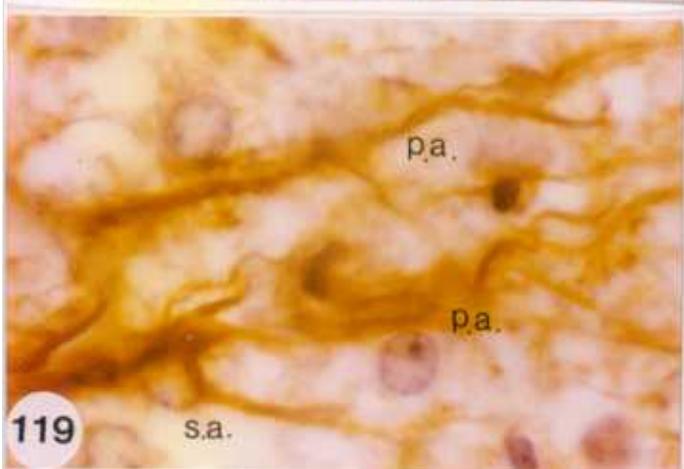
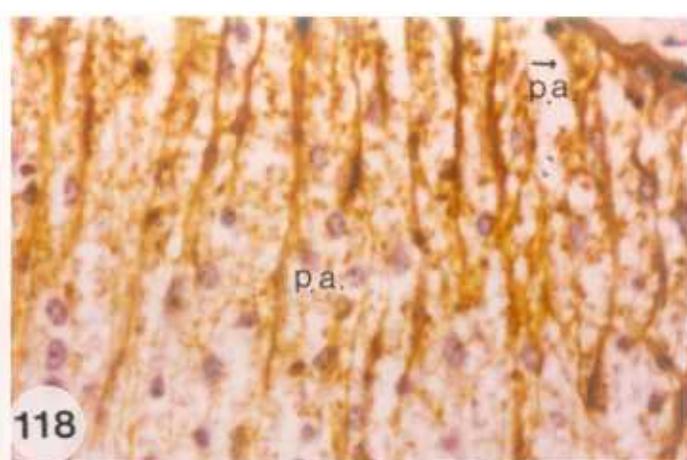
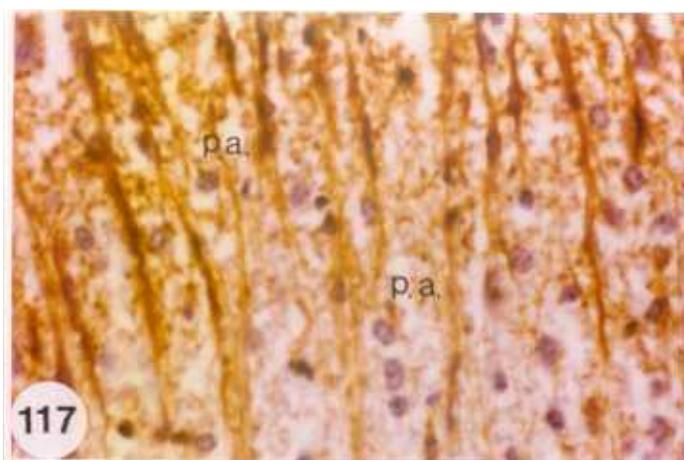
- Fig. 101 Zona intermedia de la fisura media ventral, en ella se localizan multitud de prolongaciones astrogliales G.F.A.P. positivas. x 1250.
- Fig. 102 Vaso perteneciente a la arteria medular anterior en el que se observa un pie astrocitario vascular de forma triangular con multitud de finas fibras astrocitarias en su interior, dispuesto sobre el endotelio capilar y un astrocito satélite perivascular. Nótese la positividad de la inmunorreacción en prácticamente todo el contorno vascular. x 1575.
- Fig. 103 Astrocitos gemelos que disponen sus somas en la limitante subpial y emiten una sola prolongación somática hacia la sustancia gris y en su recorrido se puede apreciar como ésta contacta con la de otro astrocito contiguo que está enviando a su vez un pie astrocitario a un vaso próximo. En este mismo vaso también se visualiza otro pie vascular mayor en la zona superior izquierda de la imagen. x 1575.
- Fig. 104 Astrocito de soma redondeado, con una zona desnuda del soma que se aplica a esta fisura media. x 1575.
- Fig. 105 Prolongaciones astrocitarias de la zona intermedia fisural, que se encuentran con frecuencia ramificadas en multitud de prolongaciones más finas, y que presentan entrecruzamientos entre ellas. x 1000.
- Fig. 106 Zona próxima a la comisura gris ventral donde se observan astrocitos fibrosos y astrocitos protoplásmicos. Nótese sus diferencias morfológicas. x 1000.
- Fig. 107 La zona terminal de la fisura media ventral, es de naturaleza glial y presenta forma redondeada con multitud de prolongaciones finas que llegan a ella. x 1000.
- Fig. 108 Contorno de la zona terminal de la fisura media con inmunotinción positiva. x 1575.



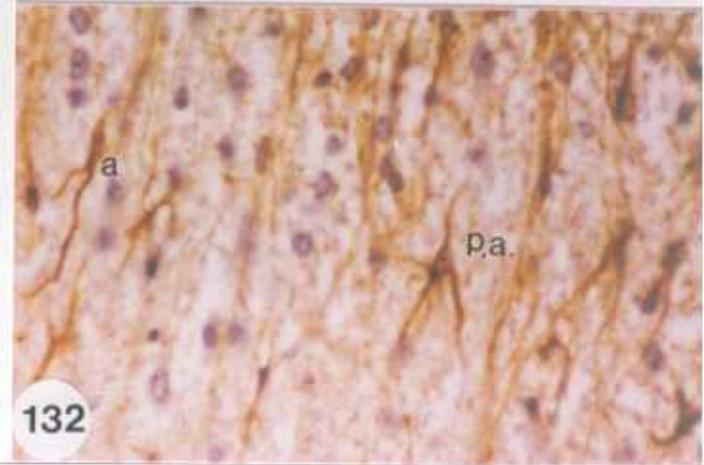
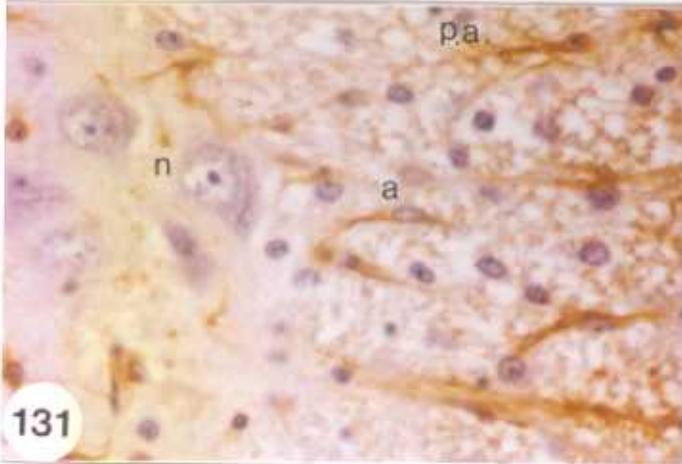
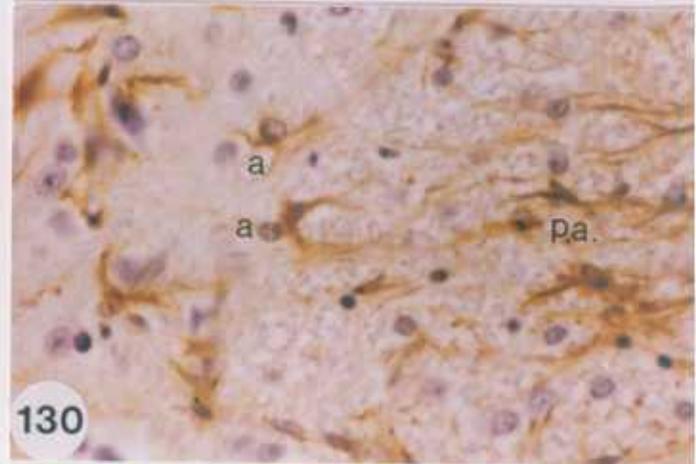
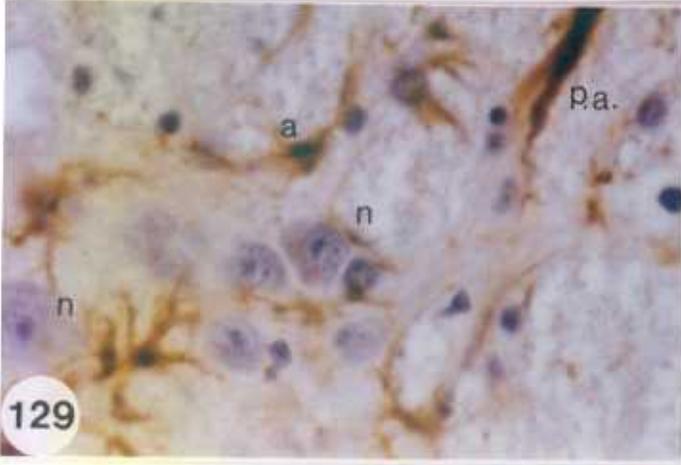
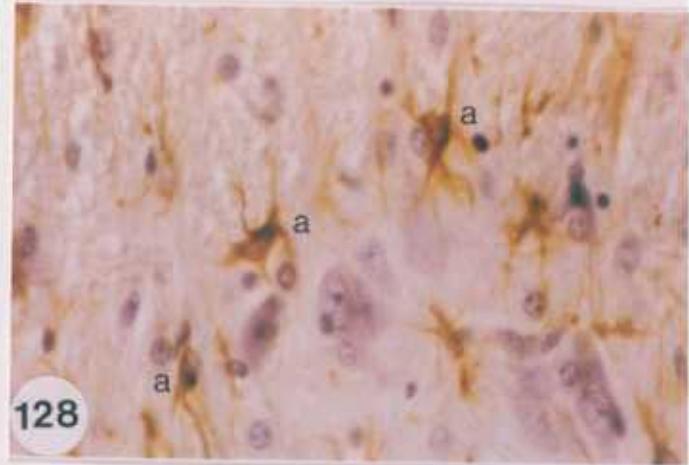
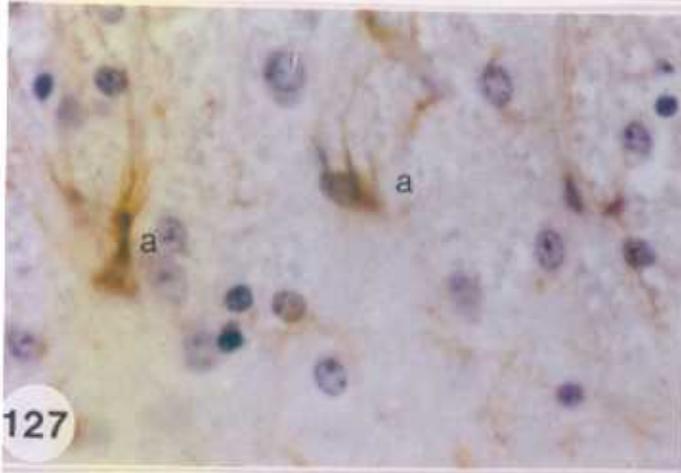
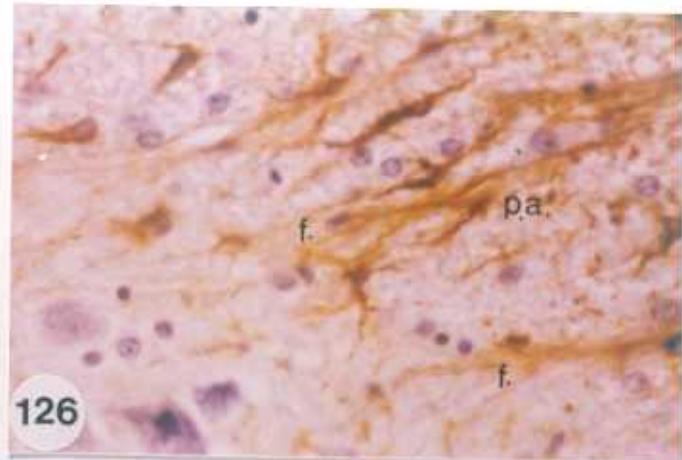
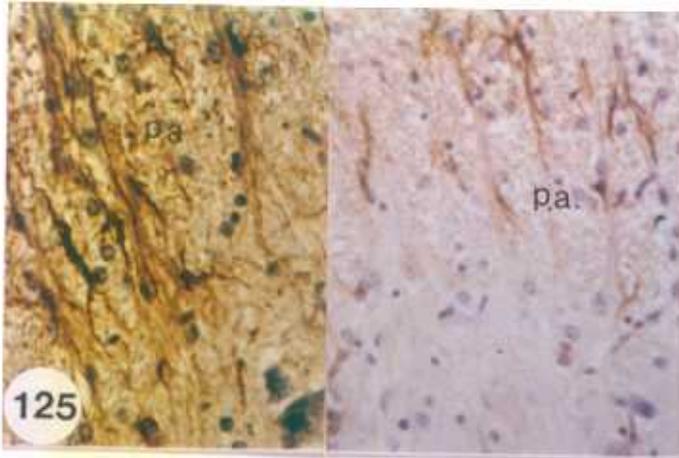
- Fig. 109 Zonas laterales medulares, con somas astrocitarios en la limitante glial externa, enviando largas prolongaciones en disposición paralela a la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 100 La sustancia blanca lateral medular se encuentra fragmentada por tabiques y septos. x 1000.
- Fig. 111 Prolongaciones astrocitarias del cordón lateral limitante, con una disposición de paralelismo. x 1575.
- Fig. 112 Astrocitos con su soma entre la franja subpial y la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 113 Obsérvese la longitud de estas prolongaciones astrocitarias, del cordón lateral, probablemente después de las de la zona marginal de Lissauer sean las más largas de la médula. x 1000.
- Fig. 114 Somas astrocitarios muy próximos situados en la propia franja subpial. x 1000.
- Fig. 115 Somas astrocitarios de forma triangular enviando finas prolongaciones a ambos lados del soma, y otra más gruesa hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 116 Somas astrocitarios con formas redondeadas, en la limitante subpial. x 1575.



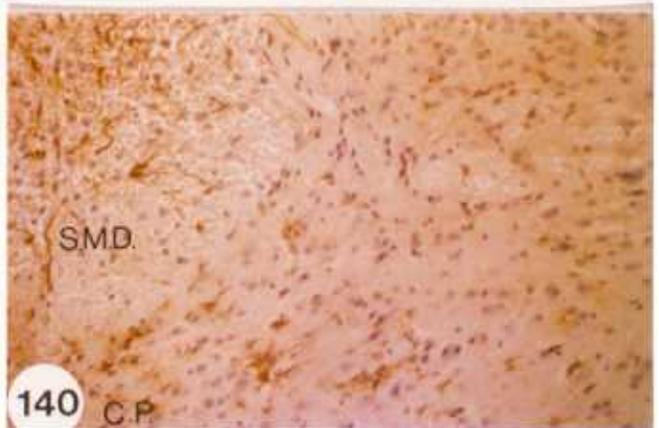
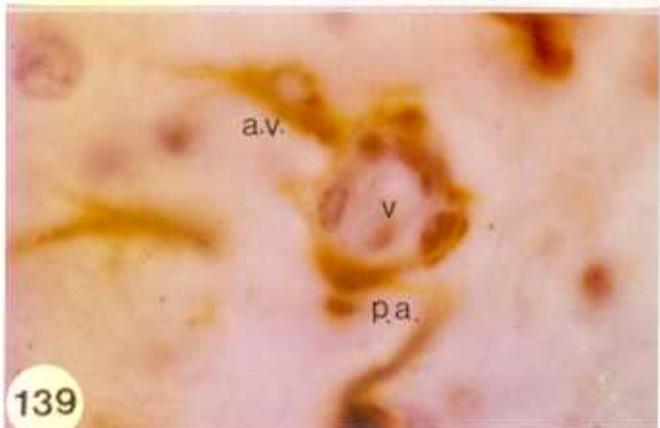
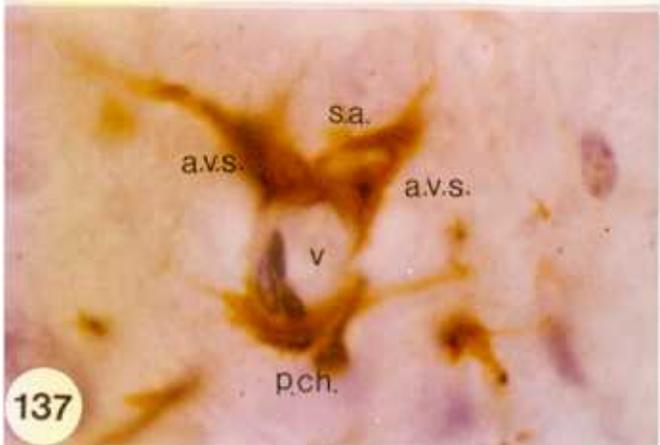
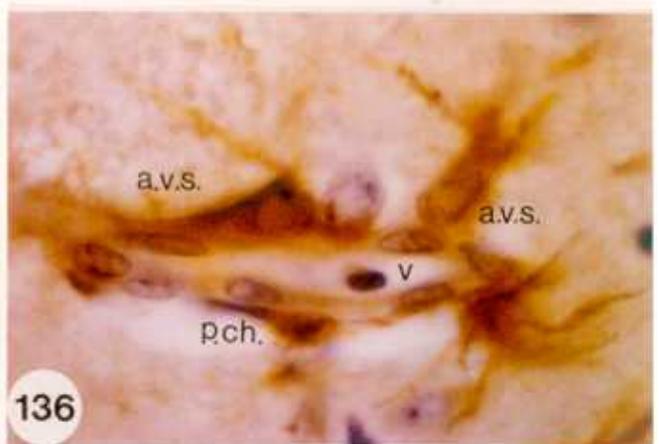
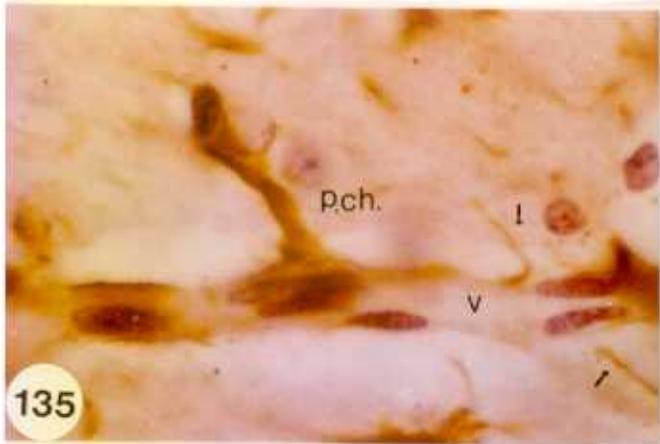
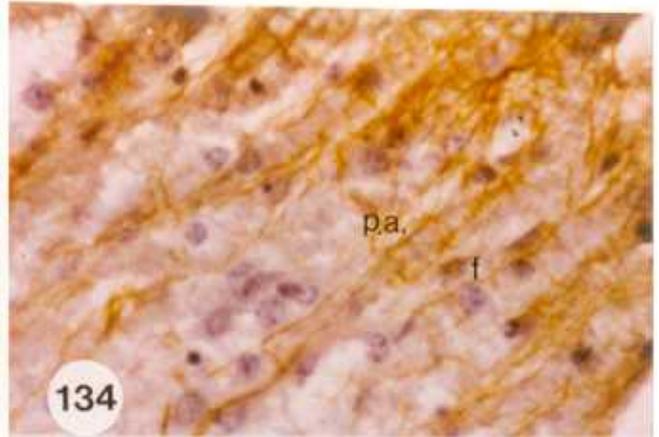
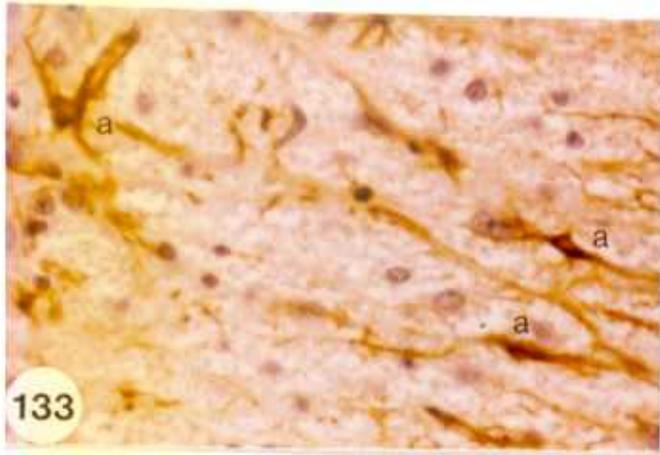
- Fig. 117 Contacto entre las prolongaciones finas de unos astrocitos con las de los otros. x 1000.
- Fig. 118 Finas prolongaciones astrocitarias agrupadas para formar tabiques y septos medulares. x 1000.
- Fig. 119 Prolongaciones astrocitarias formando todo un entramado astrocitario. x 1575.
- Fig. 120 Prolongaciones astrocitarias sin ramificaciones que provienen de astrocitos que tienen su soma en la limitante subpial y llegan hasta la sustancia gris sin ramificarse. x 1250.
- Fig. 121 Asociación de finas prolongaciones de a. fibrosos y protoplásmicos formando los tabiques medulares. x 1250.
- Fig. 122 Zona lateral media entre franja subpial y sustancia gris. Nótese las finas prolongaciones astrocitarias. x 625.
- Fig. 123 Prolongaciones astrocitarias en el límite de la sustancia gris con la blanca. x 1250.
- Fig. 124 Astrocitos de la zona lateral media. x 1250.



- Fig. 125 Zona lateral de sustancia blanca que contacta con la sustancia gris. Obsérvese los haces o columnas de prolongaciones astrocitarias como se expanden en otras más finas. x 1000.
- Fig. 126 Prolongaciones astrocitarias ramificándose en otras más finas a su llegada a la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 127 Somas astrocitarios en los vértices entre tabiques medulares de la sustancia blanca. x 1250.
- Fig. 128 Somas astrocitarios entre los tabiques medulares. x 1000.
- Fig. 129 Límite entre sustancia gris y sustancia blanca. Algunas prolongaciones astrocitarias marcan la frontera entre ambas sustancias. x 1250.
- Fig. 130 Astrocitos protoplásmicos y fibrosos. Algunas prolongaciones de ambos contactan. x 1000.
- Fig. 131 Astrocitos con prolongaciones de corto trayecto, rodeando axones neuronales en las columnas medulares. x 1000.
- Fig. 132 Prolongaciones finas terminales, de la zona lateral medular. x 1000.



- Fig. 133 Prolongaciones gruesas de astrocitos de la zona lateral medular. x 1000.
- Fig. 134 Finas prolongaciones astrocitarias de zona lateral ventral. x 1000.
- Fig. 135 Vaso sanguíneo, con prolongaciones astrocitarias que llegan a él, formando pies astrocitarios. x 1575.
- Fig. 136 Astrocito satélite, con un soma adosado a la pared del vaso. x 1575.
- Fig. 137 Somas y prolongaciones astrocitarias, rodeando prácticamente en todo su contorno al vaso. Corte transversal. x 1575.
- Fig. 138 Pies astrocitarios en la pared de un vaso que tiene su entrada hacia el interior del epéndimo medular. x 1250.
- Fig. 139 Vaso con inmunotinción positiva en todo su contorno. x 1575.
- Fig. 140 Cordón posterior medular. Surco medio dorsal. x 625.



- Fig. 141 Limitante glial subpial con prolongaciones astrocitarias G.F.A.P. positiva. x 1000.
- Fig. 142 Surco medio dorsal y surcos paramedulares con tinción G.F.A.P. positiva. Separando el haz de Burdach y el haz de Goll. x 1000.
- Fig. 143 Surco medio dorsal, separando al haz de Goll en dos mitades. Astrocito fibroso con su soma en el inicio de este surco. x 1250.
- Fig. 144a Monocapa de prolongaciones astrocitarias muy largas y gruesas sin observar ningún soma astrocitario en este surco medio dorsal. x 1250.
- Fig. 144b Zona terminal del surco medio dorsal. x 1250.
- Fig. 145 Zona del cordón dorsal próxima a la comisura gris dorsal. x 1000.
- Fig. 146 Surco paramedular que separa el haz de Goll el haz de Burdach. x 1000.
- Fig. 147 Zonas de los surcos paramedulares próximos a la comisura gris dorsal. x 1000.

