Parte A: **Observación de preparaciones histológicas y micrografías**

Observe al microscopio las preparaciones histológicas y utilice las descripciones que siguen como guía para identificar en los cortes histológicos las estructuras que observa. Realice esquemas, complete los datos que se piden e identifique las estructuras que se indican. Observe las micrografías electrónicas correspondientes.

a) Corte de corteza cerebral - tinción de Golgi

Mediante la técnica de tinción de Golgi, las neuronas y las células gliales se impregnan totalmente con sales de plata, quedando opacas a la luz, y solo se puede distinguir su forma externa. A diferencia de los métodos previamente analizados, éste tiñe solo entre un 1 y un 5% de las células, por lo que es posible observar las prolongaciones de células individuales.

A menor aumento distinga:

- ***sustancia gris***, más externa, en donde se sitúan los cuerpos de las neuronas;
- ***sustancia blanca***, más interna, donde se sitúan axones mielinizados.

A mayor aumento se pueden observar:

- ***neuronas piramidales***, se encuentran en la sustancia gris. Son células de gran tamaño, cuyo soma suele presentar una forma triangular en los cortes.

En ellas se observan:

- ***dendrita apical****,* saliendo desde uno de sus vértices hacia la superficie de la corteza, ramificada profusamente;
- ***dendritas basales***, dirigidas hacia el interior de la corteza;
- ***espinas dendríticas***, pequeñas proyecciones especializadas en recibir contactos sinápticos, que se encuentran en gran cantidad.

- ***neuroglía***:

- ***astrocitos protoplasmáticos***, se encuentran en la sustancia gris, presentan un gran número de prolongaciones citoplasmáticas ramificadas, que le dan aspecto velloso.
- ***astrocitos fibrosos***, se encuentran en la sustancia blanca, y sus prolongaciones son más largas y menos ramificadas.
- ***oligodendrocitos,*** predominantemente en la sustancia blanca; son células pequeñas, con prolongaciones escasas y delgadas.

Corteza cerebral (Golgi) 400X

Observe e identifique:

- neuronas piramidales
  - dendrita apical
  - dendritas basales
  - espinas dendríticas
- astrocitos fibrosos
- astrocitos protoplasmáticos
- sustancia gris
- sustancia blanca.

i) Compare lo observado en el preparado anterior (técnica de Golgi) con el preparado de corteza cerebral teñido con técnica de Nissl. Explique brevemente las diferencias.

ii) ¿Cuál considera usted que es la ventaja de impregnar el cuerpo de un pequeño porcentaje de células?

b) Corte de corteza cerebral o cerebelosa – técnica de Cajal

La técnica de Cajal pone en evidencia las neurofibrillas (haces de neurofilamentos presentes en el soma y las prolongaciones de las neuronas).

Observe la disposición de las neurofibrillas en el soma de las células piramidales o de Purkinje, y cómo se continúan hacia las dendritas. A bajo aumento identifique la disposición de la sustancia gris y sustancia blanca en la corteza cerebral o cerebelosa.

Corteza cerebral o cerebelosa (Cajal) 400X

Identifique:

- neuronas piramidales *(si es corteza cerebral)*
- neuronas de Purkinje *(si es corteza cerebelosa)*
- pericarion
- núcleo
- prolongaciones neuronales
- neurofibrillas

i) Observe las *micrografías 20A, 21B y 21C* las cuales muestran cortes transversales de dendritas o axones. ¿Qué elementos del citoesqueleto es posible identificar en estas micrografías electrónicas?

ii) ¿Cómo explicaría usted la abundante presencia de estos dos elementos del citoesqueleto en las neuronas?

c) Corte longitudinal de nervio – Impregnación con osmio o hematoxilina férrica

En el sistema nervioso periférico, los axones, junto con células neurogliales que los rodean, forman las fibras nerviosas. Éstas se asocian en fascículos para formar los nervios. Los axones pueden hallarse recubiertos de una vaina de mielina, formada por enrollamientos de la membrana plasmática de las células de Schwann (ver *micrografía electrónica n°21*).

Es posible observar la vaina de mielina con el microscopio fotónico:

- La tinción con osmio, tiene afinidad por los fosfolípidos de membrana, coloreando las vainas de mielina de color negro.

-La tinción con hematoxilina férrica tiñe el componente proteico de las muestras, resaltando, las vainas de mielina y los núcleos de las células de Schwann de color gris-azul.

En estos preparados se ponen en evidencia los nodos de Ranvier, regiones regularmente espaciadas en donde se interrumpe la vaina de mielina. Cada región internodal representa la porción de la vaina que es formada por una célula de Schwann.