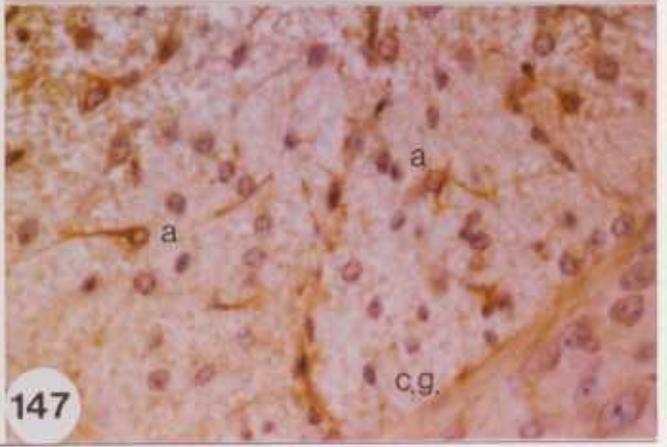
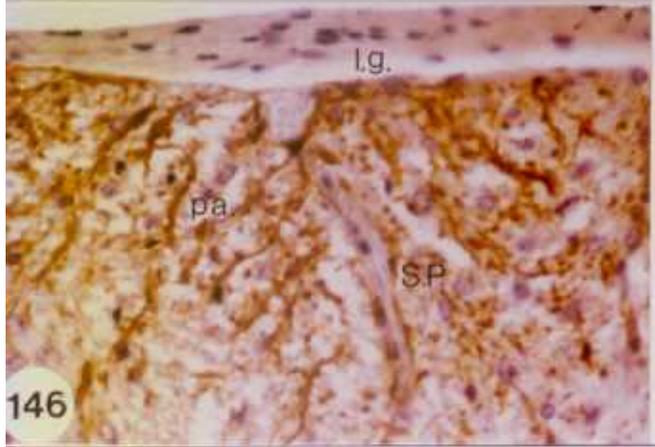
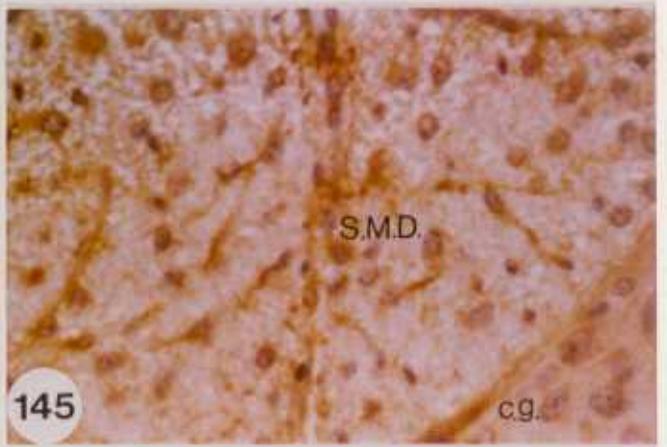
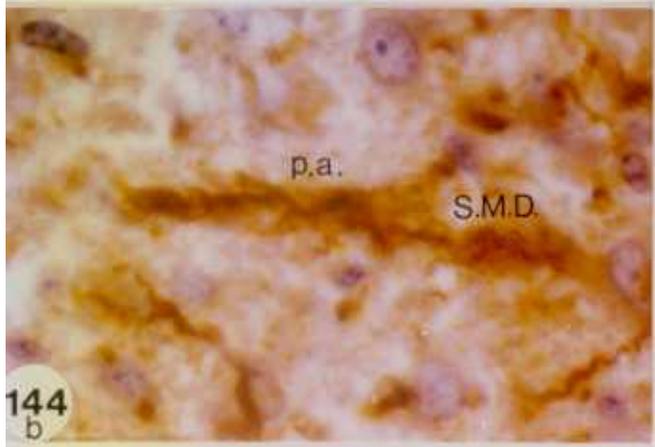
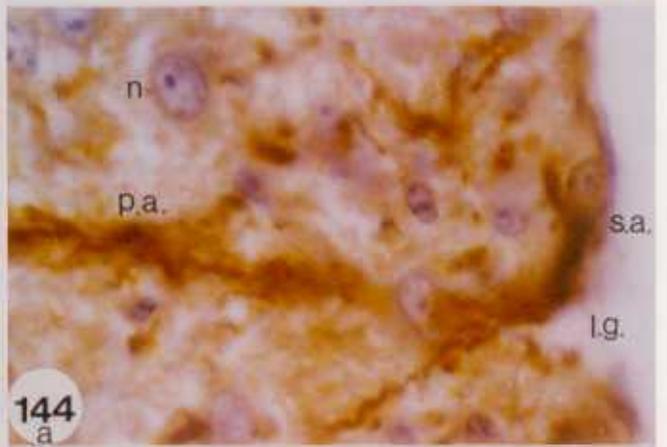
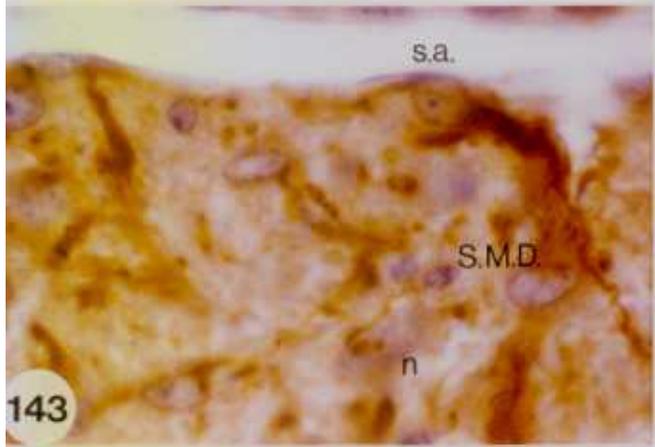
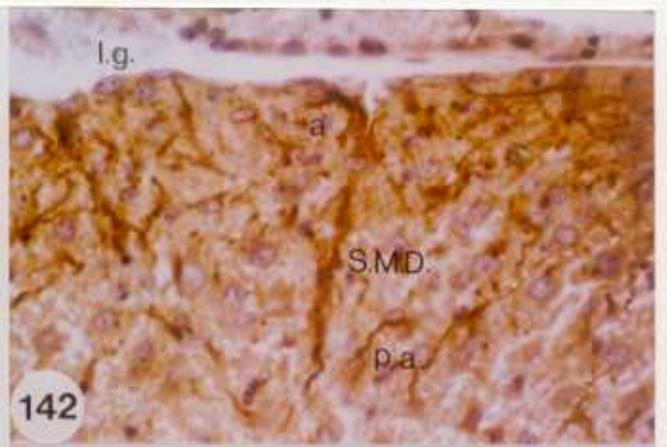
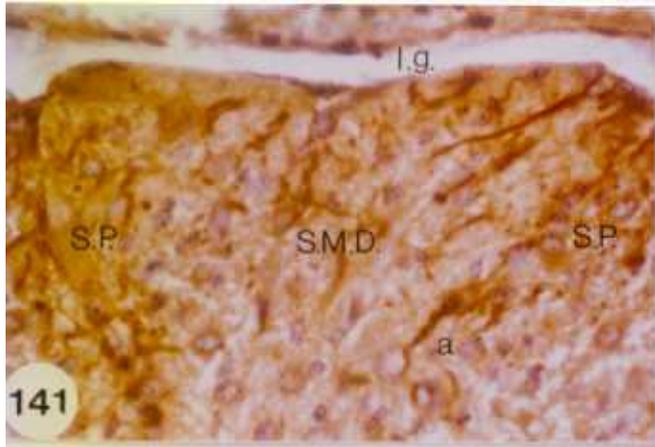


Fig. 148a Distribución astrocitaria en el inicio de estos surcos paramedulares. x 1250.

Fig. 148b Los astrocitos del haz de Goll y los del haz de Burdach son similares. x 1000.

Fig. 149 Múltiples prolongaciones astrocitarias que parten de la franja subpial. x 1250.

Fig. 150a Limitante glial subpial, continua en zona dorsal medular. x 1250.

Fig. 150b Estadio 0. Zona periependimaria dorsal. x 1000.

Fig. 151 Epéndimo indiferenciado en sus bordes ventral y dorsal. x 1000.

Fig. 152 Motoneuronas de soma poligonal, con nucleolo aparente en la zona ventral medular. x 1000.

Fig. 153a Finas prolongaciones astrocitarias con inmunotinción débil en la sustancia blanca. Zona subpial con somas astrocitarios. x 1000.

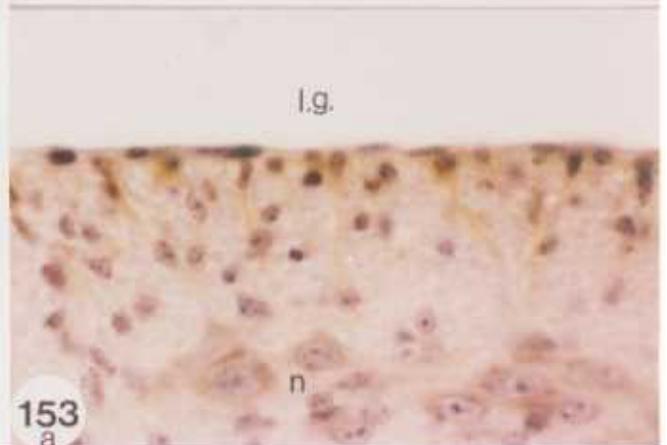
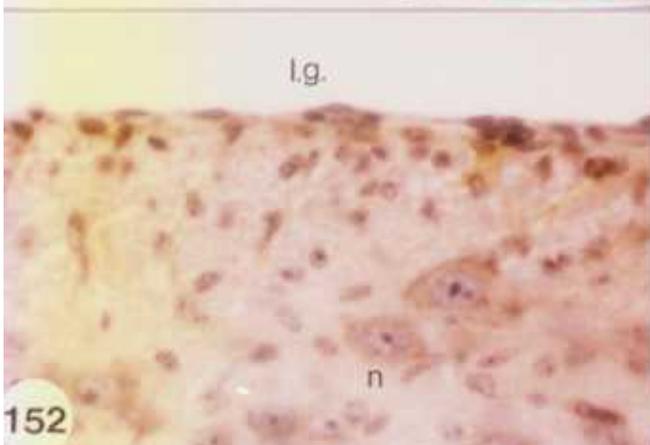
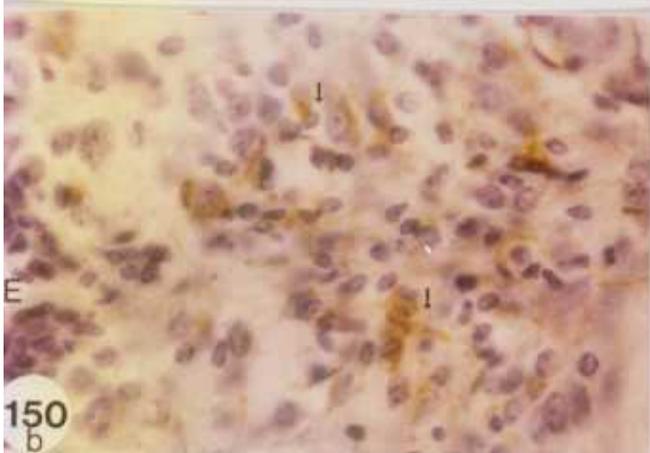
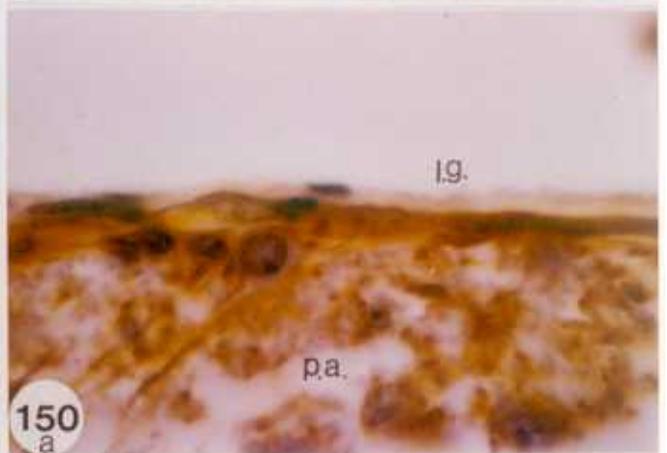
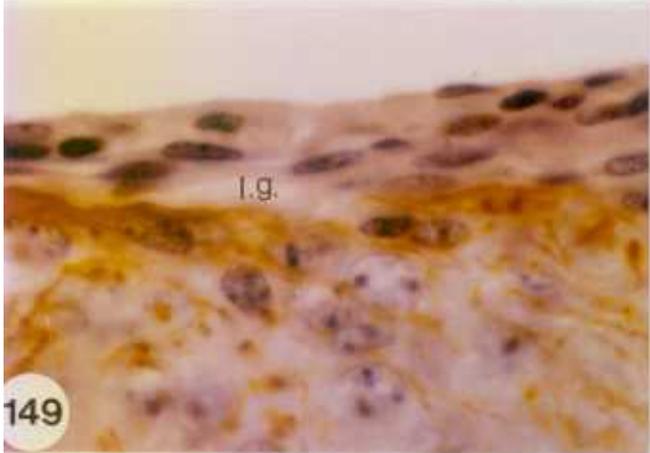
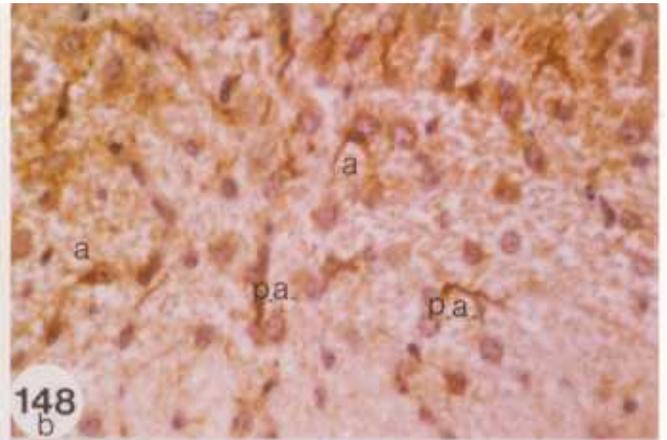
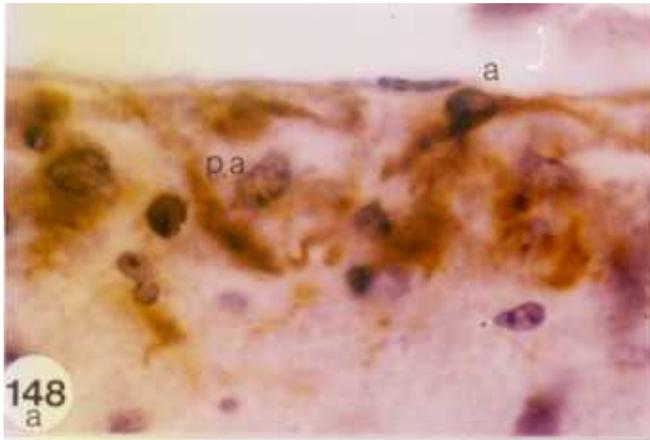


Fig. 153b Panorámica de la médula. La capa subpial y la zona periependimaria dorsal son G.F.A.P. débilmente positivas. x 625.

Fig. 154 Capa glial subpial, de la zona ventral lateral medular. x 1000.

Fig. 155 Arteria ventral y límite externo de la fisura media ventral. Nótese las prolongaciones astrocitarias G.F.A.P. positivo. x 1000.

Fig. 156 Limitante subpial de la zona ventrolateral. Las prolongaciones astrocitarias son G.F.A.P. positivas. x 1000.

Fig. 157 Cordón dorsal de sustancia blanca. Las prolongaciones astrocitarias se expanden de forma radial. x 1000.

Fig. 158 Panorámica donde se observan múltiples esbozos de somas y prolongaciones de astrocitos primitivos con inmunotinción ya claramente positiva en ambas sustancias. x 625.

Fig. 159 Zona dorsolateral donde subsiste la formación astroglial - subpial. x 1000.

Fig. 160 Zona periependimaria dorsal donde la astroglía permanece concentrada, también se han observado finísimas prolongaciones astrocitarias que delimitan la comisura gris dorsal. x 1000.

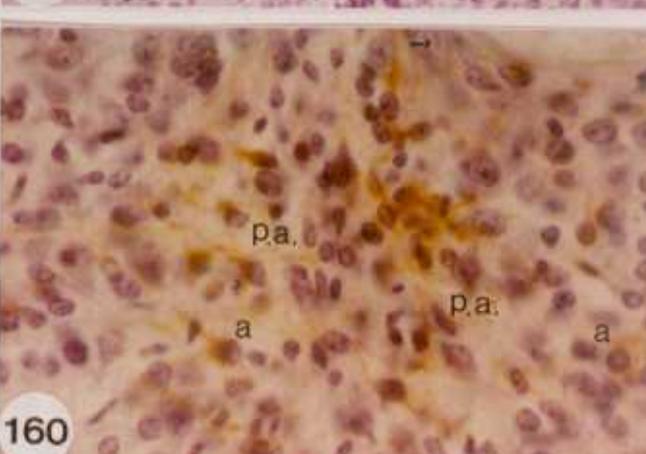
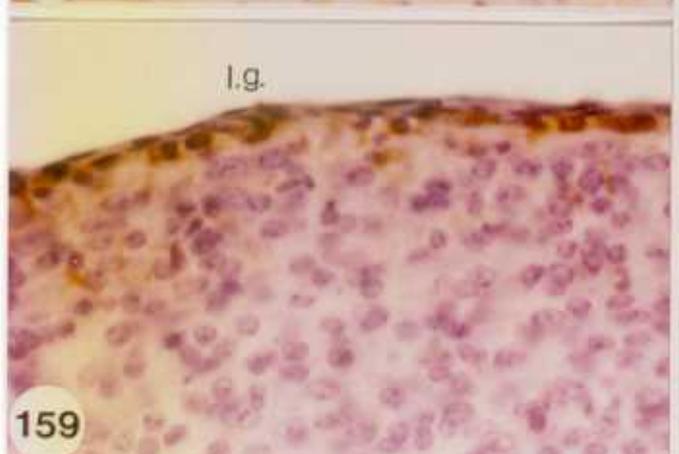
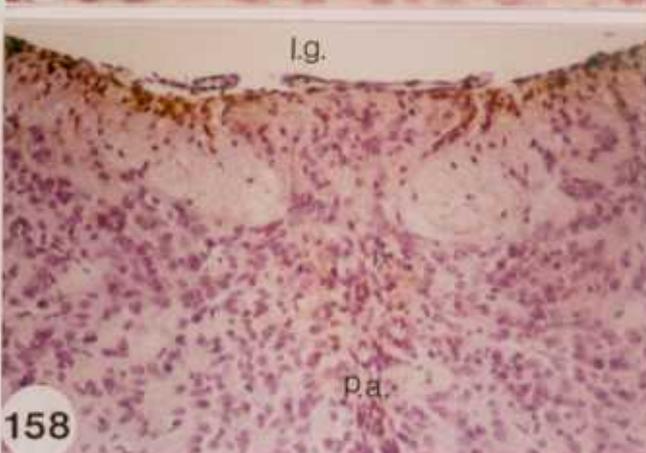
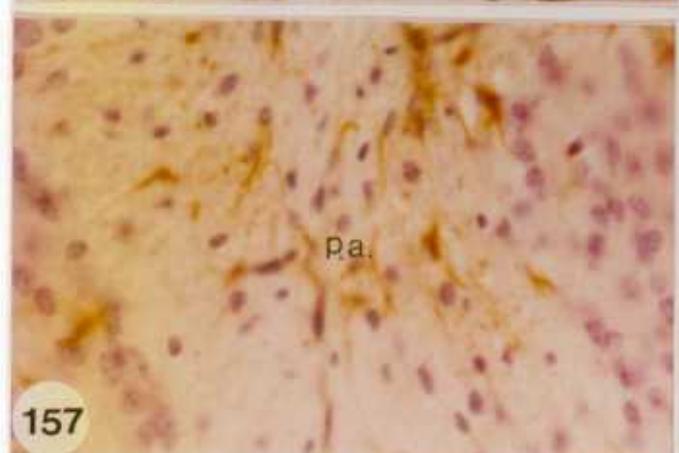
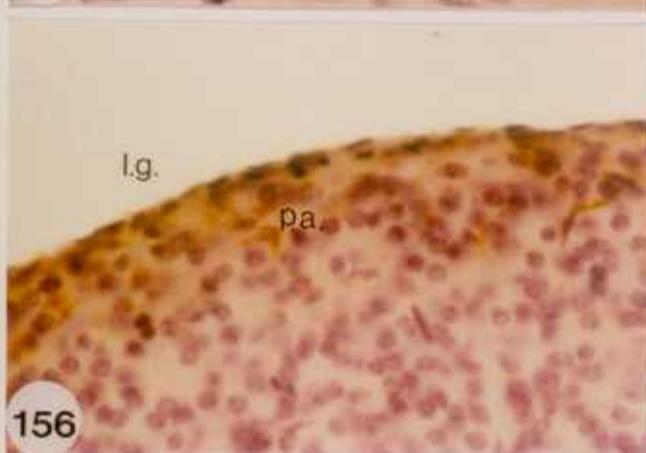
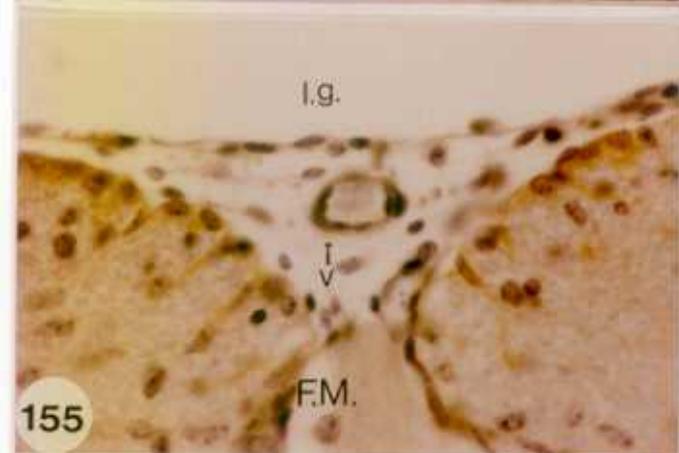
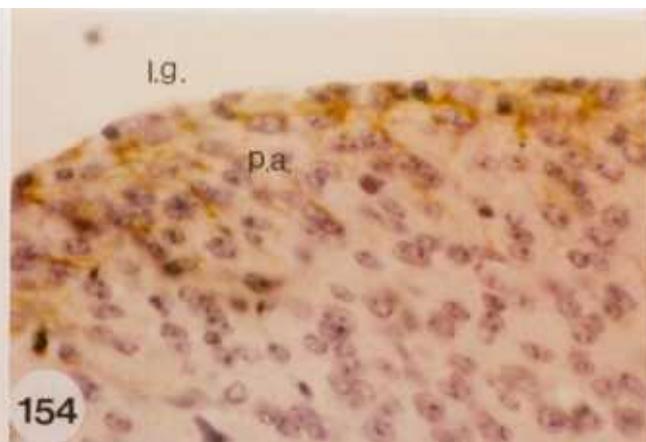
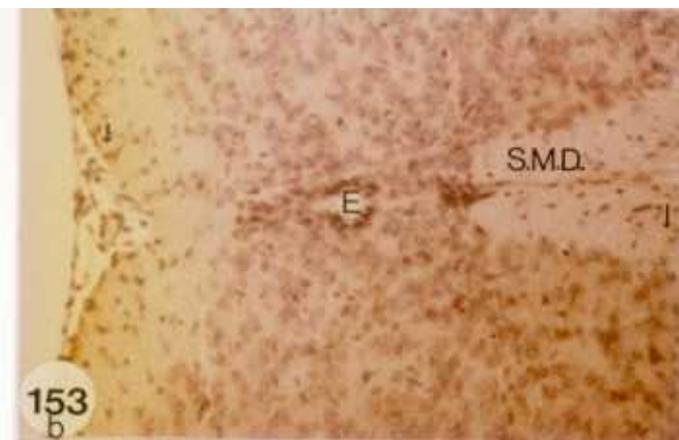


Fig. 161 Sustancia Gris. La astrogliá está escasamente representada. x 625.

Fig. 162 Estos cuerpos astrogliales emigran por los septos neuróglícos. x 1000.

Fig. 163 Aostas laterales donde se observa un aparente aumento de la densidad de estos elementos gliales. x 1000.

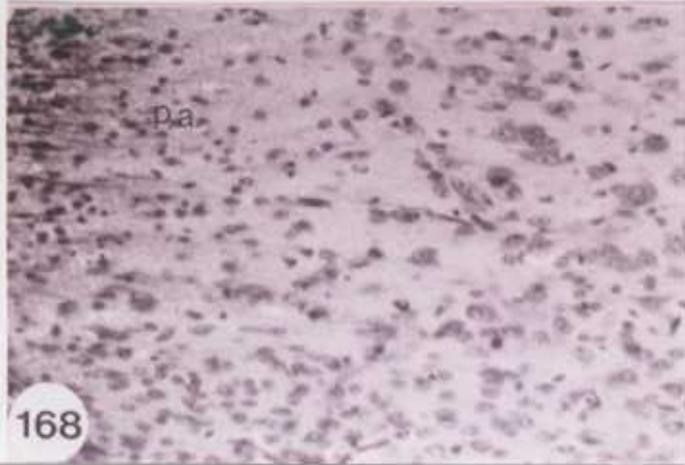
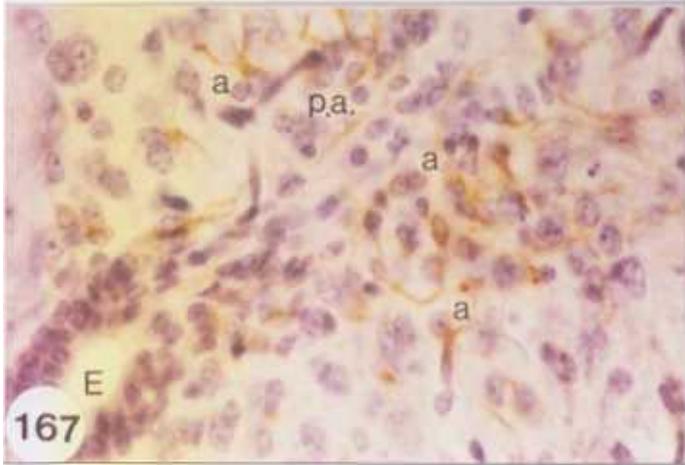
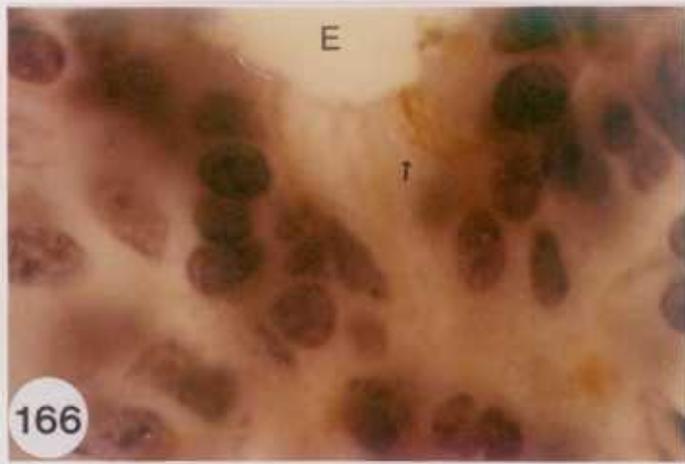
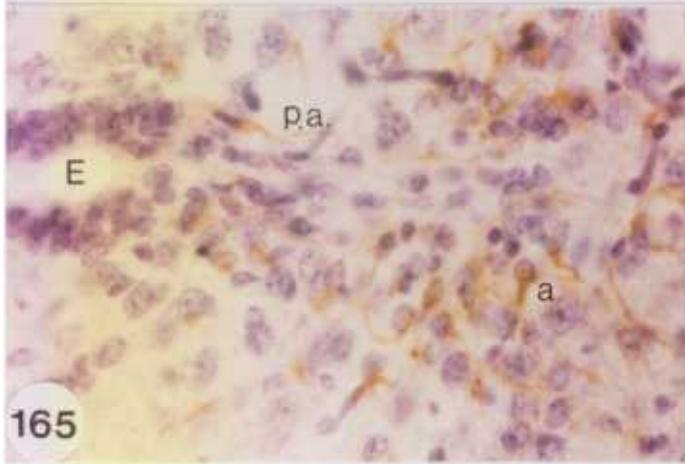
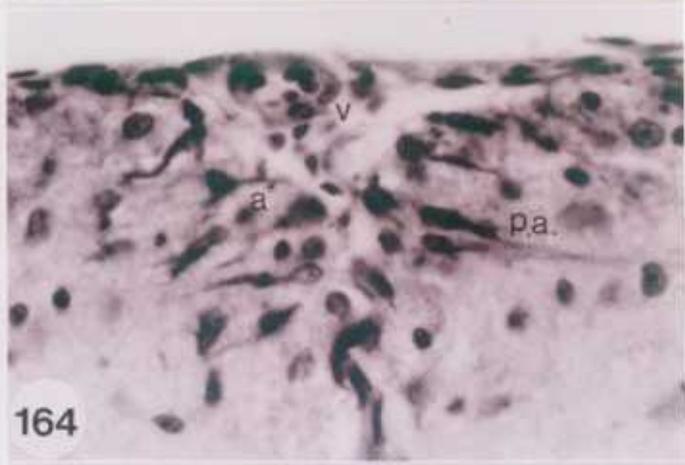
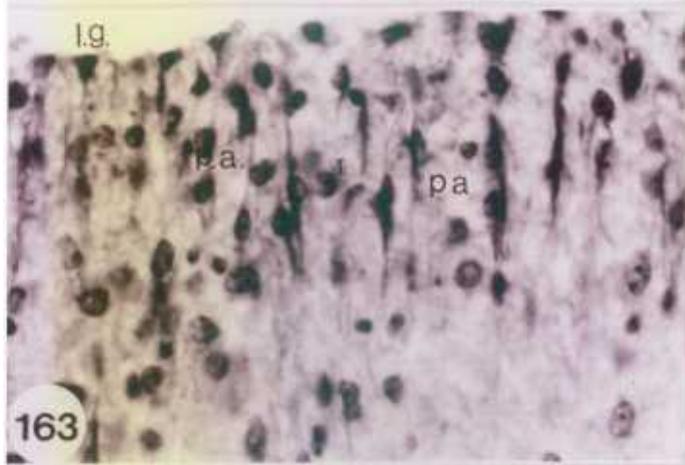
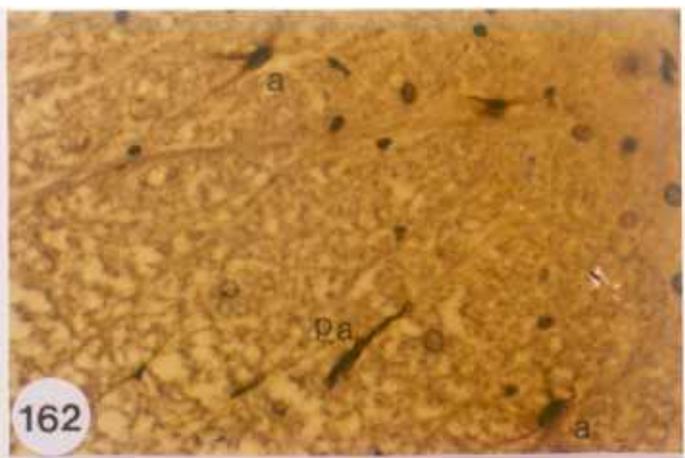
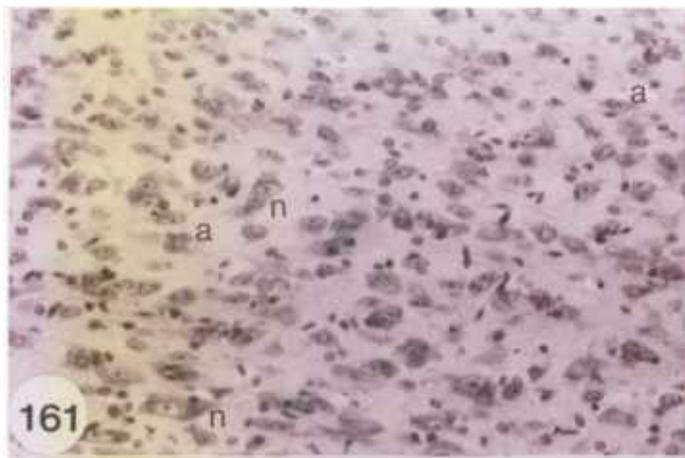
Fig. 164 Fisura media ventral con abundantes astrocitos que emiten una única prolongación. x 1000.

Fig. 165 Ependimo. Se observa todavía indiferenciado con endimocitos migrando en la zona dorsal. x 1000.

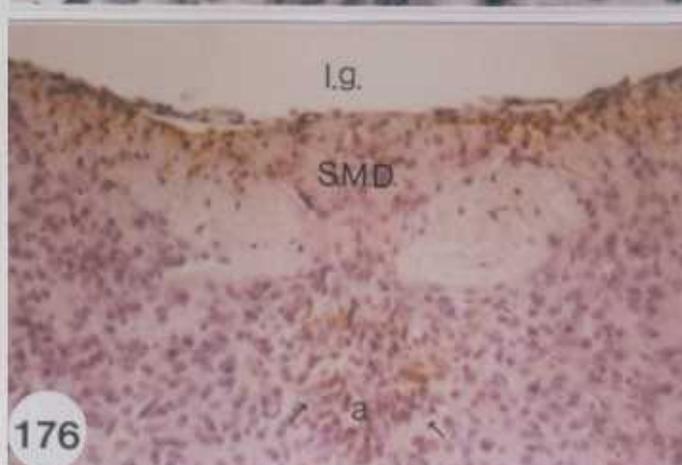
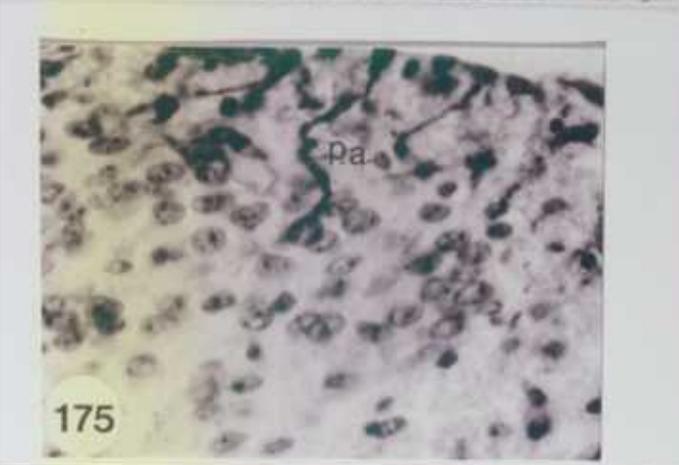
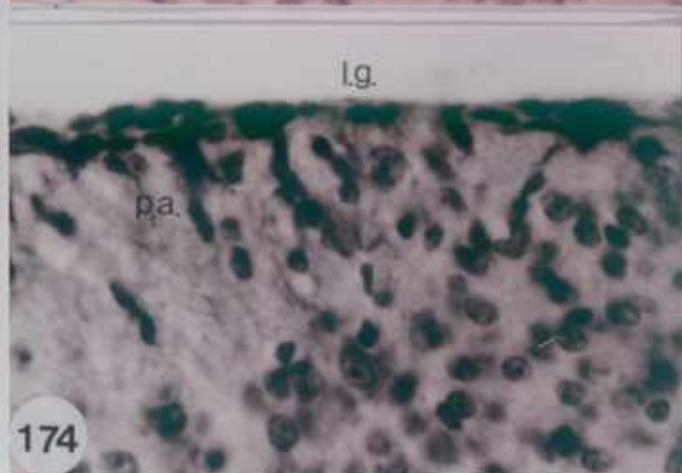
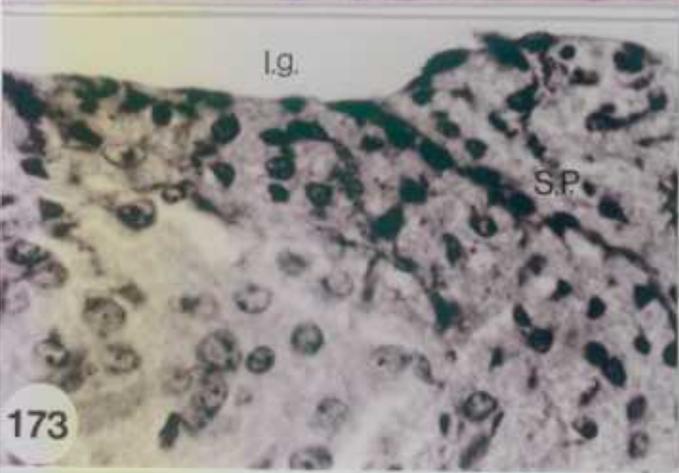
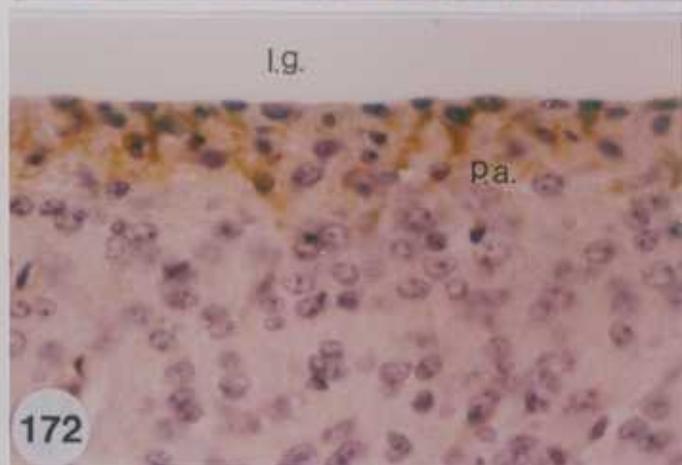
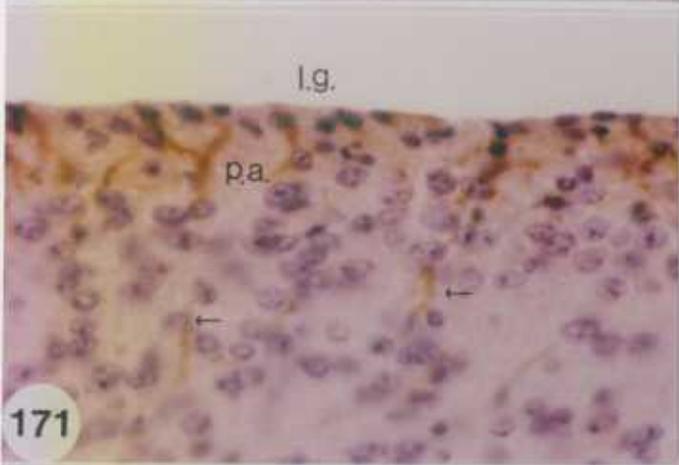
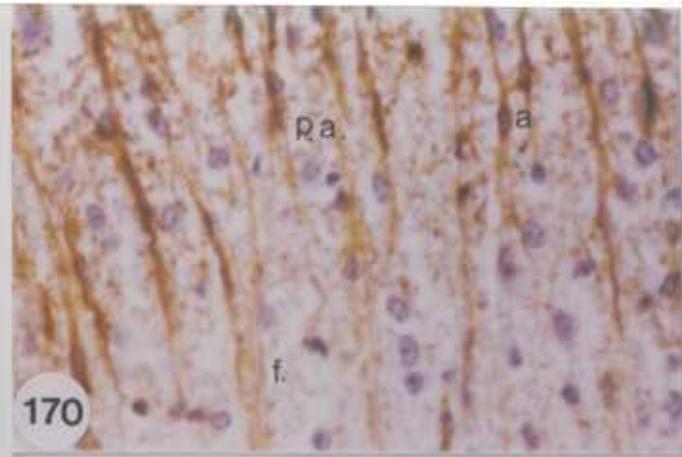
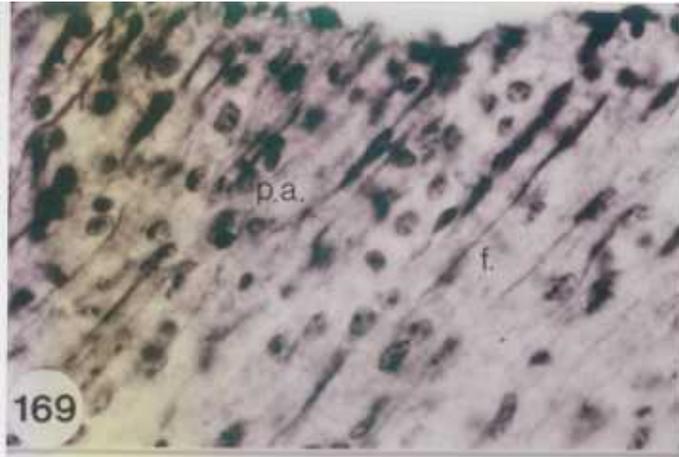
Fig. 166 En la zona dorsal endimaria se observa una todavía inmadura condición del endimo, y los esbozos positivos de G.F.A.P. son siempre de astroblastos, difíciles de clasificar. x 1575.

Fig. 167 Zona endimaria dorsal. x 1000.

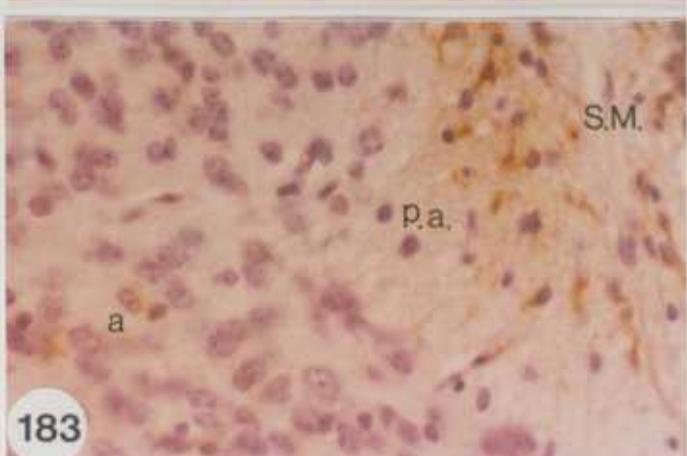
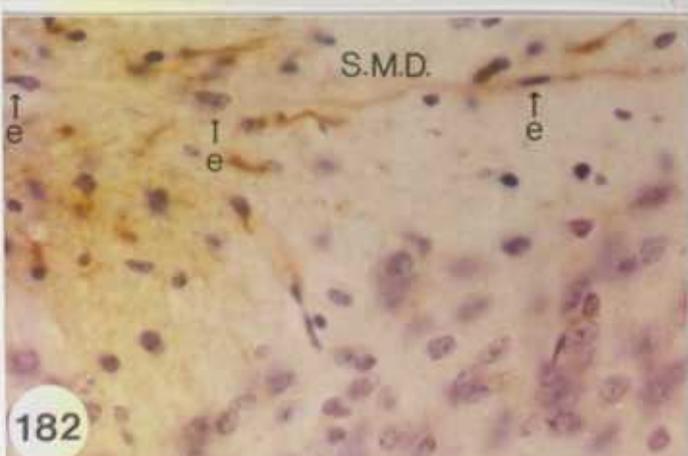
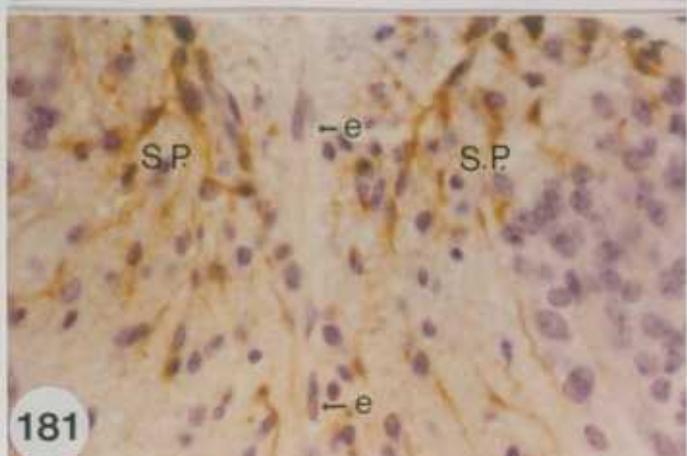
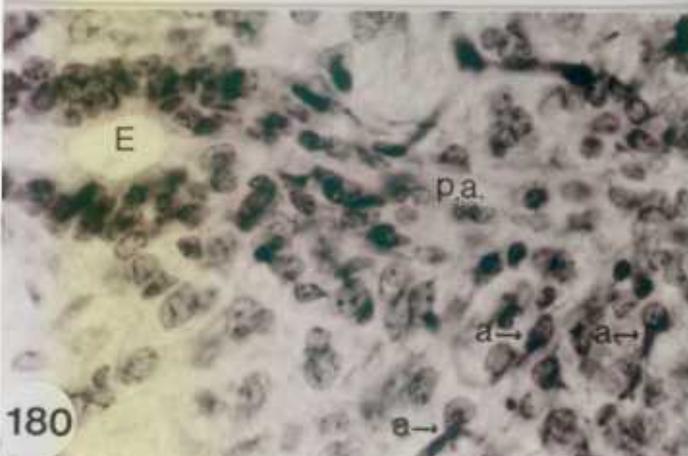
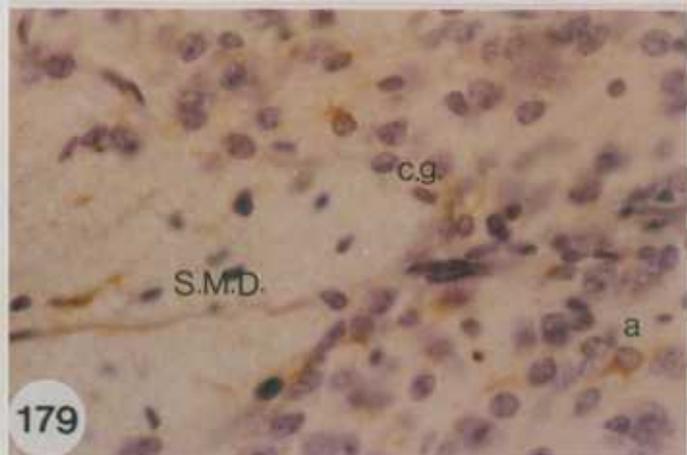
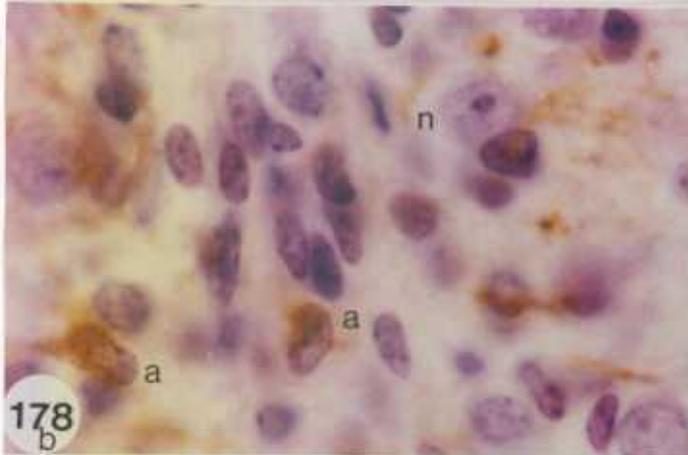
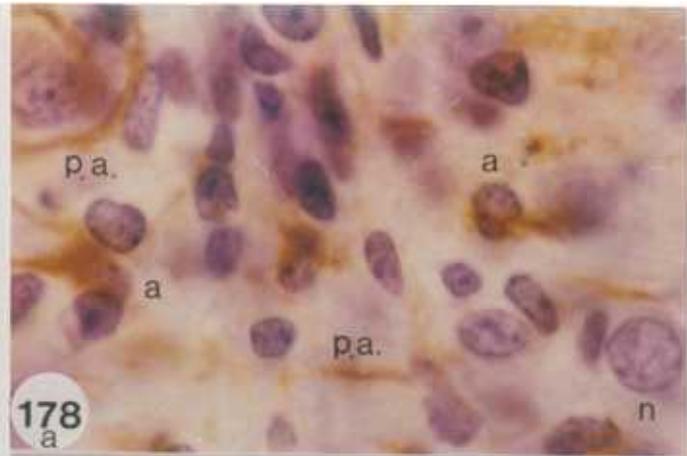
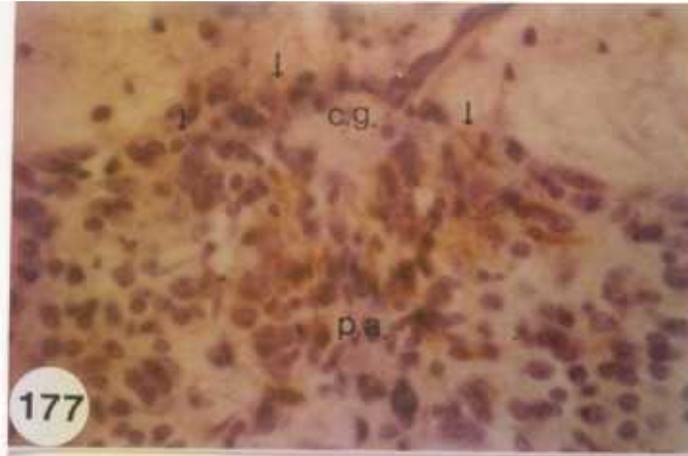
Fig. 168 Zona lateral medular. La astrogliá con sus prolongaciones, se orienta fundamentalmente paralela hacia el endimo. x 625.



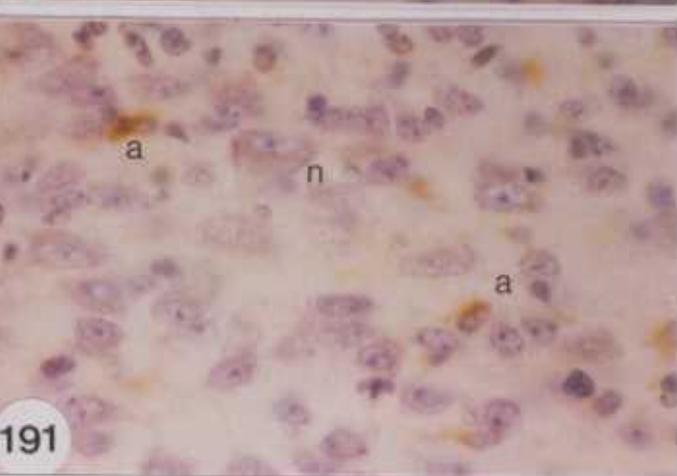
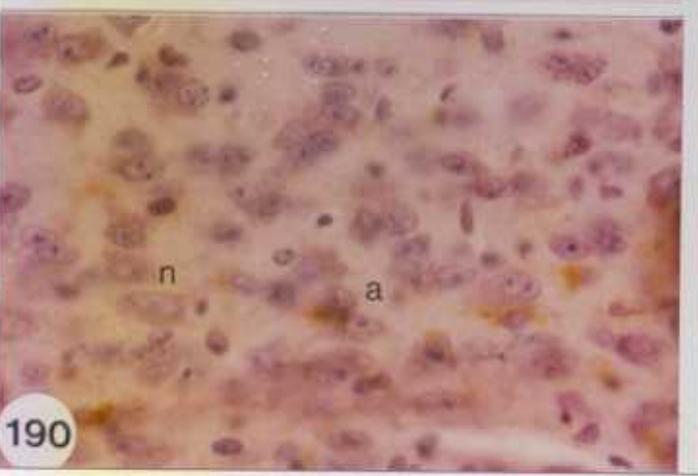
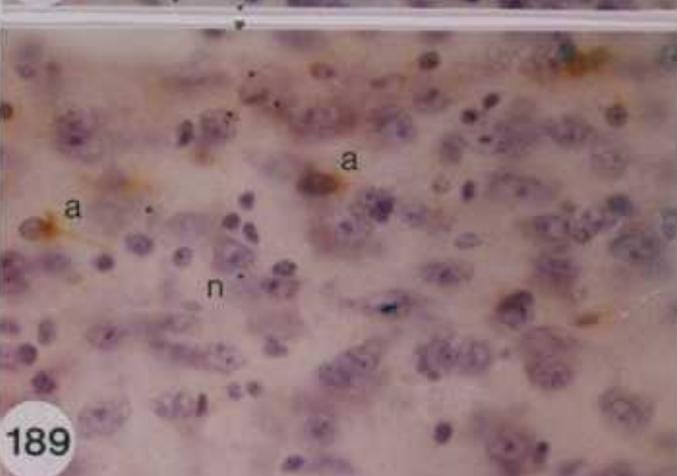
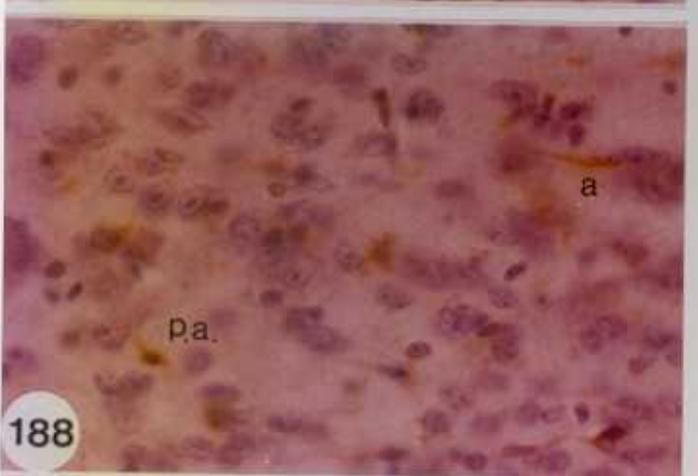
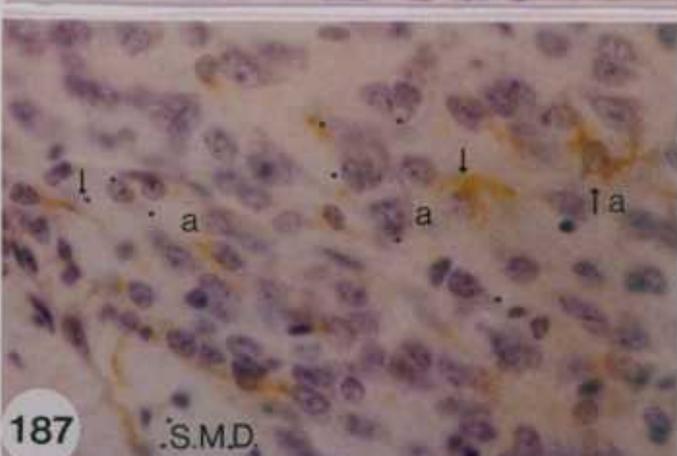
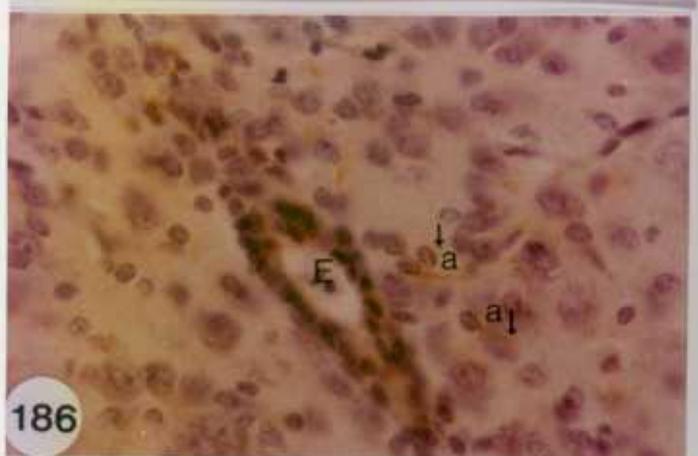
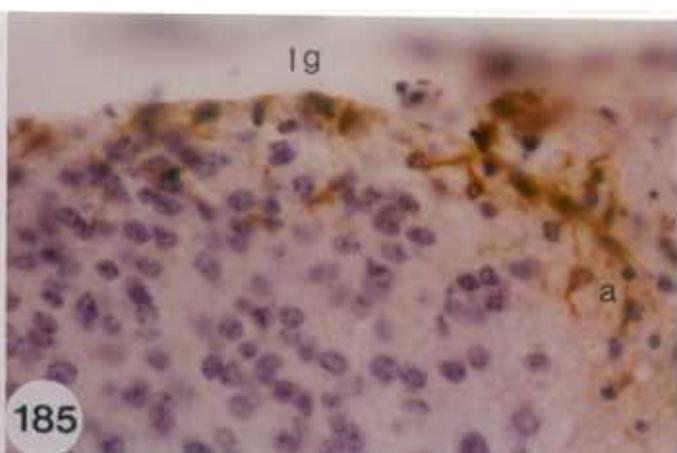
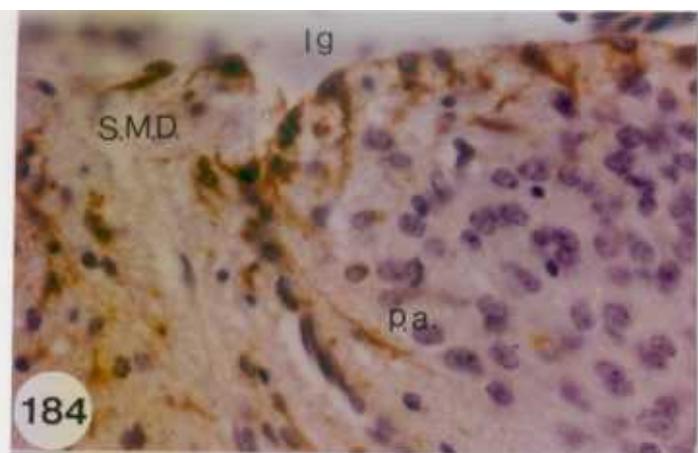
- Fig. 169 Astrocitos que disponen su soma en la limitante, enviando sus prolongaciones hacia la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 170 Algunas de estas prolongaciones llegan a ser las más finas encontradas en la médula, ya que a medida que se internan en la sustancia gris van adelgazándose siendo muy difícil seguir las hasta el final desde el soma. x 1000.
- Fig. 171 Sustancia blanca dorsal, en la zona de los cordones dorsales se observan esbozos de estas prolongaciones que en estadios ulteriores serán las más largas de la médula especialmente en la zona marginal de Lissauer. (flechas) x 1000.
- Fig. 172 Limitante subpial discontinua en la zona dorsal. x 1000.
- Fig. 173 Surcos paramedulares del cordón dorsal, con prolongaciones astrocitarias muy cortas y tenues, pero con multitud de somas que se disponen en fila. x 1000.
- Fig. 174 Astrocitos con su soma completamente adosado a la pia, con una única prolongación gruesa hacia el límite entre sustancia gris y blanca. x 1000.
- Fig. 175 Astrocito que sitúa su soma en la sustancia gris y envía una prolongación larga que atraviesa la sustancia blanca hasta contactar con la zona subpial. x 1000.
- Fig. 176 Estadio 2. Panorámica de la sustancia gris dorsal, se mantiene la condensación periepéndimaria dorsal. x 625.