Nervio, en sentido longitudinal (osmio o h. férrica) 400X	Identifique: ● vaina de mielina ● nodos de Ranvier

d) Observe las micrografías electrónicas de la plancha 21:

i) Mida el espesor de la vaina de mielina.

ii) Explique las diferencias que observa al comparar las micrografías 21A y 21B. Identifique en cada caso la morfología de los axones y de las células de Schwann.

e) Corte transversal de médula espinal – tinción de Nissl

En la tinción de Nissl se utiliza un colorante catiónico, como el azul de toluidina.

Observe, a bajo aumento, la forma ovalada del corte transversal de médula y determine la posición del eje dorso-ventral, guiándose por la presencia del surco ventral. También a bajo aumento, observe la disposición central de la sustancia gris, en forma de H. Es allí donde se encuentran los somas neuronales.

A mayor aumento, localice las grandes motoneuronas espinales, ubicadas en las astas ventrales de la sustancia gris. Estas neuronas multipolares se caracterizan por presentar una forma triangular o alargada en los cortes, debido a la deformación del soma causada por el nacimiento de las dendritas. El pericarion aparece intensamente teñido y el núcleo es grande y eucromático, a la vez que presenta uno o más nucléolos visibles. Identifique, además, otros núcleos en la sustancia gris. En la sustancia blanca, observe los núcleos de las células gliales y los axones mielinizados en corte transversal.

Médula espinal (Nissl) 400X	Observe las astas ventrales y en ellas identifique: ● motoneurona - núcleo - nucléolo(s) - pericarion - cuerpos de Nissl ● otros núcleos

i) ¿A qué células corresponden los otros núcleos?

ii) Observe la *plancha nº 22*. Mencione dos estructuras que pueda observar en las micrografías electrónicas correspondientes al citoplasma perinuclear de una motoneurona.

iii) Los cuerpos de Nissl son estructuras citoplásmicas que se colorean intensamente mediante la tinción de Nissl. Esta tinción pone en evidencia una estructura citoplasmática. ¿De qué estructura se trata?

Parte B: **Sinapsis**

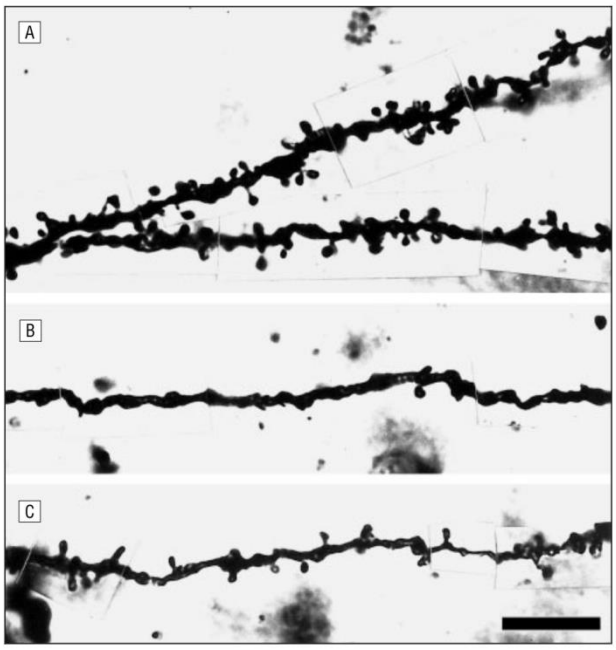
Observe las características de axones y dendritas y su participación en diversos tipos de sinapsis, en las *micrografías electrónicas de la plancha nº 20.*

i) Enumere las estructuras subcelulares presentes en el botón terminal de una sinapsis química.

ii) Observe una sinapsis neuro-muscular y una neuro-neuronal. ¿Cuáles son las características comunes y qué diferencias observa?

Parte C: **Análisis de resultados experimentales**

En las siguientes figuras se observan prolongaciones neuronales de células piramidales de la corteza, preparadas mediante la técnica de Golgi, de cerebros *post mortem* humanos. La imagen en la figura **A** proviene de un individuo normal, mientras que las de **B** y **C** son de individuos que sufrían esquizofrenia.



Modificado de Glantz y Lewis, 2000. Barra: 10 µm.

1) ¿Qué tipo de prolongación neuronal se muestra? Indique los elementos estructurales que utilizó para llegar a esta conclusión.

2) ¿Con qué función celular se asocian las prolongaciones observadas en las imágenes?

3) ¿Qué diferencias observa entre los tres pacientes?

Parte D: **Análisis y discusión de resultados experimentales publicados en artículos científicos.** El material será proporcionado por el docente en la clase práctica.