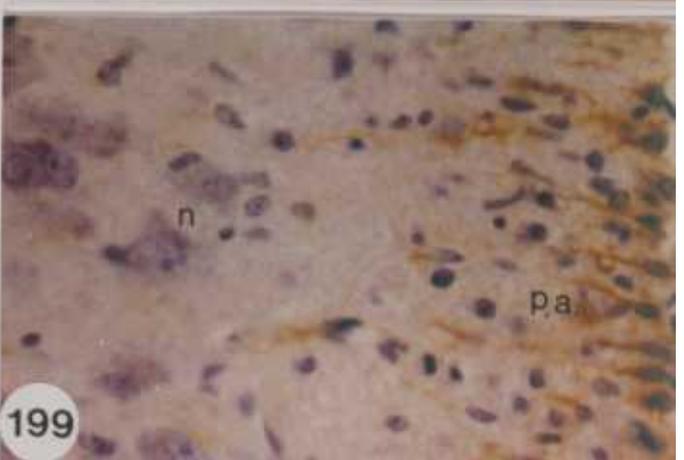
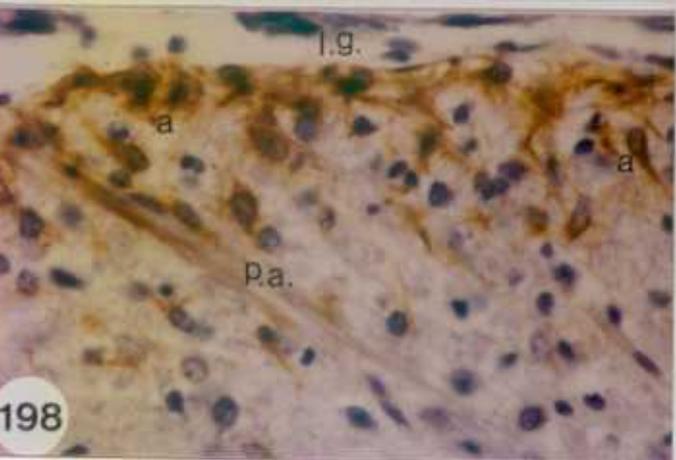
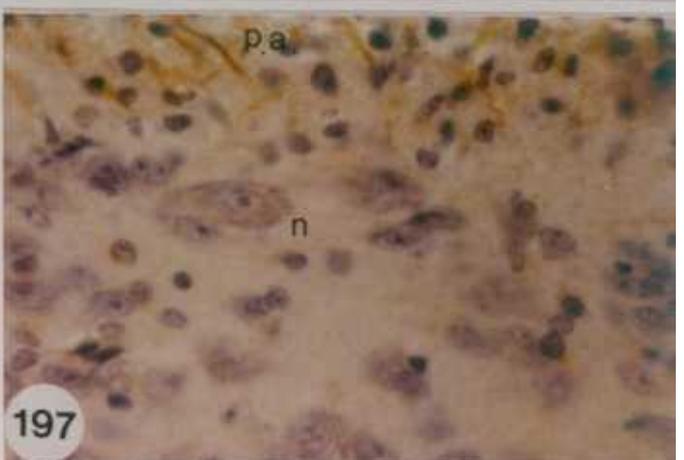
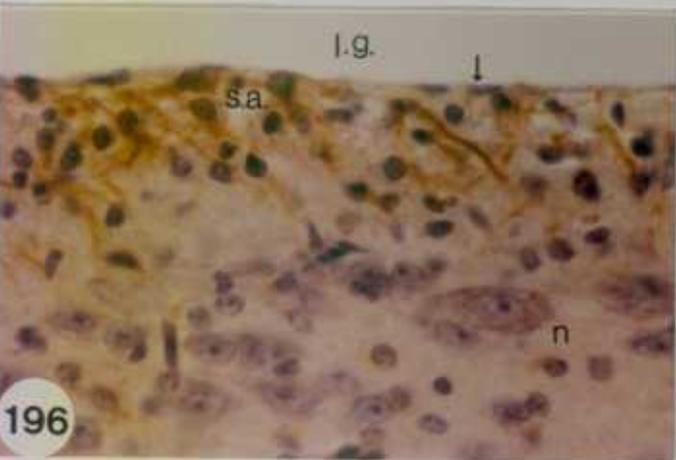
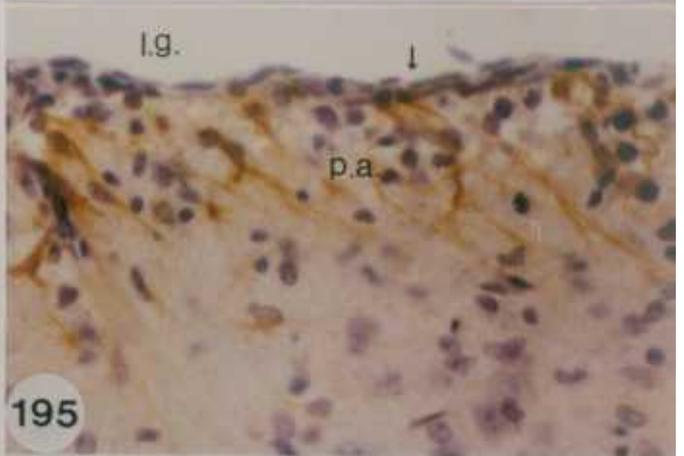
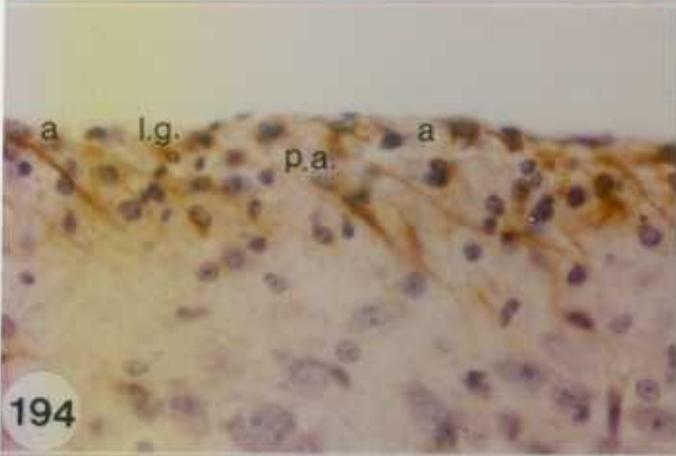
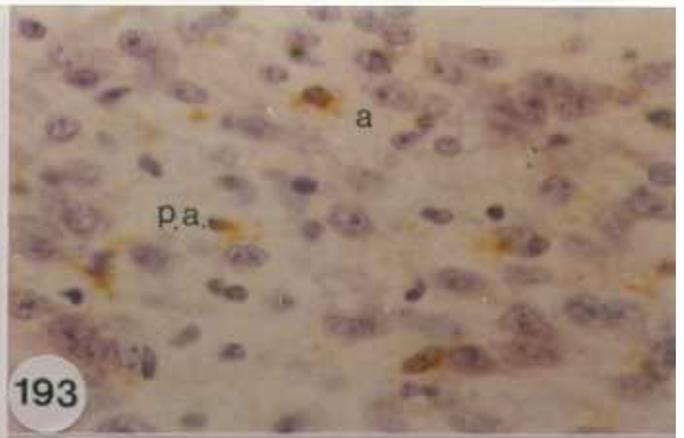
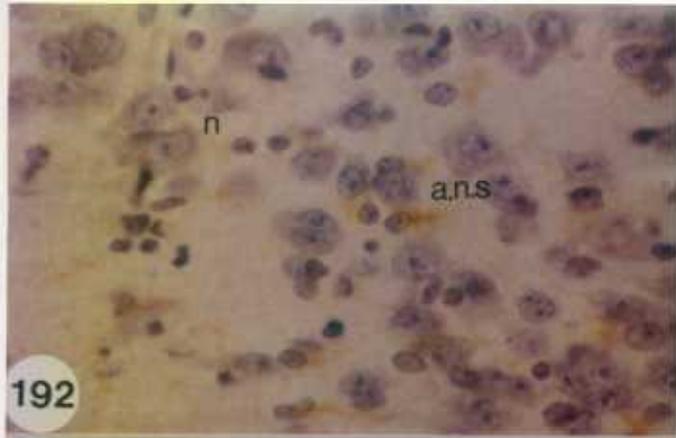
- Fig. 177 Comisura gris dorsal y zona periependimaria dorsal. La densidad astrocitaria es grande. Obsérvese el límite entre sustancia gris y el cordón dorsal de la sustancia blanca (flechas). x 1000.
- Fig. 178a Zona periependimaria dorsal, donde se observan nuevas prolongaciones astrogliales con tinción positiva. x 1575.
- Fig. 178b Zona media dorsal donde a un lado y a otro se observan grandes neuronas en un mayor grado de maduración. x 1575.
- Fig. 179 Astroцитos con somas y cortas prolongaciones que delimitan parcialmente a la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 180 Epéndimo sin terminar su proceso de diferenciación en ambas zonas dorsal y ventral. Astroцитos con prolongaciones gruesas unidireccionales (flechas). x 1000.
- Fig. 181 Surcos paramedulares formados por somas y prolongaciones astrocíticas y surco medio dorsal, donde se observan ependimocitos migrando desde la pia hacia el epéndimo (flechas) x 1000.
- Fig. 182 Surco medio dorsal, por donde emigran los ependimocitos desde la pia hasta el epéndimo (flechas) x 1000.
- Fig. 183 Astroцитos que delimitan la comisura gris y el cordón dorsal. Se observa una distribución astrocitaria radial, donde los somas astrocitarios son inmunotinción incipiente con prolongaciones más cortas de lo normal. x 1000.



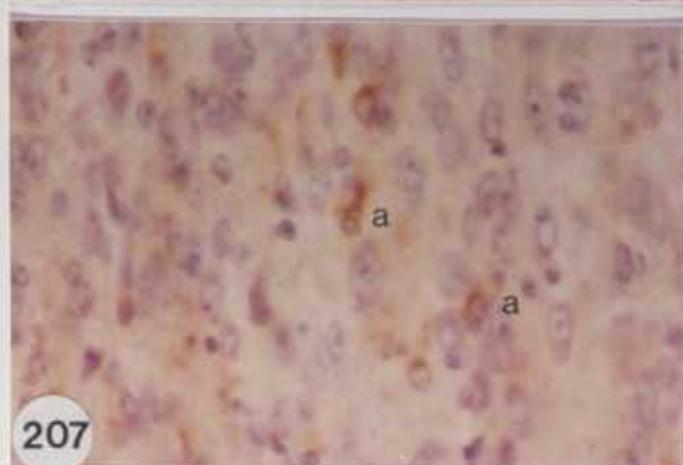
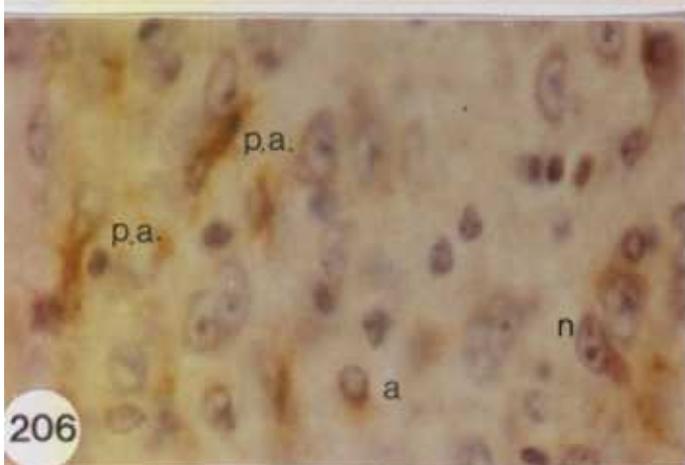
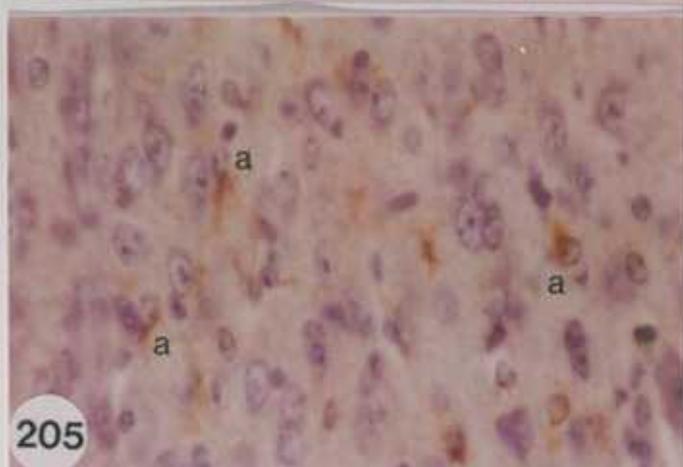
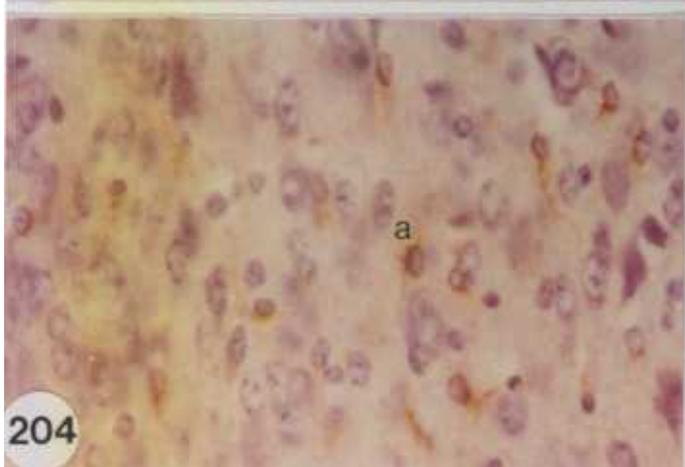
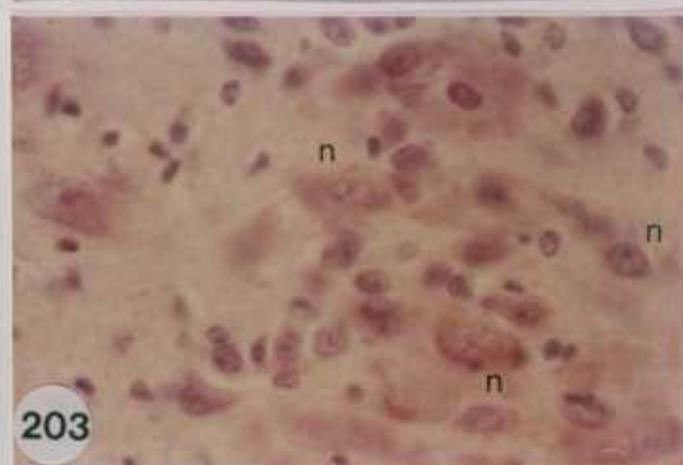
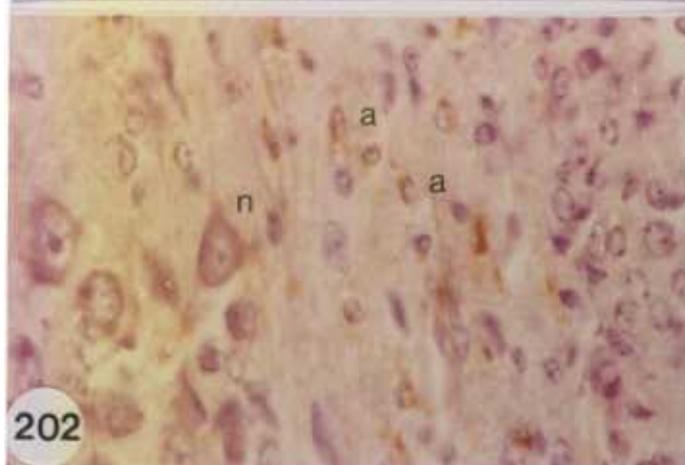
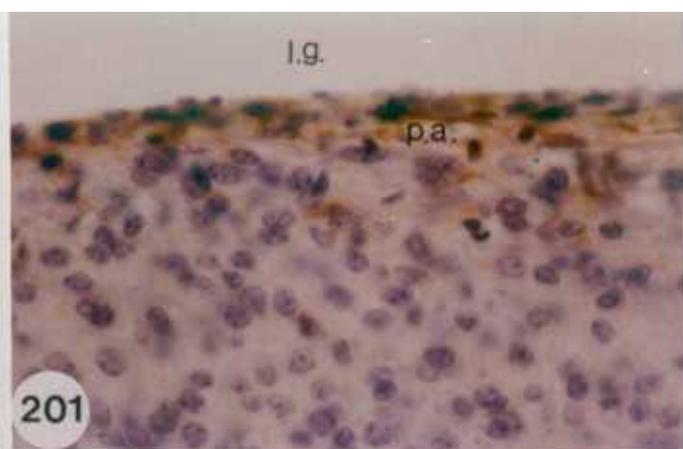
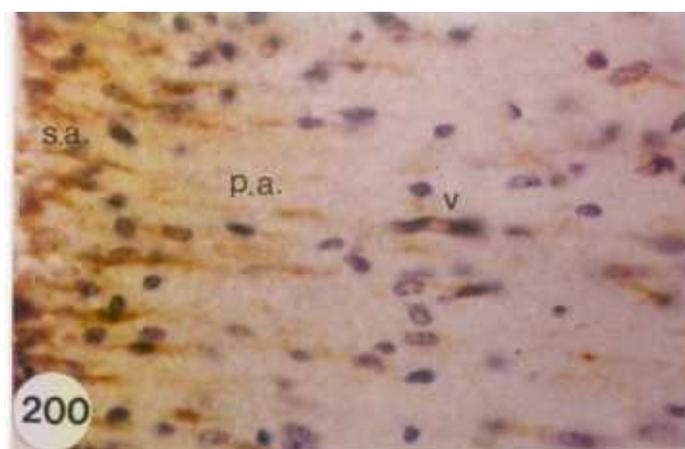
- Fig. 184 Limitante subpial de la zona dorsal medular. Astrocitos con los somas en la parte más periférica. x 1000.
- Fig. 185 Astrocito con somas en una zona intermedia, que envía una prolongación fina hacia la limitante y otra más gruesa hacia la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 186 Ependimo indiferenciado. Astrocitos en la zona periependimaria lateral. x 1000.
- Fig. 187 Astrocitos de la zona dorsal de sustancia gris enviando prolongaciones hacia diferentes somas neuronales. x 1000.
- Fig. 188 Prolongaciones astrocitarias puntiformes en corte transversal, y escasos somas astrocitarios en esta zona. x 1000.
- Fig. 189 Somas astrocitarios redondeados primitivos emitiendo finas prolongaciones en la sustancia gris ventral. x 1000.
- Fig. 190 Astrocitos de pequeña talla y cortas prolongaciones entre neuronas motoras bastante diferenciadas (flechas). x 1000.
- Fig. 191 Astrocitos indiferenciados con escasas o nulas prolongaciones, presentan su soma próximo al de neuronas. x 1000.



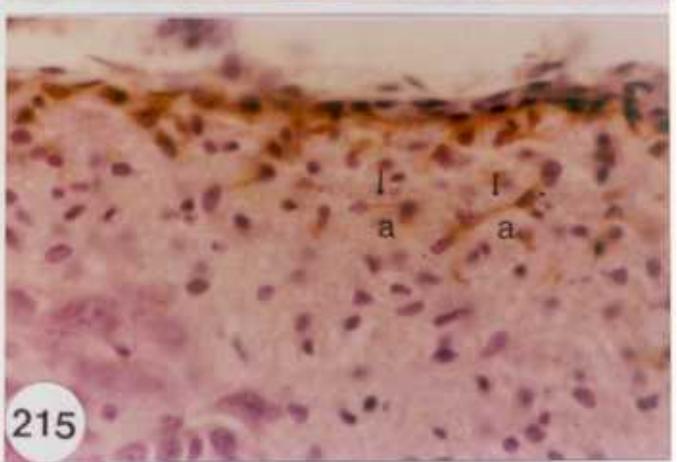
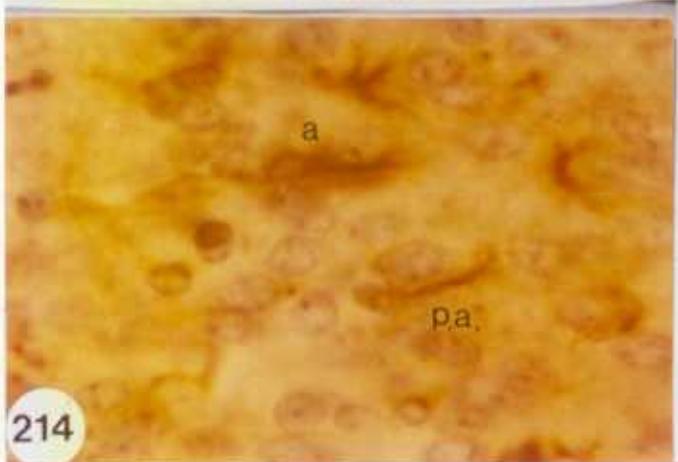
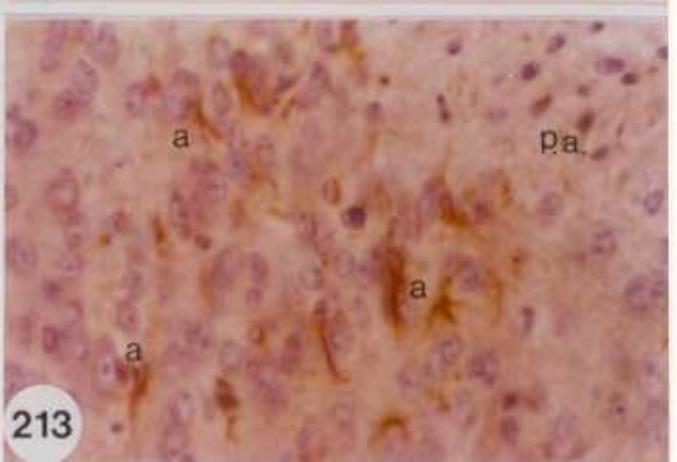
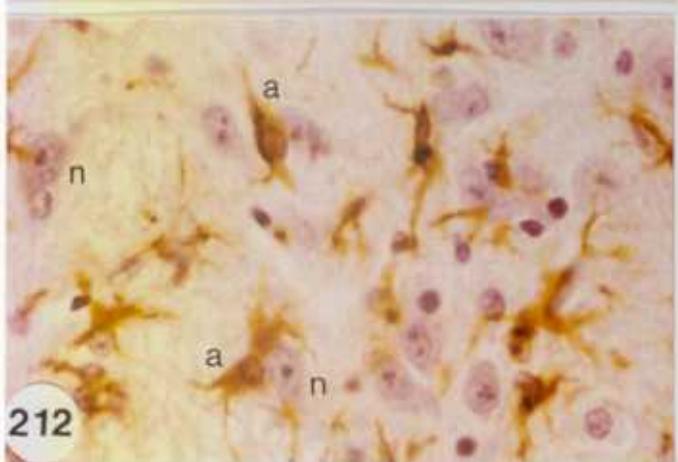
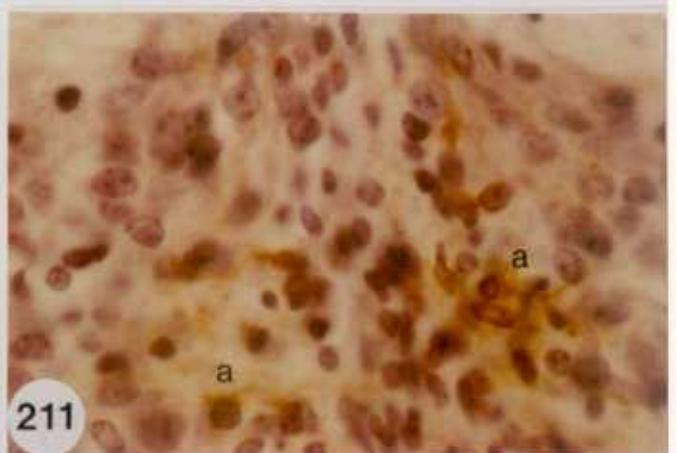
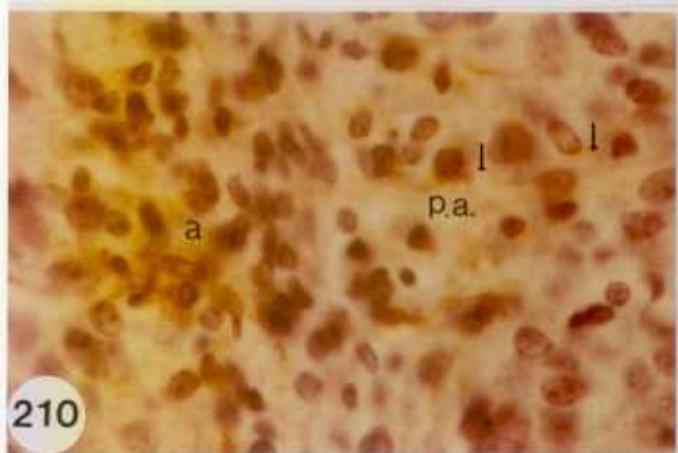
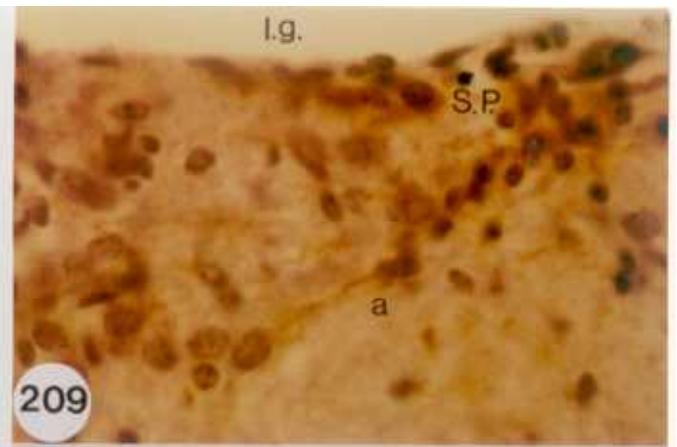
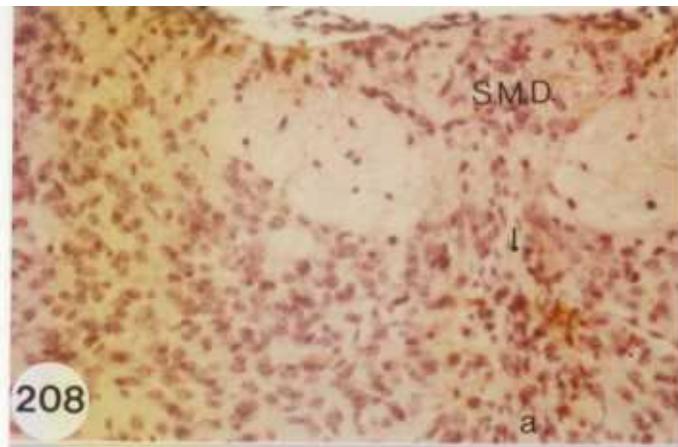
- Fig. 192 Astrocitos pequeños satélites neuronales en la zona periependimaria ventral, las prolongaciones son cortas e indiferenciadas. x 1000.
- Fig. 193 Prolongaciones astrocitarias puntiformes entre somas neuronales de la zona periependimaria ventral. x 1000.
- Fig. 194 Largas prolongaciones astrocitarias, están relacionadas con la formación de nuevos tabiques y septos que parten de somas situados en la limitante subpial. x 1000.
- Fig. 195 Finas y largas prolongaciones astrocitarias todavía indiferenciadas en la zona próxima a la fisura media ventral. x 1000.
- Fig. 196 Somas astrocitarios dispuestos en la limitante subpial, emiten prolongaciones que se van adelgazando a medida que discurren hacia la sustancia gris. Algunas se bifurcan a poca distancia del soma. x 1000.
- Fig. 197 Finas prolongaciones astrocitarias a su llegada al límite con la sustancia gris. Obsérvense motoneuronas de gran tamaño en este límite. x 1000.
- Fig. 198 Astrocitos indiferenciados, con prolongaciones cortas formando varias capas astrocitarias en la limitante subpial. x 1000.
- Fig. 199 Somas astrocitarios alineados enviando prolongaciones unidireccionales paralelas desde el límite medular, en las zonas laterales. x 1000.



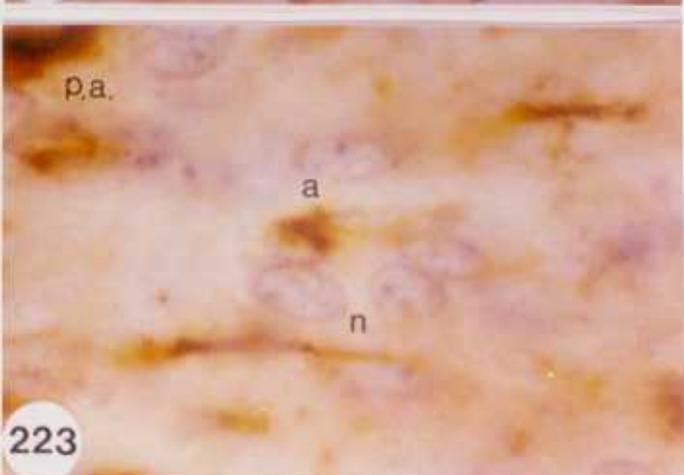
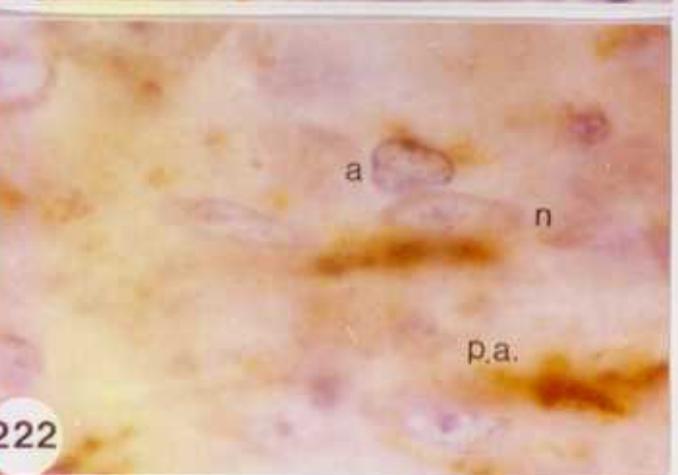
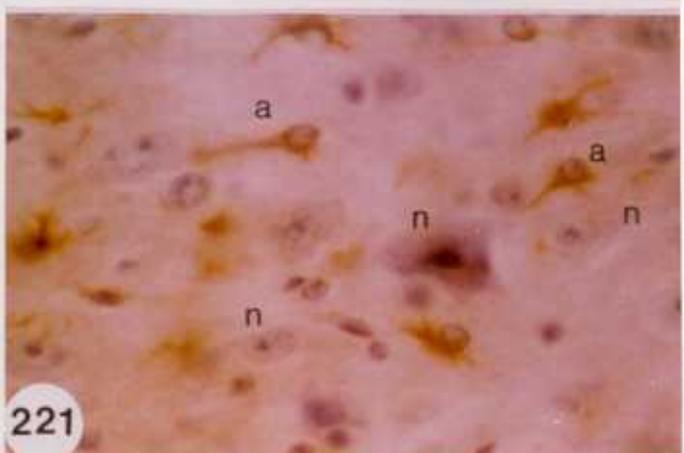
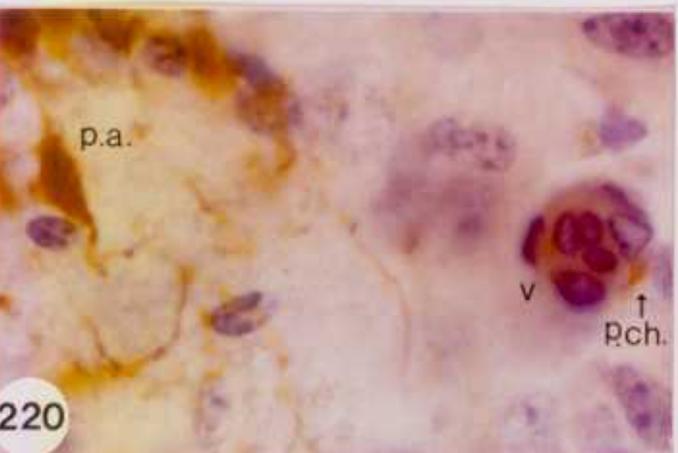
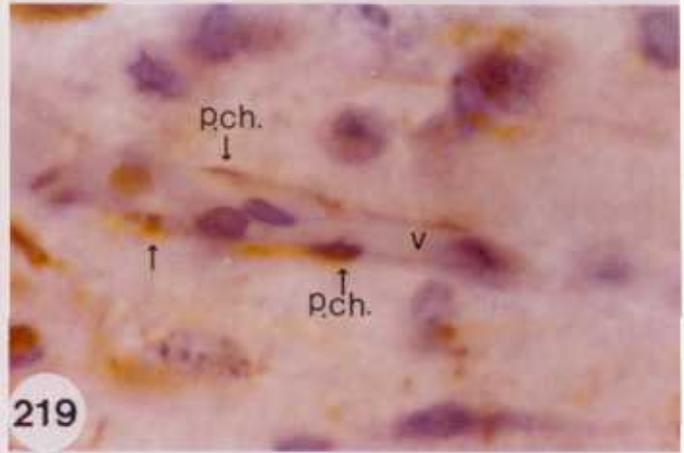
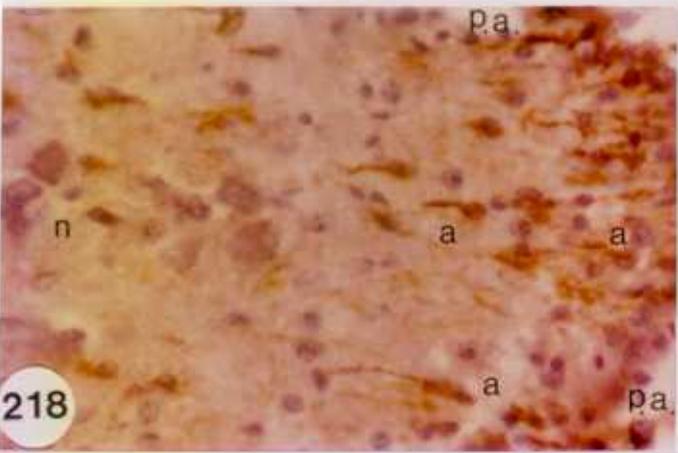
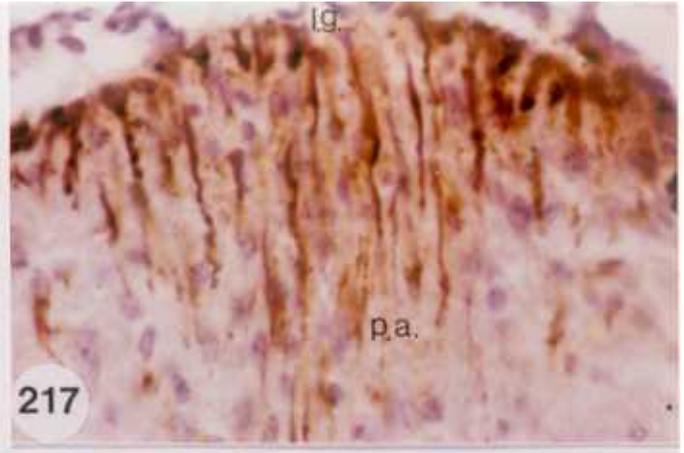
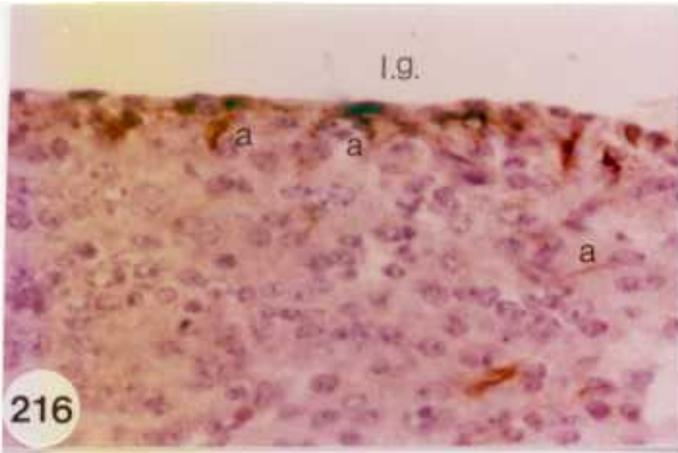
- Fig. 200 Tenues prolongaciones astrocitarias en disposición paralela, en la sustancia gris lateral. Obsérvese un vaso cortado longitudinalmente (flecha). x 1000.
- Fig. 201 Somas y prolongaciones astrocitarias indiferenciadas formando la limitante subpial de la zona dorsal medular. x 1000.
- Fig. 202 Estadio 3. Zona ventral de sustancia gris. Motoneuronas multipolares y bipolares. Los somas y prolongaciones astrocitarias son más numerosos que en estadios anteriores. x 1250.
- Fig. 203 En la zona ventral lateral se observan motoneuronas en proceso de diferenciación. x 1000.
- Fig. 204 Prolongaciones muy finas y somas astrocitarios en las áreas de la zona ventral de sustancia gris. x 1000.
- Fig. 205 Astrocitos con prolongaciones incipientes en la zona ventral de sustancia gris. x 800.
- Fig. 206 Zona periependimaria ventral con somas y prolongaciones astrocitarias de mayor grosor que en estadios anteriores. x 1000.
- Fig. 207 Astrocitos con prolongaciones incipientes y unidireccionales. x 1000.



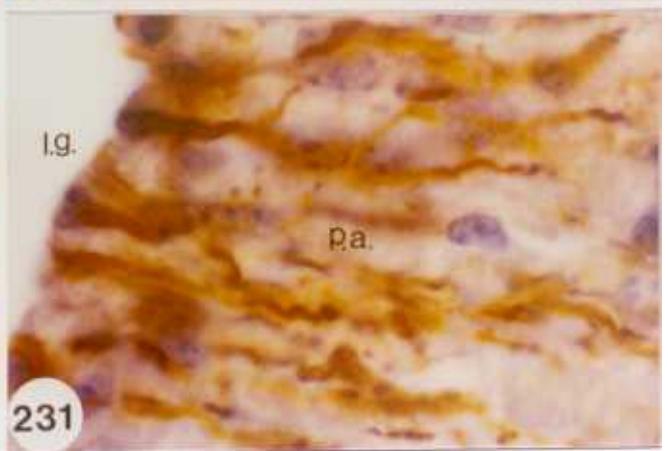
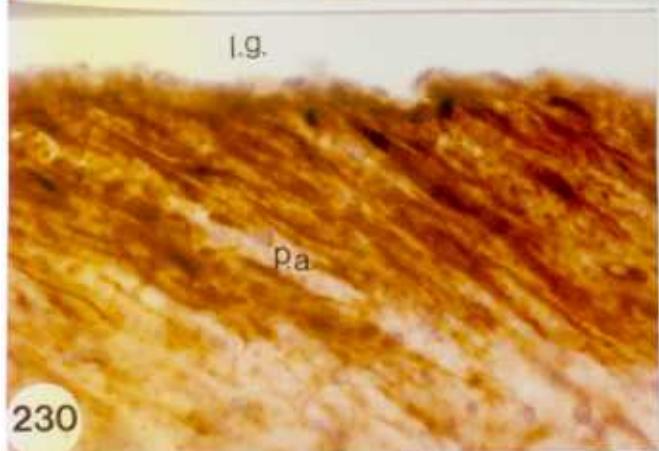
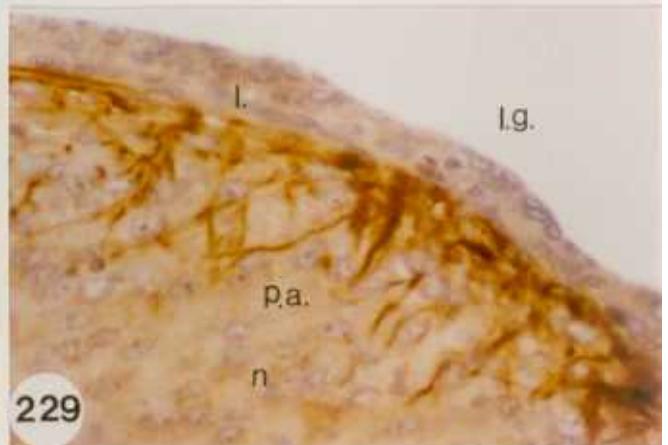
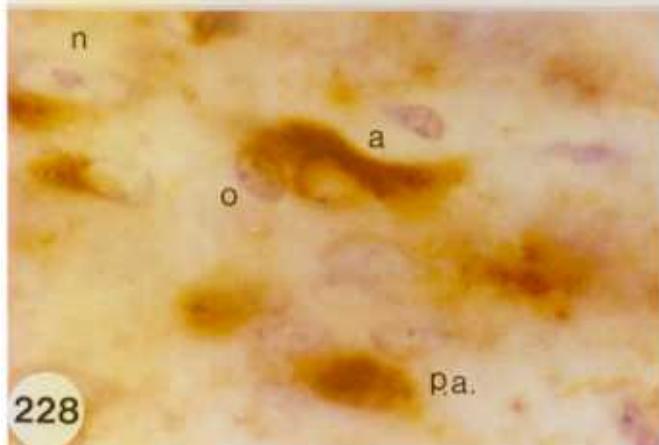
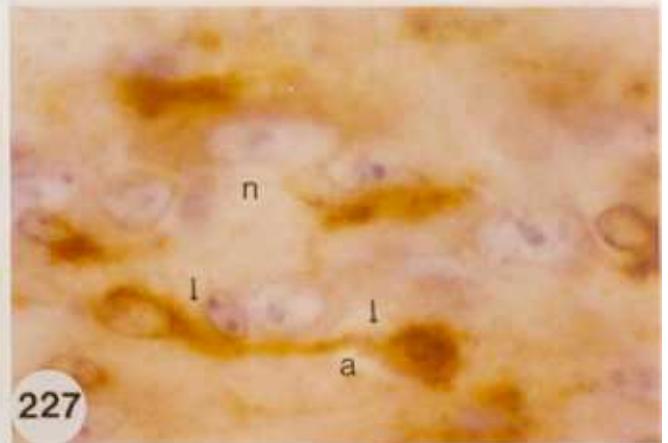
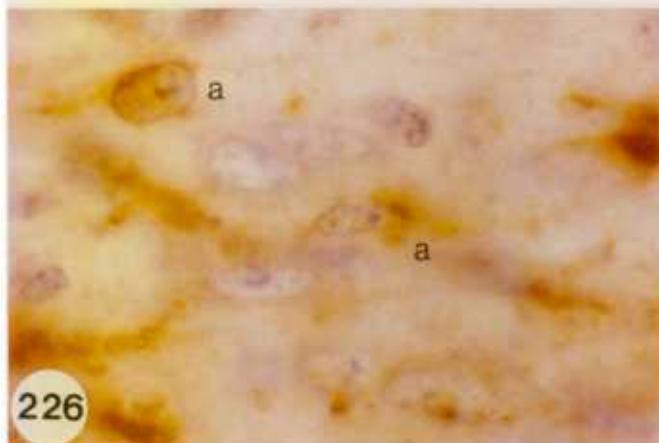
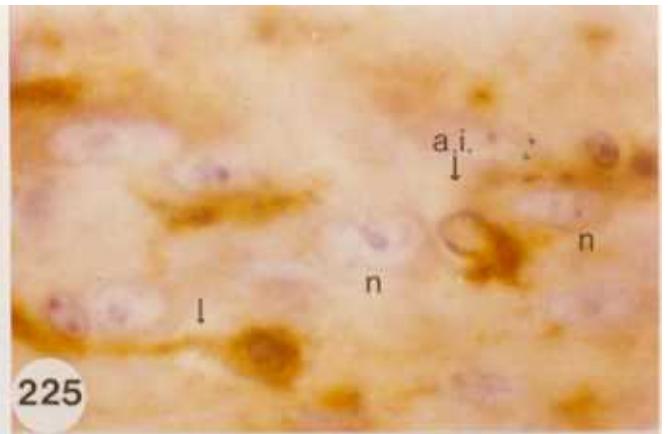
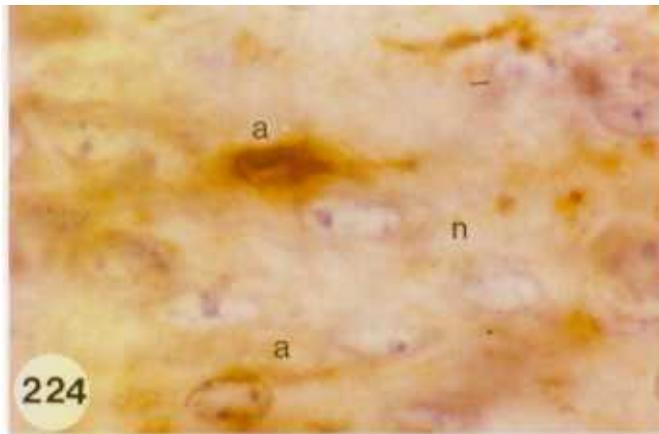
- Fig. 208 Zona periependimaria dorsal, donde se observa una concentración astrocítica desde la comisura gris hasta el epéndimo. La limitante subpial también presenta inmunotinción. x 625.
- Fig. 209 Borde del cordón dorsal. Los astrocitos que marcan este límite envían somas y prolongaciones muy largas y finas a lo largo de él. x 1000.
- Fig. 210 Astrocitos indiferenciados migrando por el surco medio dorsal y prolongaciones muy finas que forman la comisura gris dorsal (flechas). x 1000.
- Fig. 211 Surco medio dorsal, diferentes tipos astrocitarios se observan migrando en él. x 1000.
- Fig. 212 Area de los núcleos de Stilling-Clark y núcleo propio en las que el grado de indiferenciación celulares todavía es considerable. x 1000.
- Fig. 213 Núcleo de Waldeyer, las prolongaciones astrocitarias que parten del soma se dirigen en una sola dirección o bien se ramifican en varias desde el mismo soma manteniendo una disposición en paralelismo. x 1000.
- Fig. 214 Astrocitos del núcleo de Waldeyer con prolongaciones unidireccionales. x 1250
- Fig. 215 Sustancia blanca. Zona ventral casualmente se observan algunos astrocitos en proceso de división. x 1000.



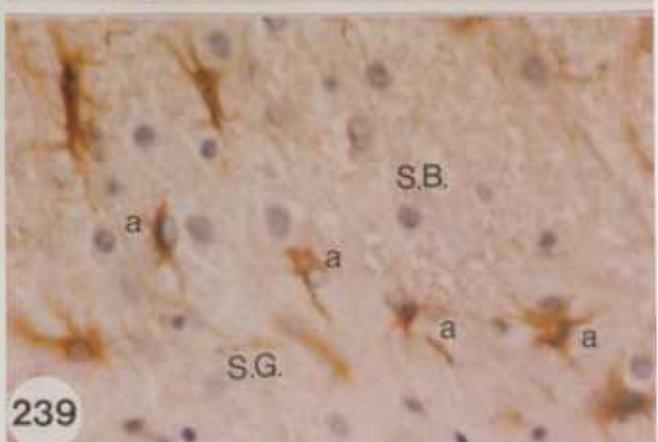
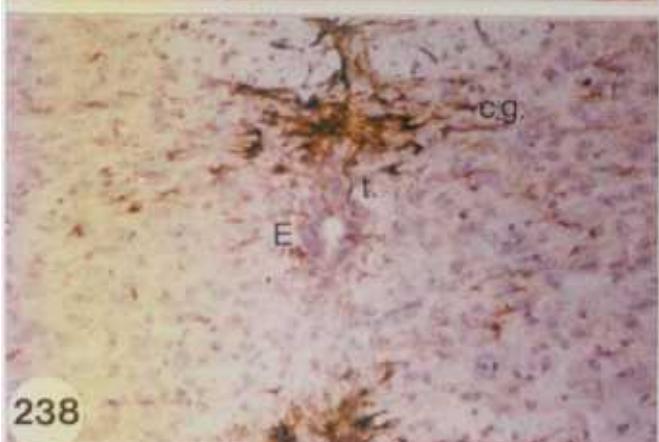
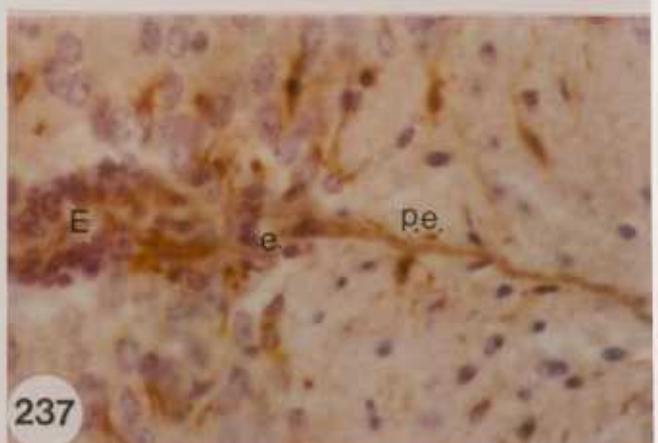
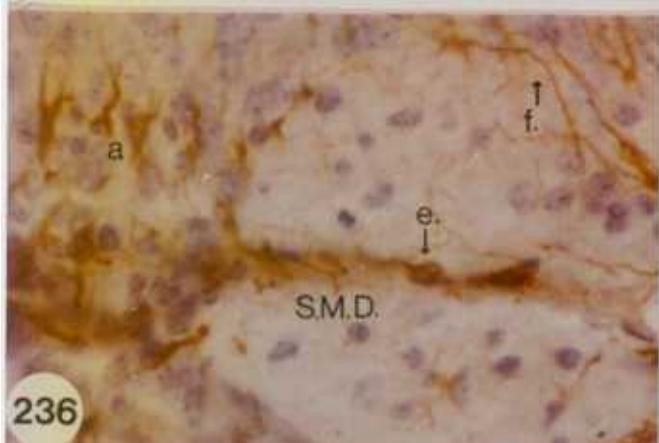
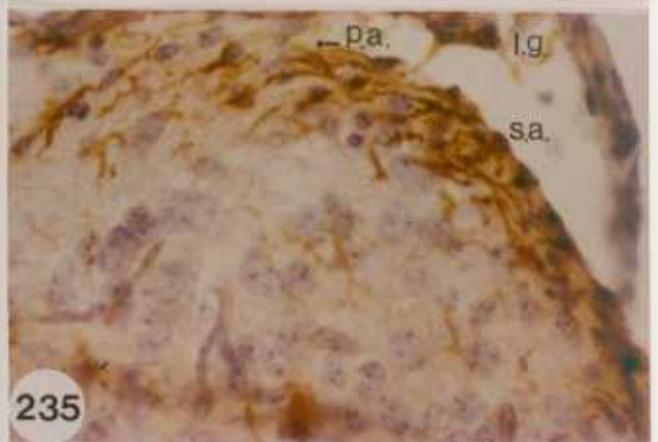
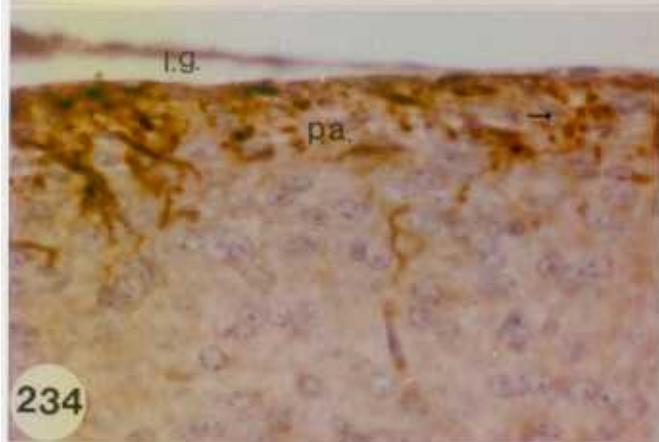
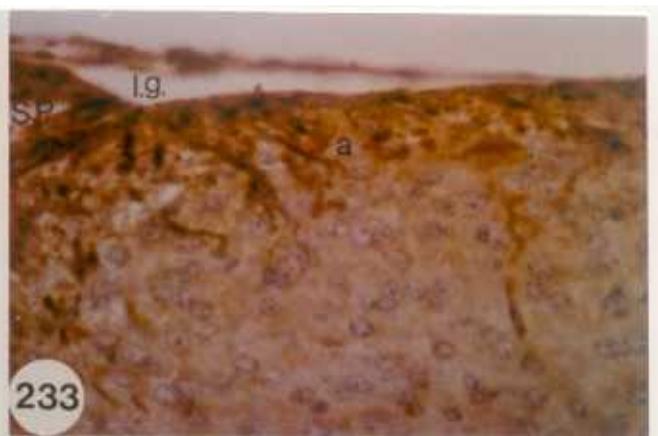
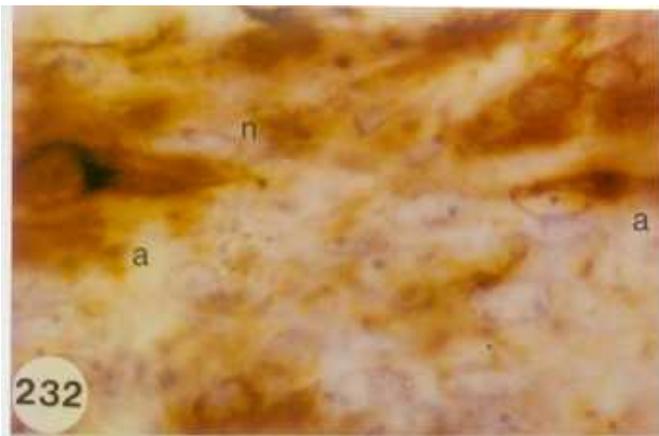
- Fig. 216 Limitante glial subpial con somas y prolongaciones astrocitarias en el propio límite medular. x 1000.
- Fig. 217 Zonas laterales de sustancia blanca. Los astrocitos tienen largas prolongaciones inmunotinción positiva, con una disposición clara de paralelismo. Es una de las zonas medulares con mayor número de prolongaciones. x 1000.
- Fig. 218 Zonas laterales. Astrocitos de mediano tamaño que emiten prolongaciones unidireccionales hacia la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 219 Astrocito perivascular satélite en un vaso cortado longitudinalmente. Obsérvese la pared vascular con inmunotinción positiva. x 1575.
- Fig. 220 Vaso en corte transversal, presentando en su pared una forma triangular a modo de pie astrocitario con inmunotinción positiva. x 1575.
- Fig. 221 Astrocitos grandes en sustancia gris, con prolongaciones unidireccionales y ramificadas. Obsérvese una motoneurona multipolar de gran tamaño. x 1000.
- Fig. 222 Prolongaciones perineuronales con inmunotinción débil. Obsérvese en la parte superior de la imagen un astrocito perineuronal satélite. x 1250.
- Fig. 223 Zonas laterales medilares. Obsérvese un astrocito perineuronal satélite de pequeño tamaño enfrentando su soma al de una neurona. x 1250.



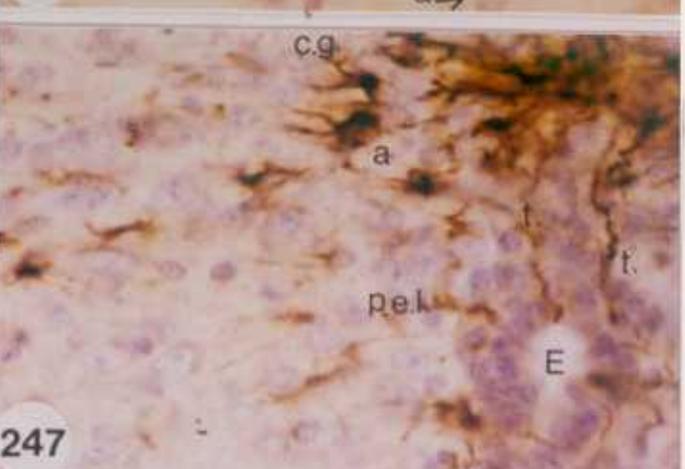
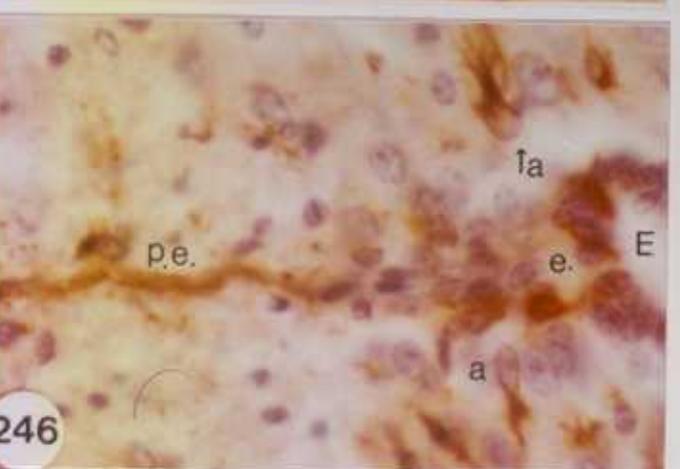
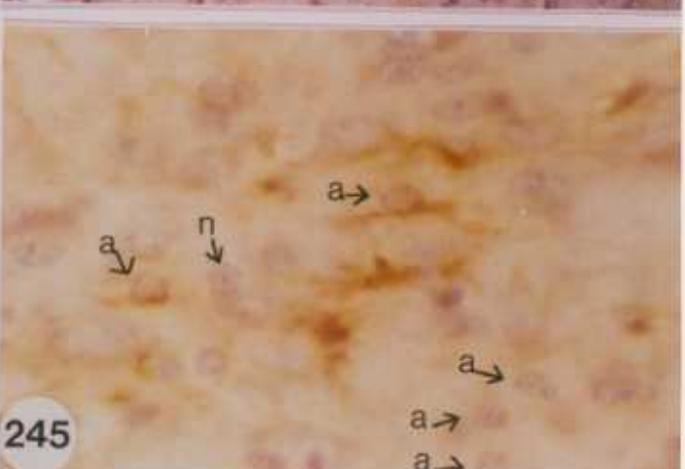
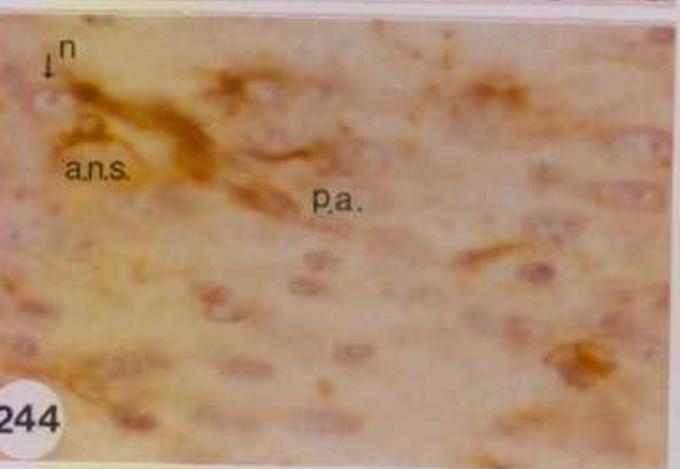
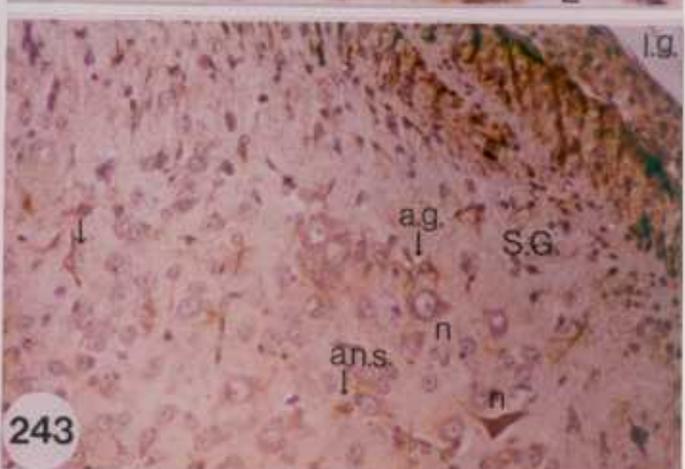
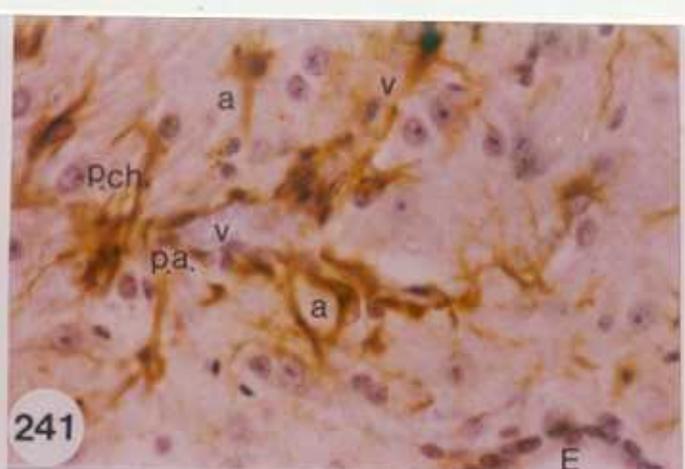
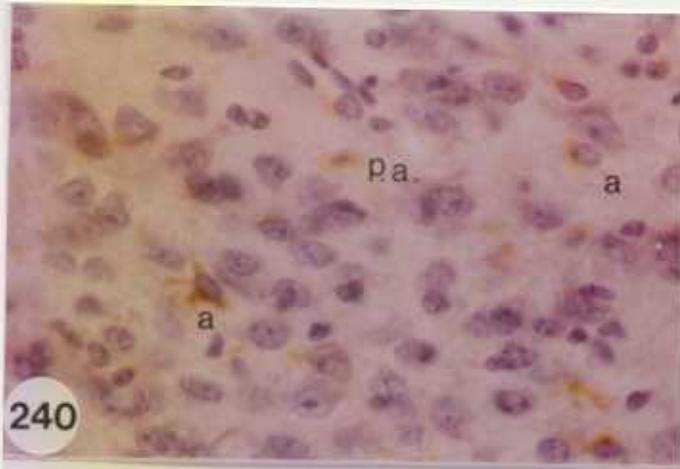
- Fig. 224 Núcleo propio, en su zona más dorsal se observan astrocitos perineuronales enfrentando su soma y parte de sus prolongaciones al soma neuronal. x 1250.
- Fig. 225 Astrocito interneuronal, entre dos somas neuronales de distinto tamaño, y prolongaciones difusas con inmunotinción positiva. x 1250.
- Fig. 226 Somas astrocitarios con incipientes prolongaciones muy finas, que se sitúan entre los espacios que dejan las neuronas. x 1250.
- Fig. 227 Prolongación astrocitaria que contactan dos somas astrocitarios, posiblemente debido a procesos de división celular. x 1250.
- Fig. 228 Oligodendrocito adosado al soma astrocitario con una prolongación gruesa que emite en ambos sentidos. x 1250.
- Fig. 229 Astas dorsales. Limitante subpial con múltiples formas astrocitarias fibrosas en un área próxima a la zona marginal de Lissauer. x 1000.
- Fig. 230 Inmunotinción positiva, en somas y prolongaciones astrocitarias de forma similar a las de adultos. Nótese la disposición de paralelismo entre estas prolongaciones. x 1250.
- Fig. 231 Limitante glial subpial. Obsérvense grandes somas triangulares astrocitarios situados en la propia franja subpial emitiendo prolongaciones paralela hacia la sustancia gris. x 1575.



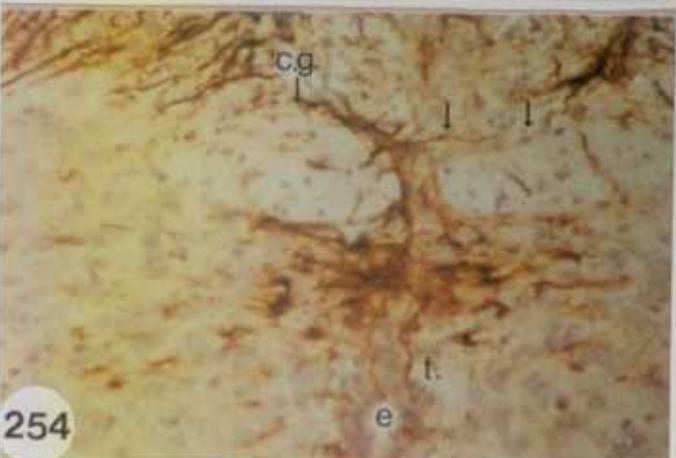
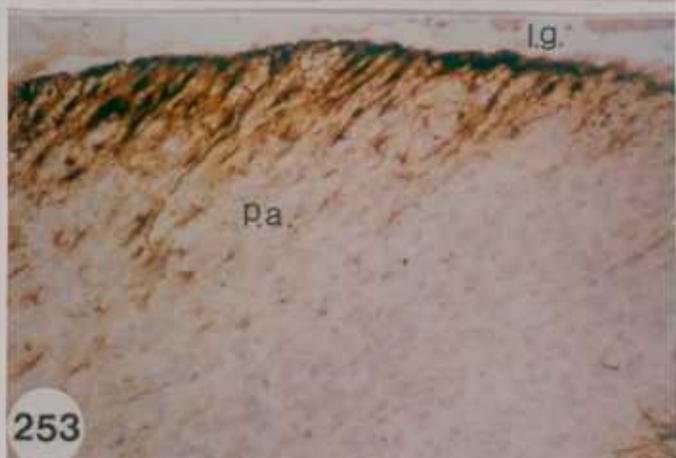
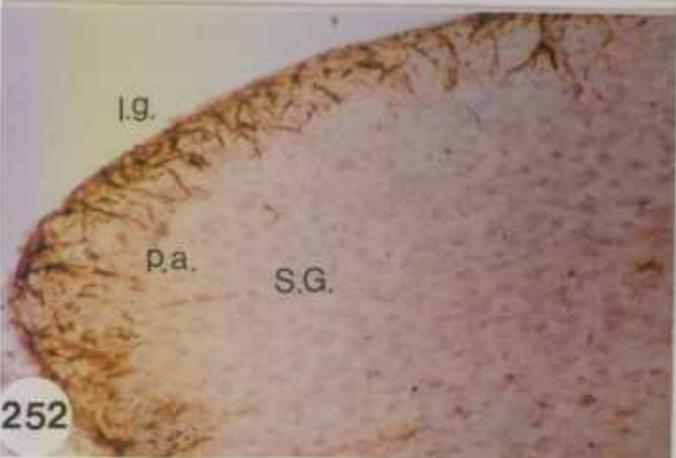
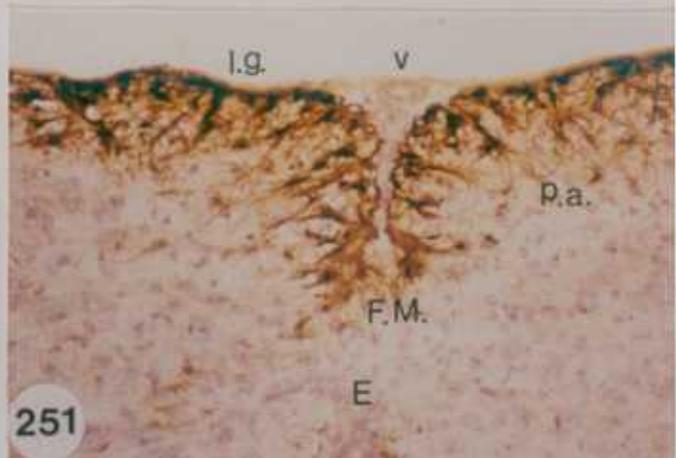
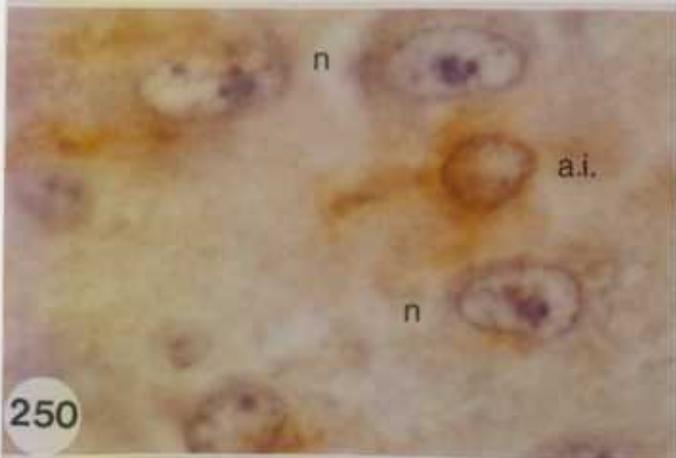
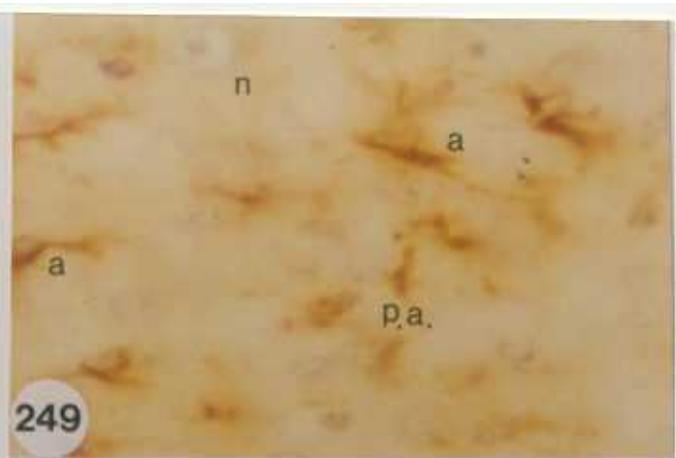
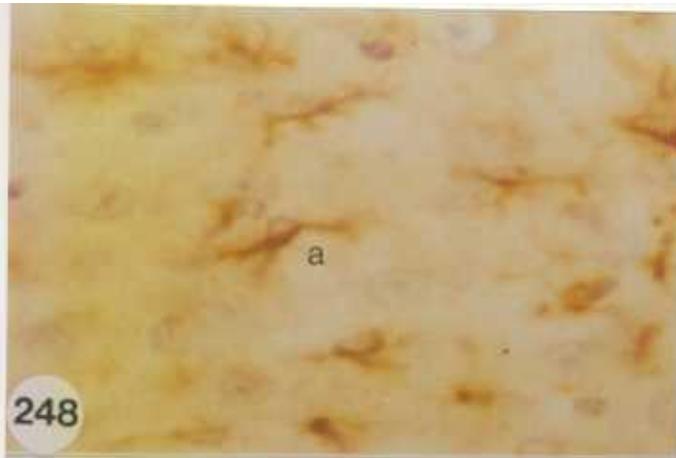
- Fig. 232 Astrocitos interneuronales grandes que sitúan su soma adosado al de la neurona en una zona próxima a la limitante subpial. x 1575.
- Fig. 233 Astas dorsales. Limitante glial subpial. Prolongaciones astrocitarias intensamente teñidas. x 1000.
- Fig. 234 Limitante glial subpial y puntuaciones, inmunotinción positiva de prolongaciones astrocitarias cortadas transversalmente. x 1000.
- Fig. 235 Limitante glial subpial, con somas en el límite externo enviando sus prolongaciones de forma paralela a un área próxima a las astas dorsales. x 1000.
- Fig. 236 Surco medio-dorsal y Surcos paramedulares de sustancia blanca con astrocitos alineados en su interior y prolongaciones en un trayecto uniforme. Otras finas prolongaciones se ramifican en el haz de Goll y de Burdach. x 1000.
- Fig. 237 Zona periependimaria dorsal en el estadio 4. Obsérvese una positividad difusa a lo largo del surco dorsal, y la disposición de los ependimocitos alineados en el propio epéndimo. x 1000.
- Fig. 238 Epéndimo en el estadio 5, ya se observa completamente diferenciado en su zona dorsal y dos tanicitos envían sus prolongaciones hacia la comisura gris dorsal, densamente poblada de astrocitos. x 625.
- Fig. 239 Nótese el límite entre sustancia gris y blanca en este estadio 4. x 1000.



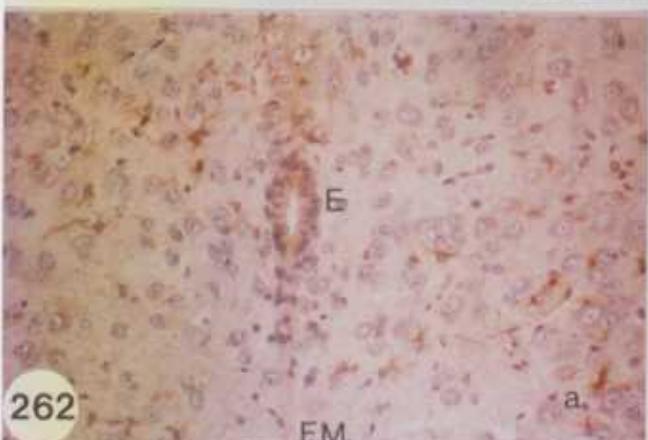
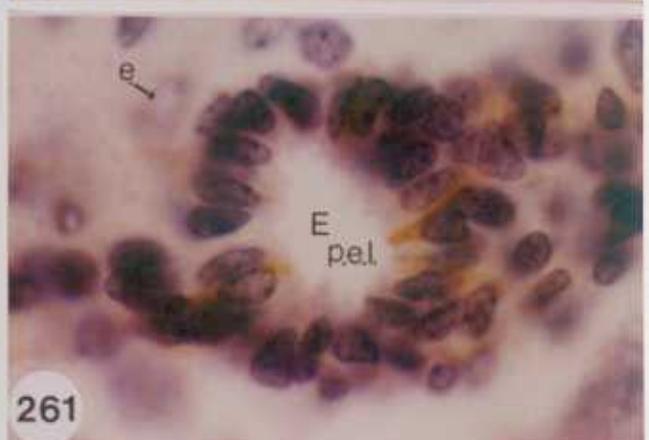
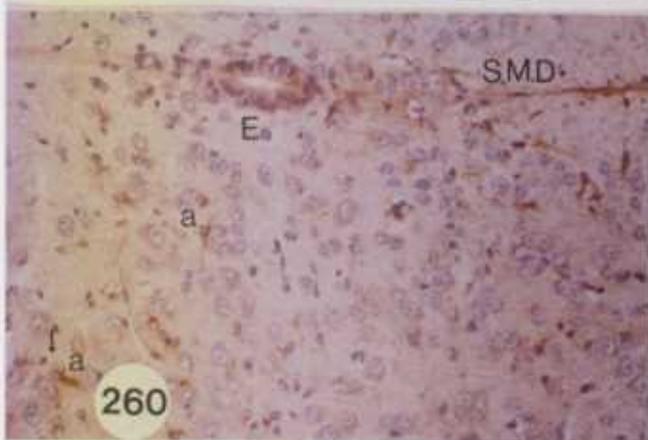
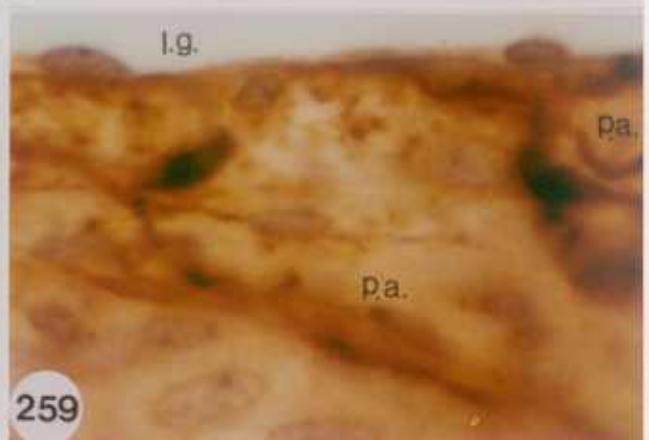
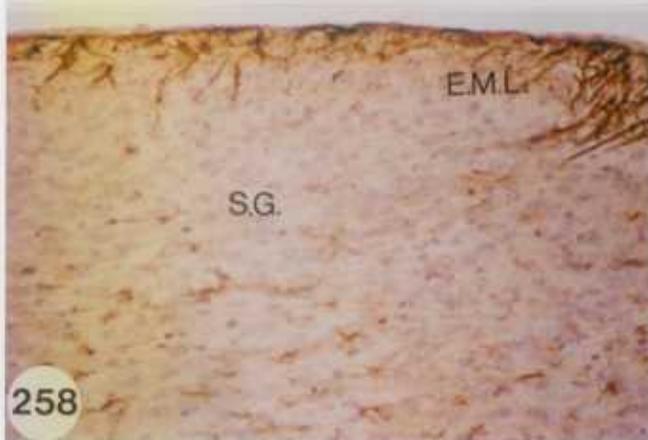
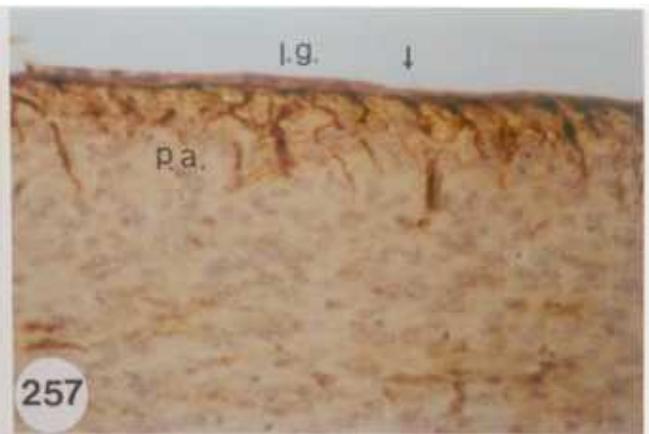
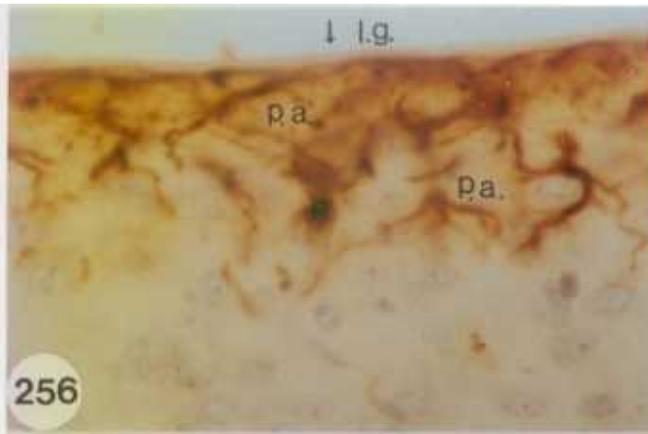
- Fig. 240 Astrocitos perineuronales con finas prolongaciones de la zona ventral de la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 241 Zonas laterales endimarias. Obsérvese la ramificación de varios tipos astrocitarios. x 1000.
- Fig. 242 Panorámica de la sustancia gris ventral. x 625.
- Fig. 243 Zona ventral lateral de sustancia gris. Entre las neuronas, se observan varias clases de astrocitos, gemelos, perineuronales satélites. Limitante subpial con astrocitos distribuidos en dos o tres capas. La más profunda es de imágenes puntiformes, esta es la capa que contacta con la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 244 Zona lateral de sustancia gris. En la parte superior izquierda de la imagen se observa un astrocito perineuronal satélite. (flecha). x 1000.
- Fig. 245 Agrupación de astrocitos indiferenciados en las zonas laterales de la sustancia gris. Algunos presentan sólo incipientes prolongaciones. x 1000.
- Fig. 246 Zona dorsal endimaria. Las células astrocitarias contactan con la luz endimaria y envían largas prolongaciones, formando haces hacia la zona dorsal. x 1000.
- Fig. 247 Zona dorsal perieendimaria. Dos tanicitos envían largas prolongaciones desde la luz endimaria hacia la zona dorsal medular. x 1000.



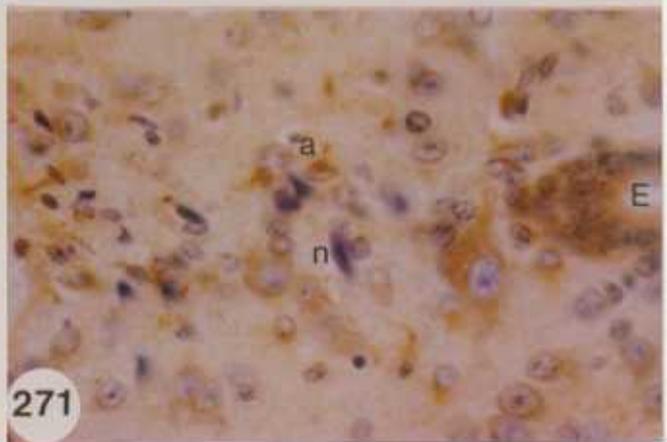
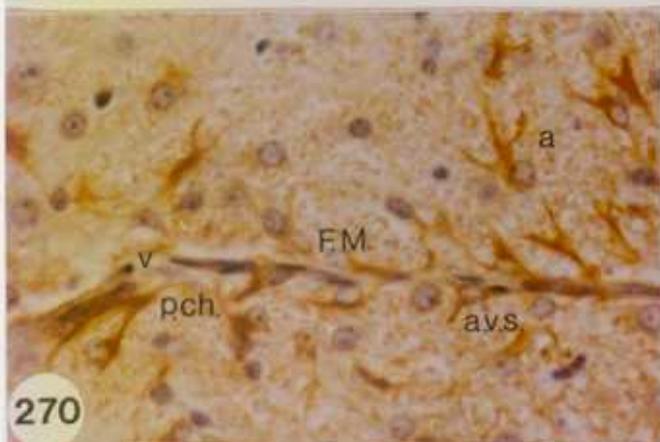
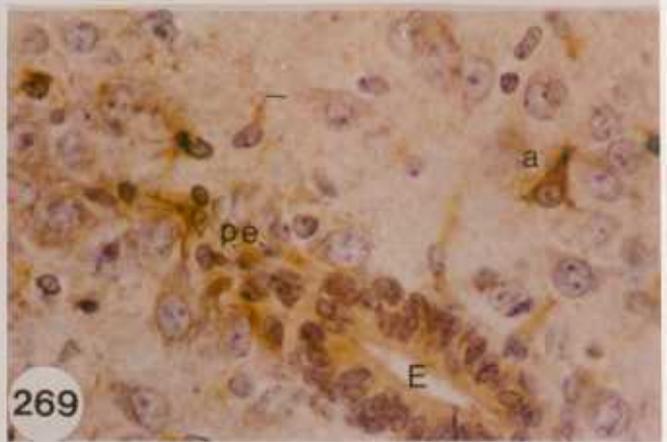
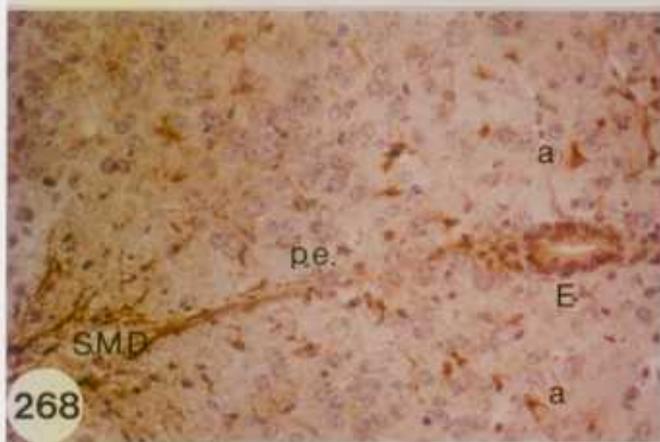
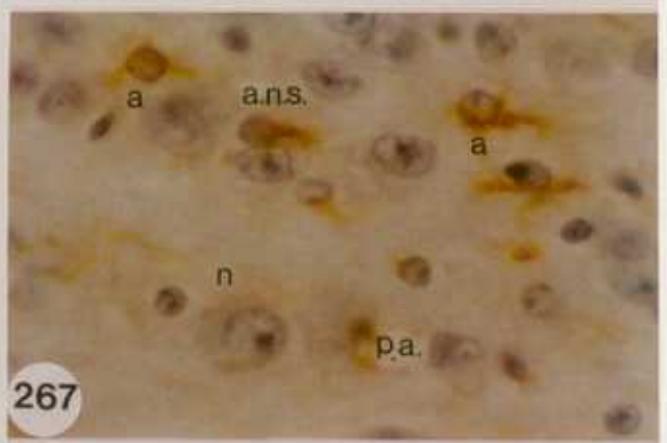
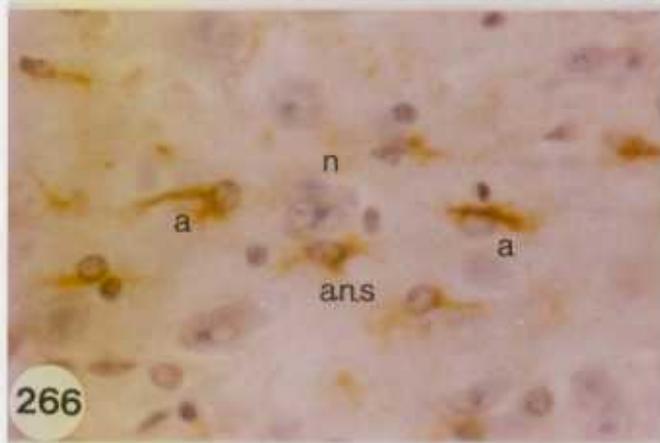
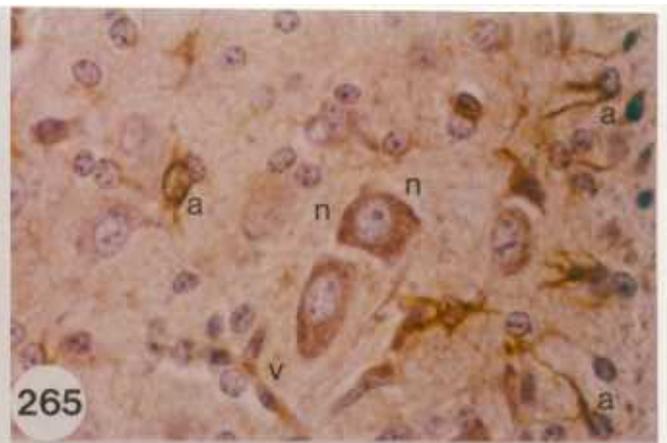
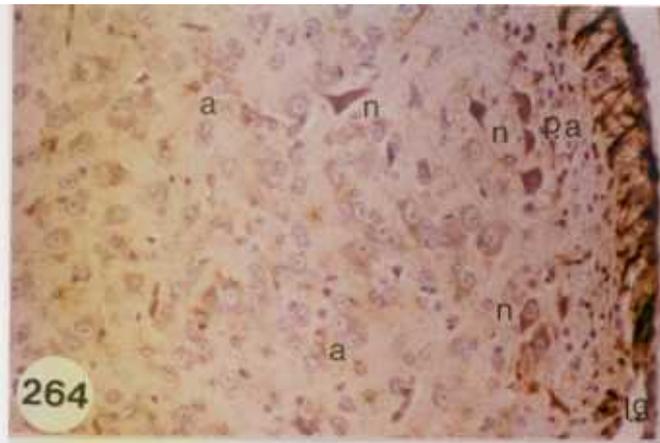
- Fig. 248 Diferentes tipos astrocitarios perineuronales con finas prolongaciones astrocitarias en la zona dorsal medular. x 1000.
- Fig. 249 Astrocitos dispersos con prolongaciones muy finas, pero claramente positivas a la inmunotinción. x 1000.
- Fig. 250 Astrocito Interneuronal, en las astas dorsales. Obsérvese con el soma astrocitario se dispone entre dos somas neuronales. x 1575.
- Fig. 251 Fisura media ventral y limitante subpial ventral. Las finas prolongaciones de astrocitos fibrosos son inmunotinción positiva. x 625.
- Fig. 252 Zonas laterales de la sustancia blanca. Obsérvese que la longitud de las prolongaciones son más cortas que en estadios anteriores y no mantienen la misma disposición de paralelismo. x 625.
- Fig. 253 Zona dorsal de la sustancia blanca. La limitante subpial es continua, con astrocitos que disponen su soma en esta limitante emitiendo sus prolongaciones de forma paralela hacia la sustancia gris. x 625.
- Fig. 254 Comisura gris dorsal. las finas prolongaciones astrocitarias simulan formar una barrera entre la sustancia gris y blanca. x 625.
- Fig. 255 Limitante glial subpial continua con somas y prolongaciones astrocitarias dispuestos en ella. x 625.



- Fig. 256 Prolongaciones astrocitarias, de curso serpenteante, que proceden de astrocitos que sitúan su soma en la limitante glial subpial. x 1000.
- Fig. 257 La limitante glial subpial en las zonas laterales próximas a la dorsal, se continua y las prolongaciones astrocitarias se encuentran prólijamente ramificadas. x 625.
- Fig. 258 Zona marginal de Lissauer, largas prolongaciones astrocitarias ya agrupadas en fibras. x 625.
- Fig. 259 Limitante subpial. Somas astrocitarios enfrentados en la misma limitante enviando sus prolongaciones hacia la sustancia gris. x 1575.
- Fig. 260 Panorámica del epéndimo diferenciado. En la zona ventral se observa una afluencia de endimocitos indiferenciados desde la parte terminal de la fisura media ventral hasta la comisura ventral. x 625.
- Fig. 261 Endimocitos con sus prolongaciones e incluso su propio soma inmunotinción positiva, haciendo contacto con la luz endimaria. x 1250.
- Fig. 262 Zona ventral y dorsal periependimaria. x 625.
- Fig. 263 Endimocitos con largas prolongaciones hacia la comisura gris dorsal. Estas prolongaciones son también de algún tanicito. x 625.



- Fig. 264 Limitante subpial, de sustancia blanca formada al menos por tres capas astrocitarias. Algunas prolongaciones astrocitarias están cortadas transversalmente por lo que se observan como puntos. x 625.
- Fig. 265 Límite entre sustancia gris y blanca. Nótese la diferencia entre astrocitos fibrosos y protoplásmico y motoneuronas grandes multipolares pertenecientes a esta zona ventral de sustancia gris. x 1250.
- Fig. 266 Zonas laterales de sustancia gris. Obsérvense varios tipos astrocitarios. x 1000.
- Fig. 267 Astrocito perineuronal satélite contactando su soma con el neuronal. x 1000.
- Fig. 268 Panorámica, de la zona dorsal periependimaria, donde se observa la desaparición de la gran concentración astrocitaria de estadios anteriores. x 625.
- Fig. 269 Zona endimaria dorsal, donde se observan endimocitos con somas y partes circundantes G.F.A.P. positivas. x 1250.
- Fig. 270 Estadio 7. Fisura media ventral. Astrocitos con su soma justo en este límite enviando prolongaciones hacia la sustancia gris. x 1000.
- Fig. 271 Zona dorsal de sustancia gris. Obsérvese que todas las prolongaciones astrocitarias ya tienen una tinción G.F.A.P. positiva. x 1000.



- Fig. 272 Zona periependimaria, donde se observan ependimocitos con prolongaciones únicas. x 1250.
- Fig. 273 Epéndimo completamente diferenciado en su región dorsal y ventral. Nótese como en la zona dorsal las prolongaciones tienen una longitud que alcanza la comisura gris dorsal. x 1250.
- Fig. 274 Forma astrocitarias periependimarias idénticas a las de ratón adulto. Obsérvese el epéndimo completamente diferenciado. x 1000.
- Fig. 275 Panorámica de las zonas laterales periependimarias de sustancia gris. x 625.
- Fig. 276 Zona ventral periependimaria de sustancia gris. Obsérvese un vaso en la zona superior izquierda. x 1000.
- Fig. 277 Astrocitos perineuronales en la zona de límite entre sustancia gris y sustancia blanca. Obsérvese en la sustancia blanca motoneuronas grandes multipolares. x 1000.
- Fig. 278 Astrocitos perineuronales satélites de la zona intermedia entre sustancia gris y blanca. x 1000.
- Fig. 279 Astrocito tenido con el método de Golgi. x 1550.

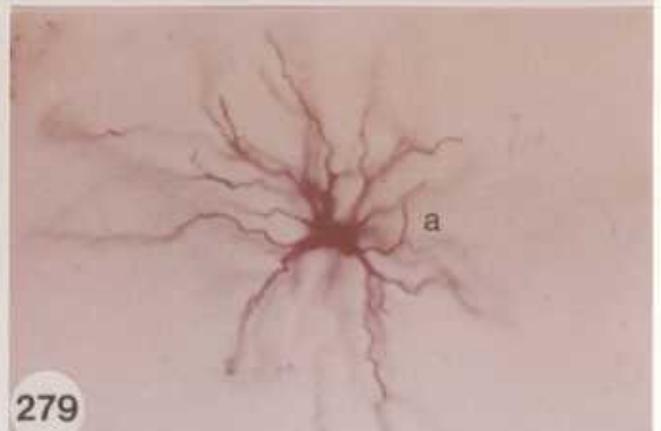
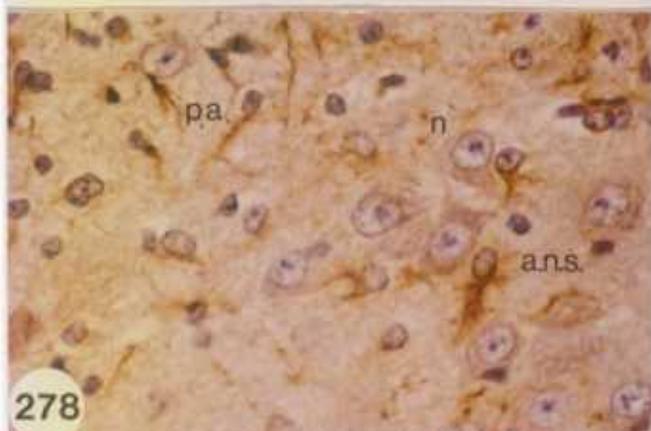
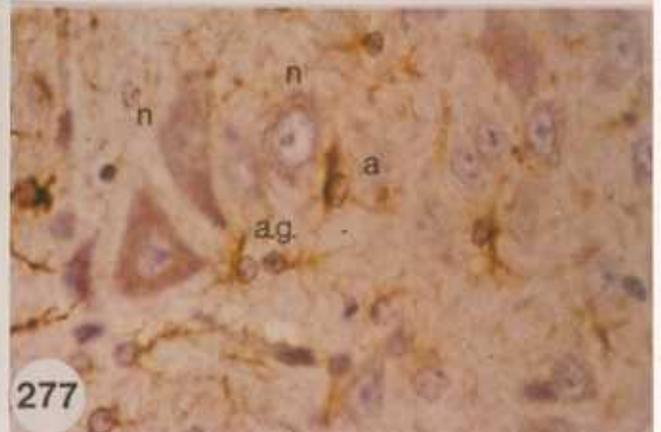
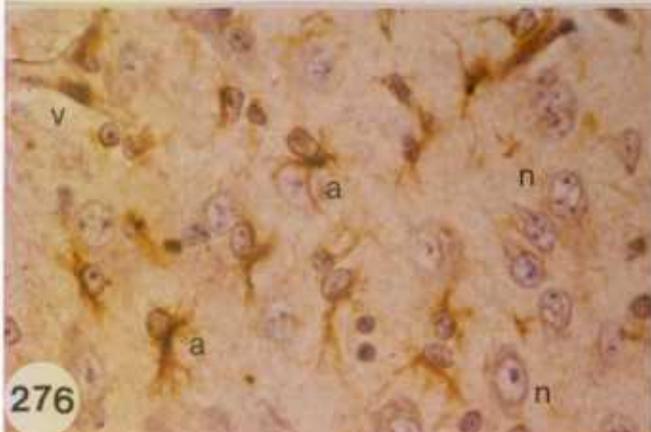
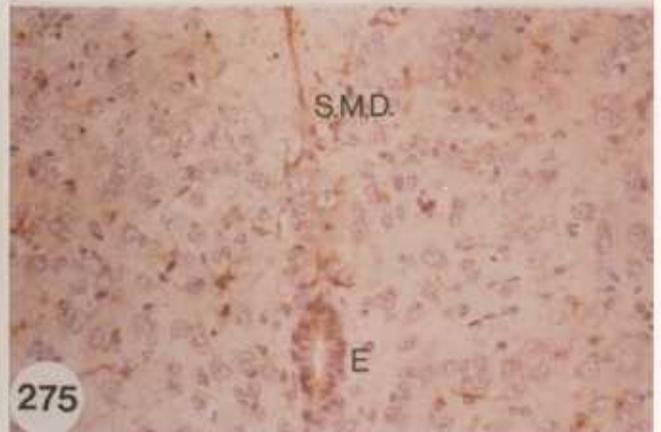
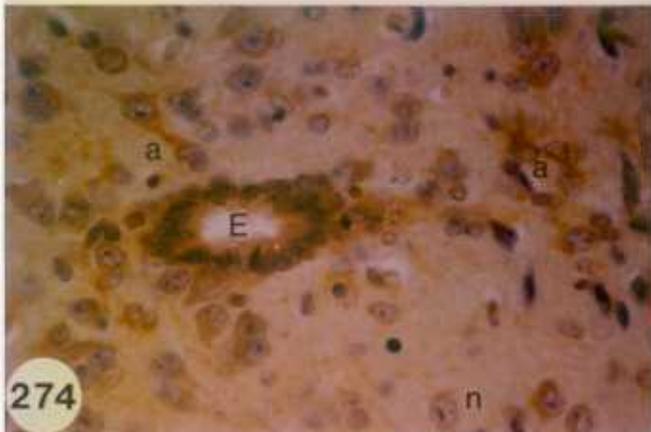
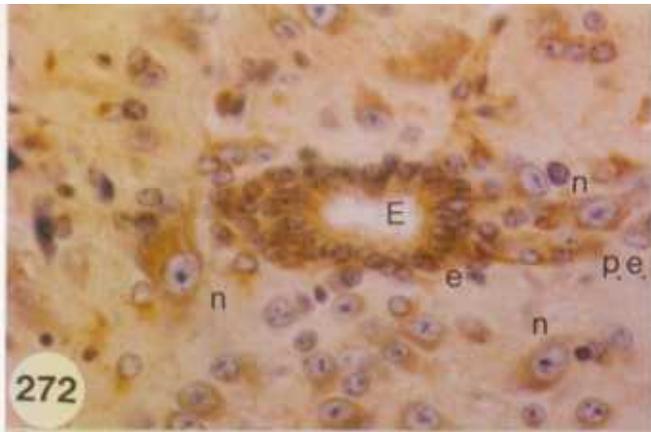


Fig. 280 Limitante glial subpial de la zona ventral medular.  
x 1550.

Fig. 281 Limitante glial subpial de las zonas laterales  
medulares. x 1550.

Fig. 282 Relación entre prolongaciones de distintos  
astrocitos perivasculares. x 1550

Fig. 283 Panorámica de sustancia gris y sustancia blanca de  
médula cervical. x 1200.

Fig. 284 Astrocitos perivasculares de la zona dorsal medular.  
x 1620.

Fig. 285 Astrocito perivascular en la zona ventral medular.  
x 1620.

Fig. 286 Astrocito perivascular. x 1953.

Fig. 287 Astrocito perivascular. x 1953.

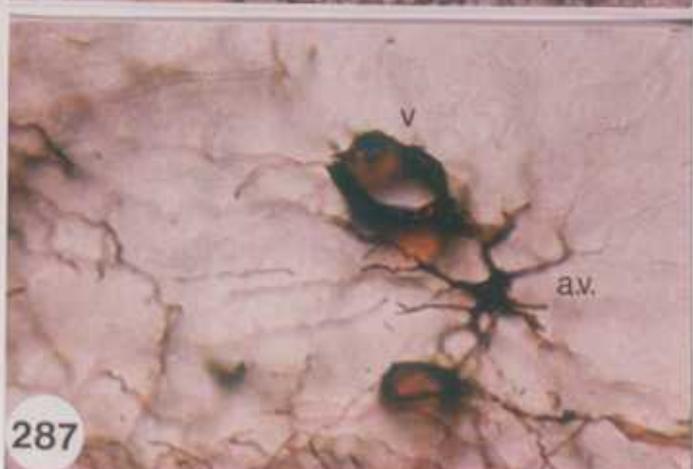
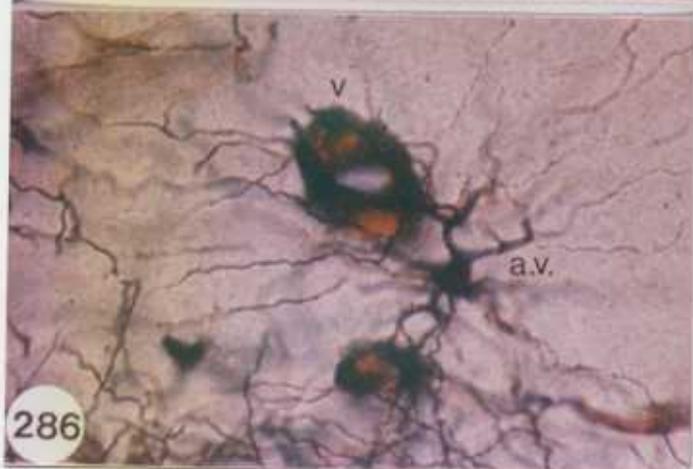
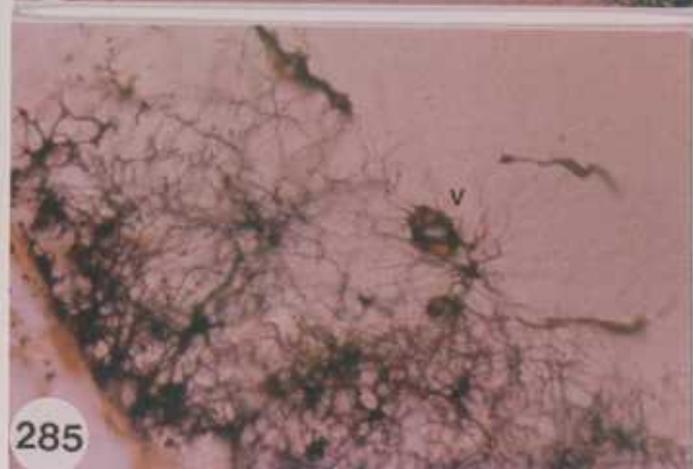
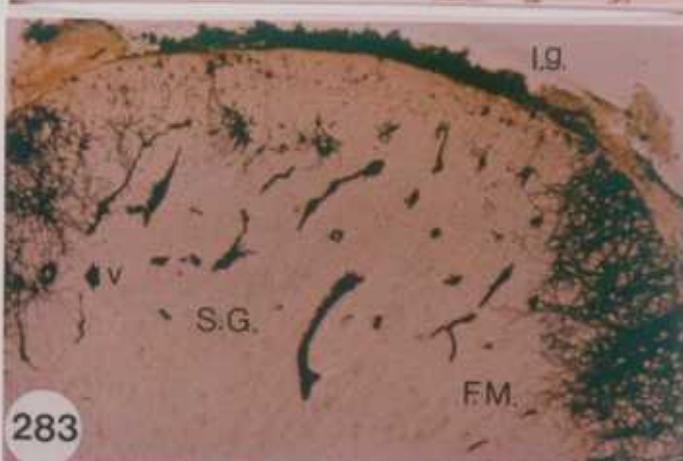
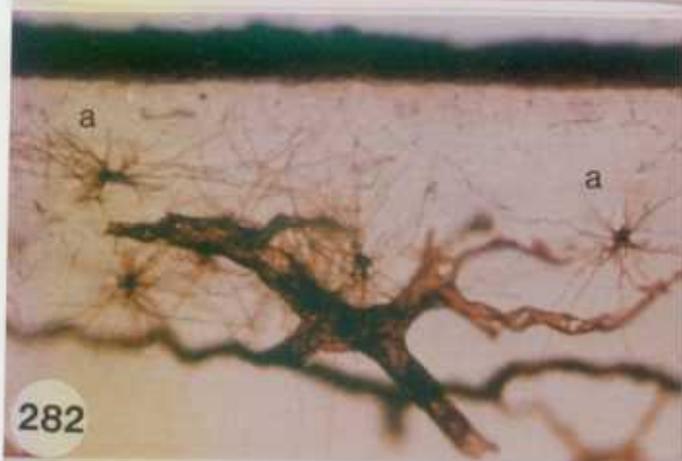
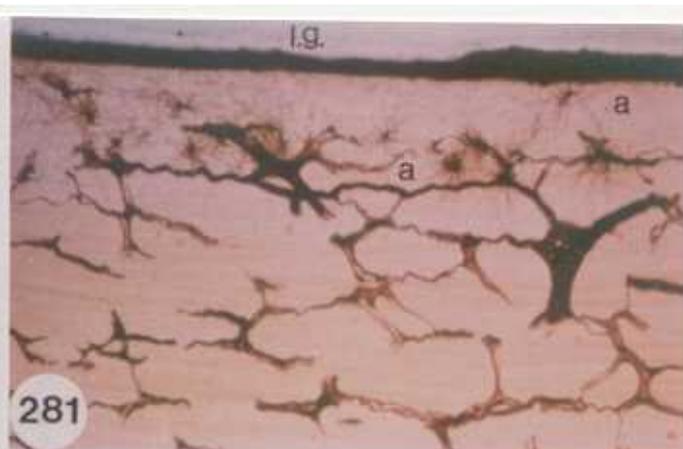
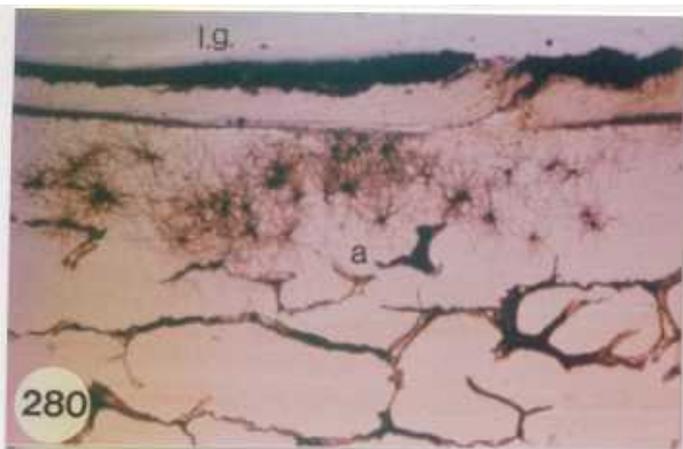


Fig. 288 Astrocito de asta motora cuyo soma está compuesto en su mayor parte por haces de gliofilamentos. El núcleo presenta cromatina de aspecto granuloso muy disperso. x 17.455.

Fig. 289 Haces de gliofilamentos en el interior de las prolongaciones astrocitarias, cortadas en distinta disposición. x 35.000.

Fig. 290 Soma astrocitario con baja densidad de gliofilamentos con ribosomas, algunas cisternas Golgianas y fragmentos de R.E.R., escasamente desarrollado x 32.000

Fig. 291 Prolongaciones astrocitarias con su astroplasma ocupado por haces de gliobrillas sin apenas espacio para la presencia de orgánulos citoplásmicos. x 36.632.

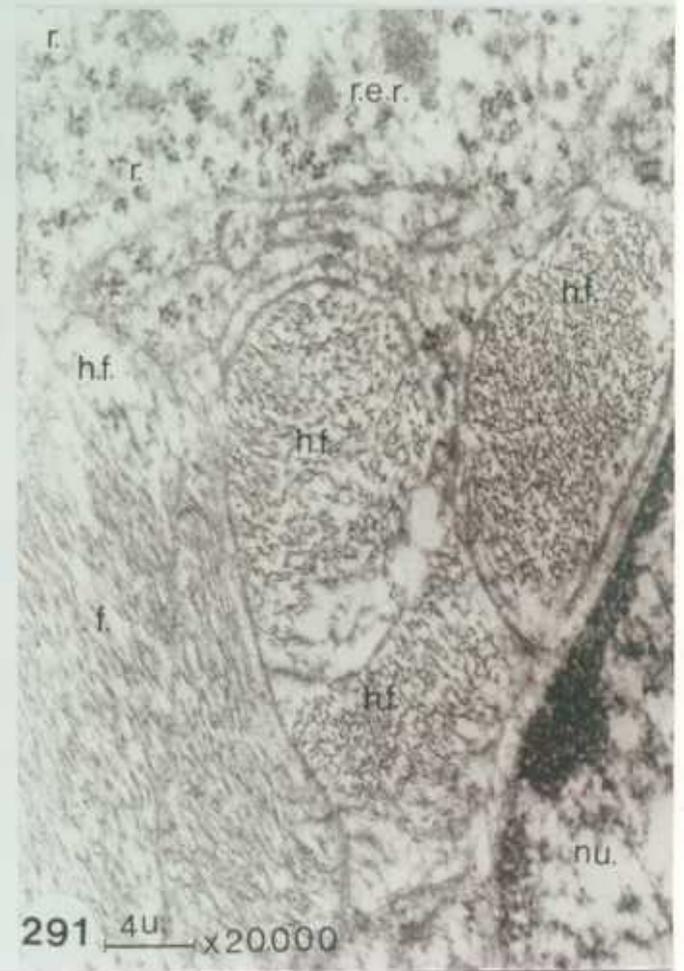
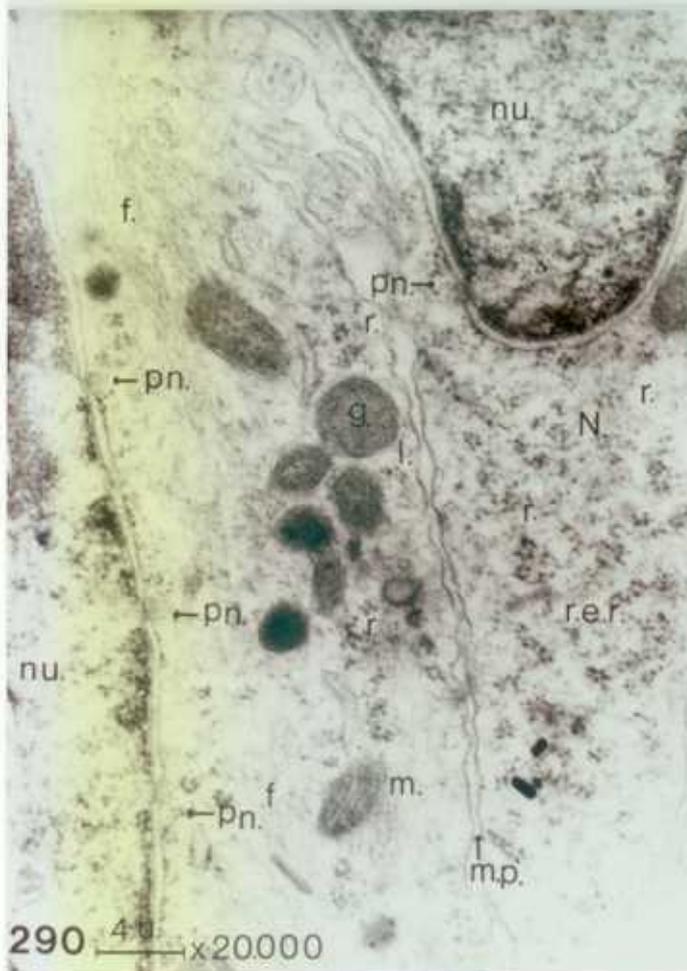
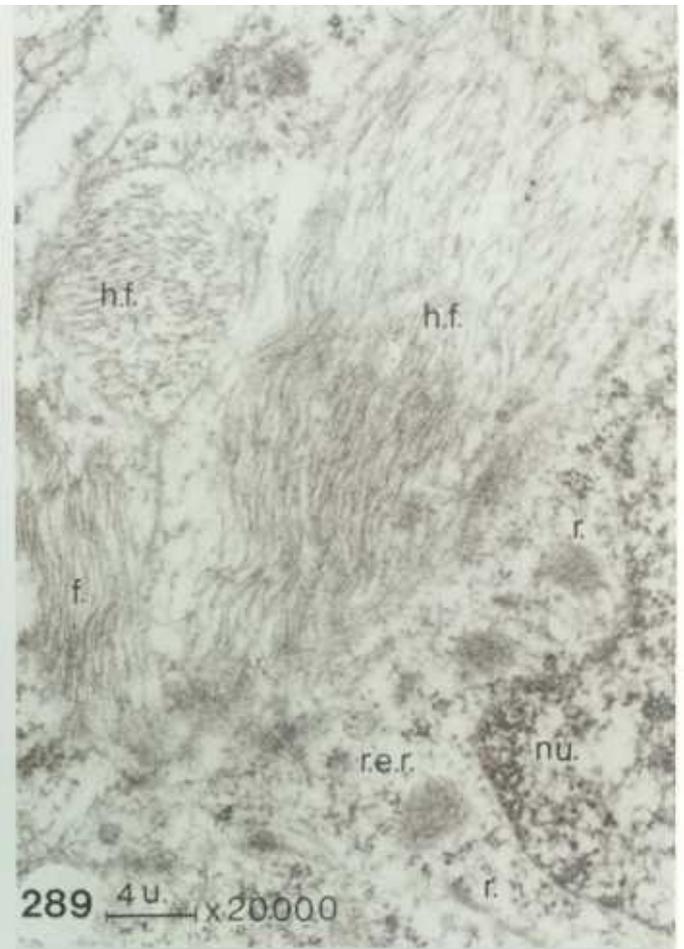
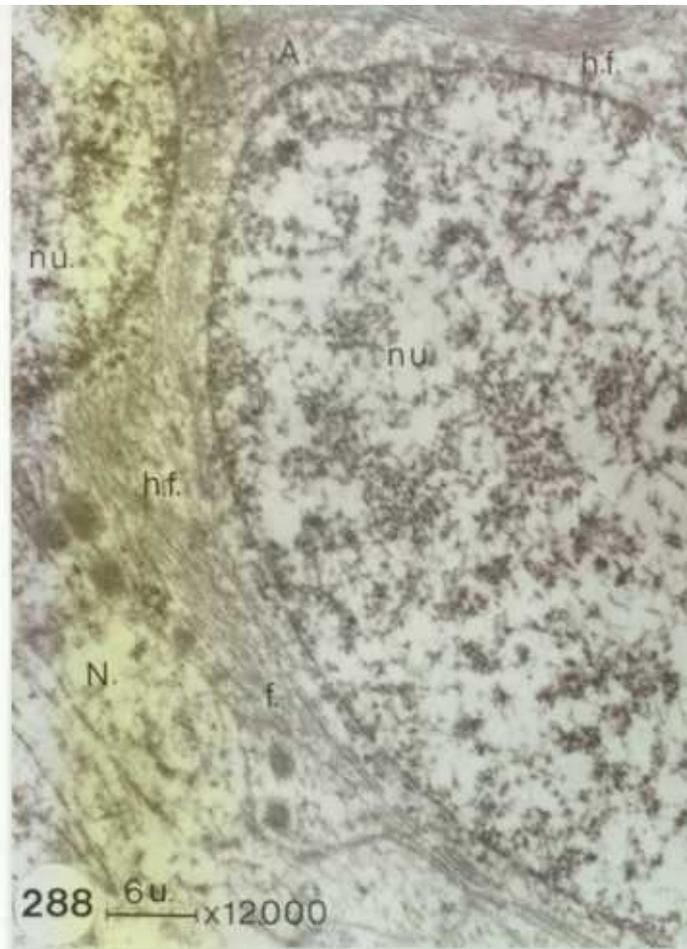


Fig. 292 Prolongaciones astrocitarias delimitando territorios ocupados por varias neuronas. Estas prolongaciones están ocupadas en su interior por haces de gliofilamentos. x 11.919.

Fig. 293 Pie vascular, la prolongación astrocitaria acaba en un ensanchamiento apiramidado cuya base se dispone hacia el vaso. x 16.667.

Fig. 294 Prolongación astrocitaria que rodea completamente a un vaso formando como un manguito astrocitario en el entorno vascular. x 70.725.

Fig. 295 Núcleo astrocitario muy próximo a la base del pie vascular, el soma astrocitario se une en este caso mediante tres desmosomas a otro elemento astrocitario próximo. x 21.429.

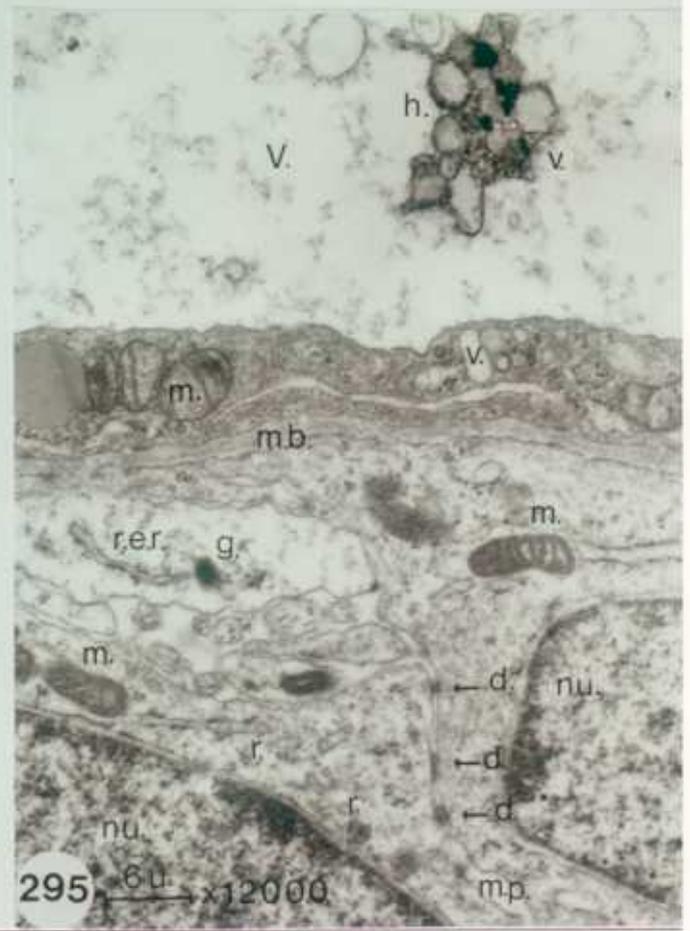
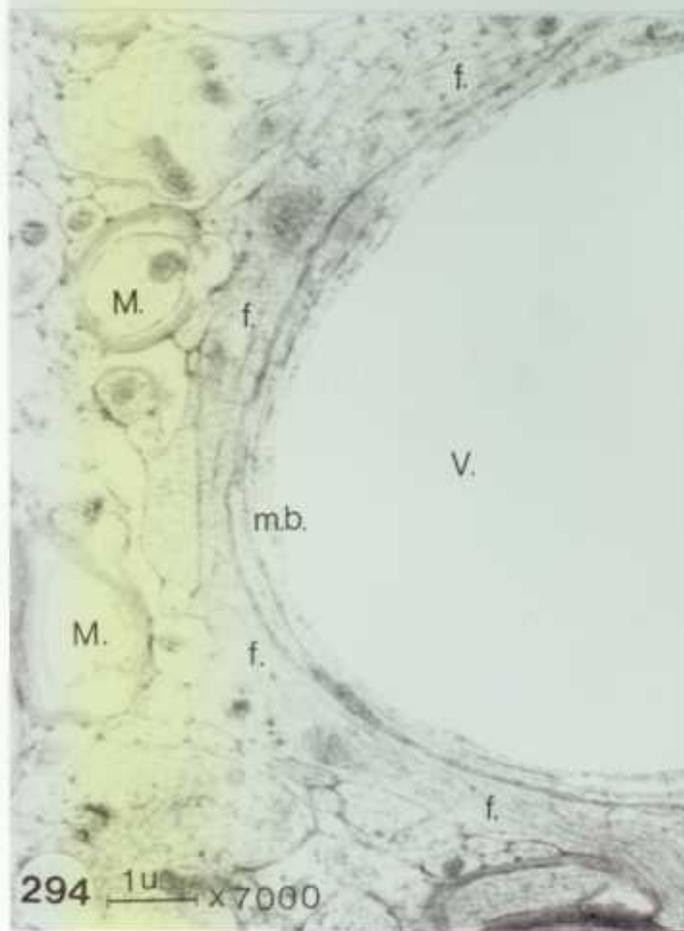
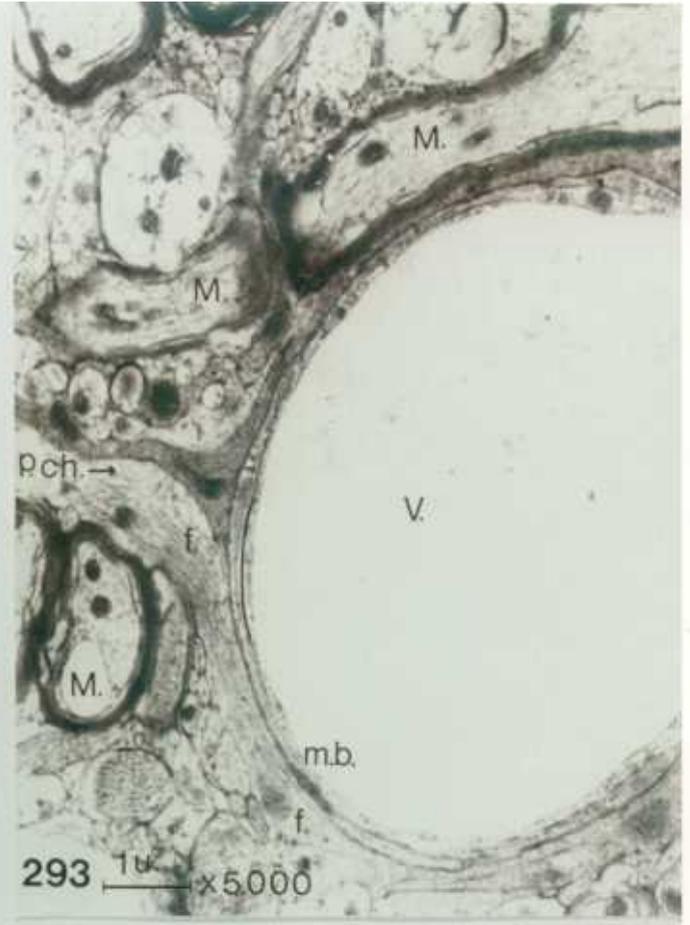


Fig. 296 Capilar en sustancia blanca, cuyo endotelio está rodeado por su correspondiente basal. Sobre esta basal se apoyan uno o dos elementos celulares que a su vez están rodeados por otra membrana basal. x 22.909.

Fig. 297 Oligodendrocitos en relación con fibras mielínicas. x 7.941.

Fig. 298 Astrocito entre haces mielínicos. Su soma presenta un núcleo bien diferenciado, escaso citoplasma perinuclear y prolongaciones largas y finas totalmente cargadas de gliofilamentos. x 6.250.

Fig. 299 Laminillas astrocitarias. Las prolongaciones astrocitarias ocupadas por gliofilamentos y escasos ribosomas se escinden en otras de menor diámetro consideradas como laminillas astrocitarias. x 53.333.

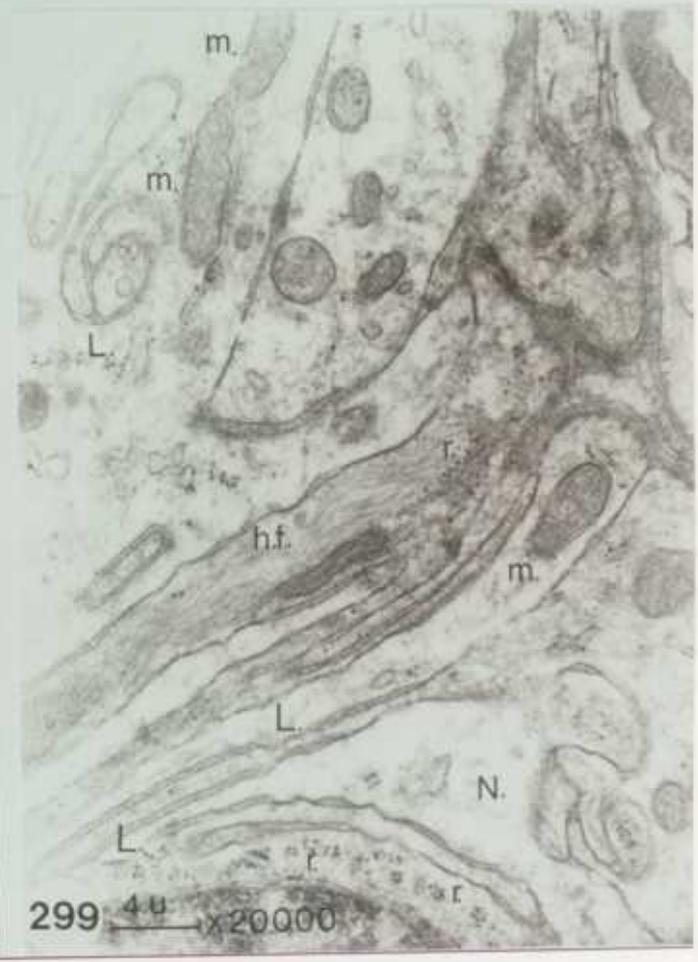
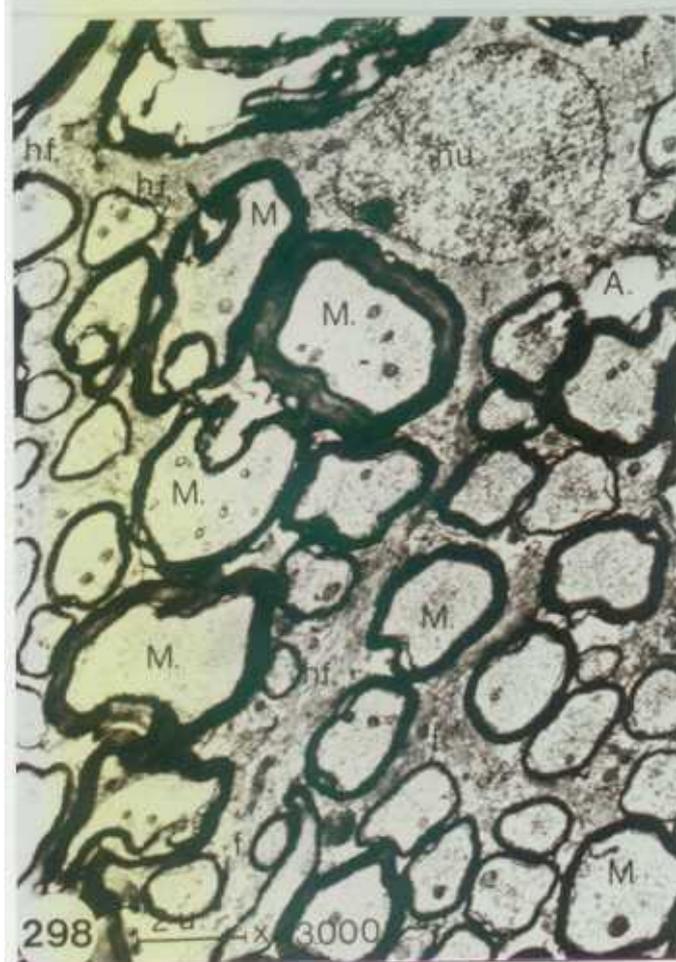
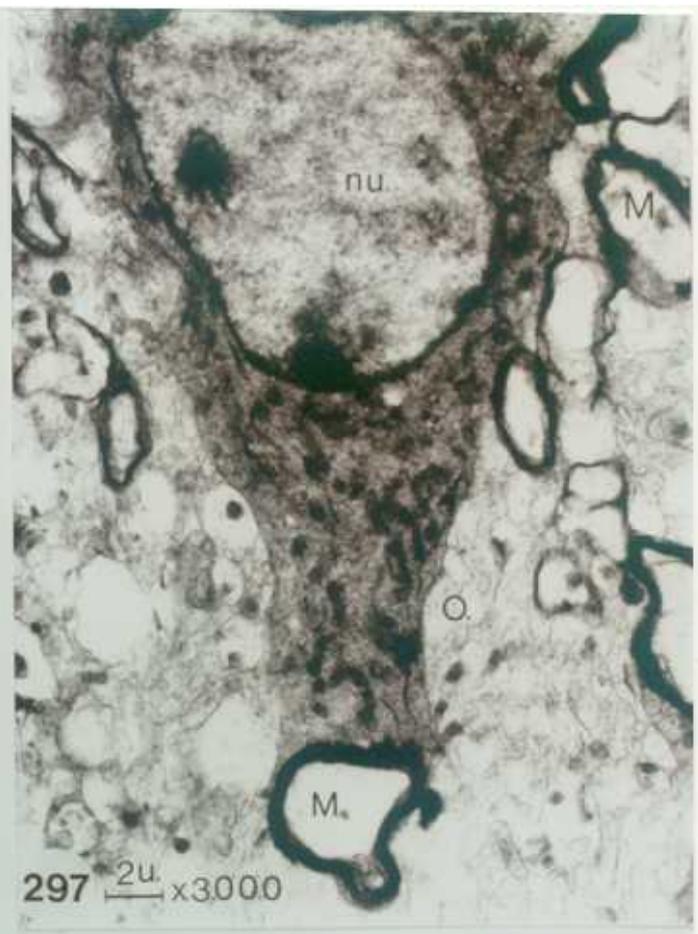
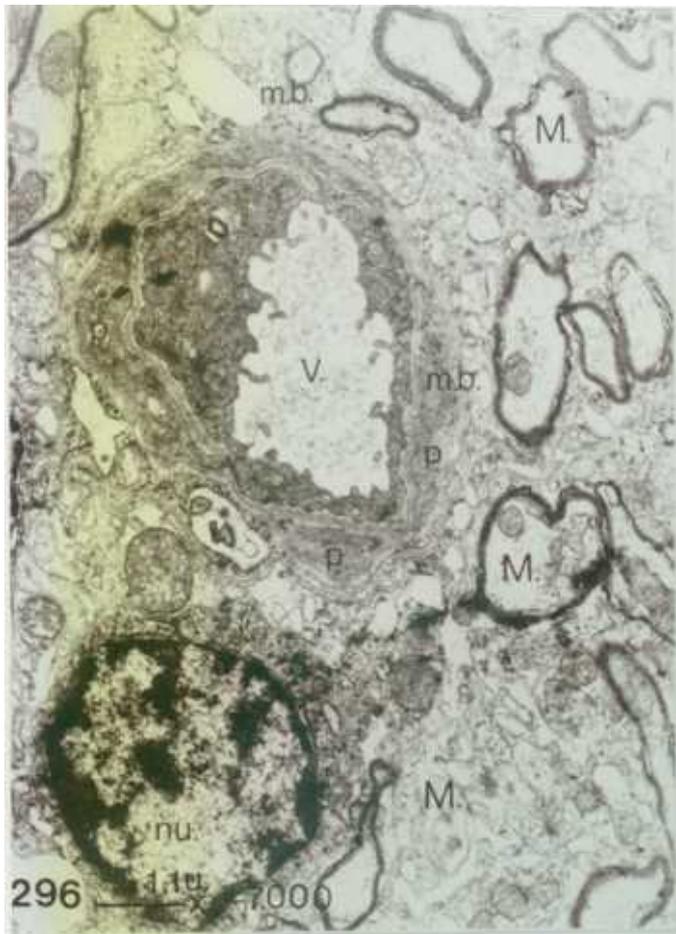


Fig. 300 Distintos tipos de prolongaciones astrocitarias. Unicamente las de menor diámetro y contenido amorfo son consideradas como laminillas astrocitarias. x 81.818.

Fig. 301 Membranas astrocitarias en disposición meandrinosa, se repliegan en su recorrido e incluso los espacios intermembranosos se fusionan. Obsérvese la existencia de un desmosoma en estas laminillas astrocitarias (flecha). x 47.500.

Fig. 302 Laminillas meandrinosas en las que se observan dilataciones con una apariencia edematosa. Estas laminillas están interpuestas entre un elemento neural y el neuropilo circundante. Obsérvese un pequeño desmosoma entre estas laminillas. x 49.286.

Fig. 303 Laminillas astrocitarias en disposición paralela con otras meandrinosas o de repliegue en un territorio entre dos neuronas. x 40.000.

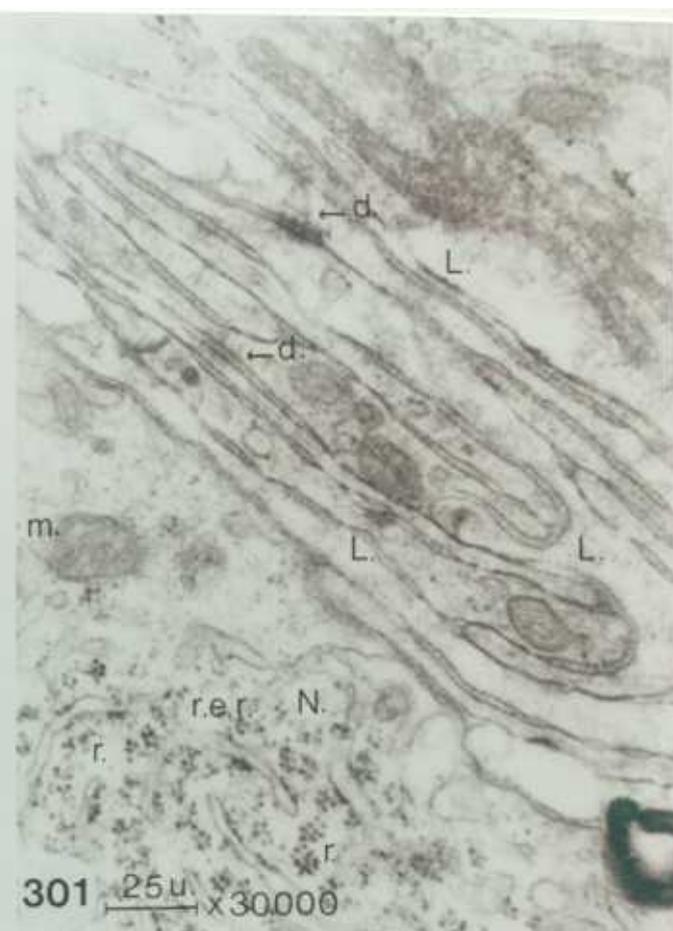


Fig. 304 Laminillas astrocitarias de disposición paralela y otras de repliegue en un mismo territorio. x 40.000.

