



29
235

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

DESARROLLO MORFOLOGICO PRE Y POSTNATAL
DE LA RETINA EN RATAS ALBINAS

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
JUANA VILLEDA HERNANDEZ

MEXICO, D.F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAGINAS
I.- INTRODUCCION	1
II.- OBJETIVO DEL ESTUDIO	4
III.- CARACTERISTICAS GENERALES DE LA RETINA	5
IV.- DESARROLLO EMBRIOLOGICO DE LA RETINA	7
V.- CARACTERISTICAS DE LAS 10 CAPAS DE LA RETINA.	11
VI.- MATERIAL Y METODO	28
VII.- RESULTADOS	30
VIII.- DISCUSION Y CONCLUSIONES	80
IX.- BIBLIOGRAFIA	84
ANEXOS	88

I. INTRODUCCION

A través del tiempo el hombre ha ido descubriendo poco a poco los misterios de la naturaleza, logrando el conocimiento de las estructuras y funciones de nuestros órganos; El ojo ha sido uno de ellos debido a su importancia, complejidad y funcionamiento. Desde Cajal hasta nuestros días los conocimientos sobre este órgano ha ido en aumento.

En el siglo pasado se comensó su estudio y uno de los primeros investigadores que analizó su estructura microscópica y en forma especial la retina, fué Don Santiago Ramón y Cajal, Cuyos hallazgos publico en su libro intitulado " THE VERTEBRATE RETINA", en donde hace un análisis histológico descriptivo, completo y profundo de las diferentes capas de la retina.

Otros autores como Krause y Schifferdicker, contemporáneos a Cajal, estudiaron la retina haciendo énfasis en los diferentes tipos de células horizontales de los vertebrados y encontraron que tienen dos tamaños; unas son pequeñas aplanadas de forma estrellada que se encuentran por debajo de la capa plexiforme externa, y las células horizontales grandes que tienen prolongaciones cortas y digitiformes ascendentes de expansión nerviosa robusta y horizontal.

Tartuferi y Dogiel (1889), demostraron que las células bipolares poseen dos expansiones somáticas una ascendente y una descendente, la descendente es corta y acaba en distintas alturas de la capa plexiforme interna, mediante un penacho aplanado; estas neuronas también fueron estudiadas por Witkousky en 1971, quien demuestra que hay dos subtipos, uno que hace sinapsis con los bastones y otro que se conecta con los conos.

El termino de células amacrinas fué introducido por Don Santiago Ramón y Cajal. Polyak en 1941-1957, describió que estas células amacrinas se caracterizan por tener numerosas prolongaciones que se extienden sobre amplias áreas de la capa plexiforme interna y que las células ganglionares reciben el impulso nervioso directamente a través de numerosas células bipolares.

Horace y William en 1960, en la retina de conejo estimulaban las células ganglionares iluminando mediante dos ranuras, que simulaban el movimiento, median luego las respuestas registrando la actividad eléctrica cerca del cuerpo de la célula ganglionar y descubrieron que el movimiento aparentemente en sentido nulo instaba, no sólo una carencia de sensibilidad sino que denunciaba una amortiguación activa, o prohibición de una respuesta excitadora. Las células ganglionares reciben y transmiten en forma selectiva la dirección del impulso nervioso.

Dowling y Boycot en 1965, demostraron que las prolongaciones dendríticas de las células amacrinax axónicas continen grandes grupos de vesículas sinápticas.

A principios de los años 70s. científicos de varios laboratorios intentaron registrar el potencial cuantitativo de respuesta de los bastones. Pero los esfuerzos iniciales fracasaron, Porque los bastones reúnen señales, pues se trata de un tipo de unión especializada, las uniones en hendiduras que ponen en conexión los bastones vecinos y permiten que las corrientes eléctricas fluyan libremente por sus interiores. La Hiperpolarización debida a un sólo fotón se distribuye así entre diez o más bastones, haciéndose demasiado pequeño el potencial para detectarlo. Baylor y Trevor en lugar de medir el voltaje midieron la fotocorriente, que es independiente del potencial de membrana y por lo tanto, no le afectan las uniones entre bastones, encontrando que la fotocorriente de un bastón era de 2-3 picoampère (billonesimas de ampere), sin embargo, en los conos el fotón que absorbe una fotocorriente de unos 10 femtoampere (10×10^{-15} ampere), lo que resulta unas 100 veces menor que la respuesta de un bastón. las diferencias de magnitud característica de las respuestas ayudan a comprender porque en el hombre la visión diurna, medida por los conos, es menos sensible que la visión nocturna, medida por los bastones.

Dubin en 1970, realizo estudios de microscopía electronica en humanos, monos, gatos, conejos, perros y ratas, y encontró que la capa plexiforme interna tiene el mismo patrón sináptico, puesto que las células bipolares son células bivalentes y las sinapsis entre las amacrinax y ganglionares forman una banda y hay un contacto sináptico convencional entre amacrinax y bipola-

res. Estos autores estudiaron varios vertebrados y encontraron relativas diferencias cuantitativas entre las diferentes especies.

Leo Sosula en 1970, demostró en estudios también con microscopía electrónica en ratas, que las células amacrinas forman sinapsis convencionales ontobipolares, sinapsis ontodendríticas y somáticas, la incidencia entre sinapsis amacrinas y bipolares es de 8:1 (figura 1).

En la actualidad además de su estudio histológico se tiene estudiada la retina desde varios puntos de vista, fisiológico, anatómico patológico etc. lograndose así un conocimiento más amplio sobre esta estructura. A nosotros nos ha interesado en forma especial su desarrollo embriológico y en las primeras semanas del nacimiento en la rata.

II. OBJETIVO.

El objetivo de este trabajo es estudiar microscópicamente el desarrollo embriológico y evolución que sufre la retina a partir de los 18 días de gestación hasta el estado adulto, para analizar la evolución morfológica y maduración de las neuronas que la forman; mediante la utilización de las técnicas de impregnación argéntoaurícas de la escuela Hispano-Mexicana y las de anilinas con Hematoxilina-Eosina y la Tricrómica de Masson.

Por otra parte con este trabajo se desea contribuir al estudio histoembriológico de la retina en la rata.

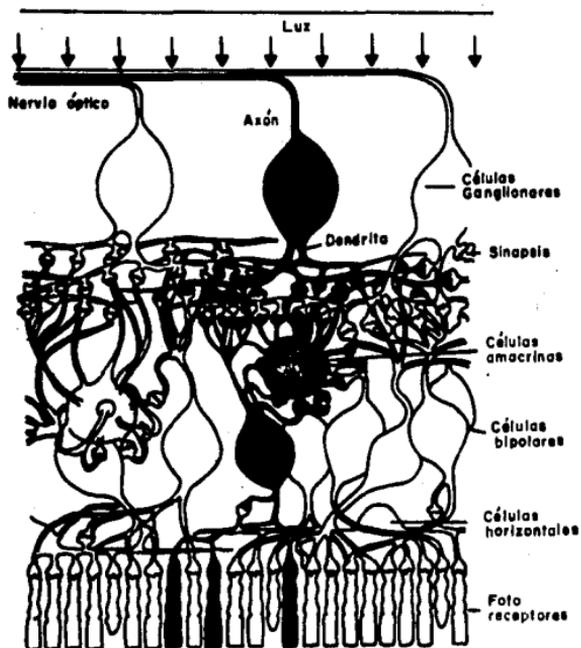
III. CARACTERISTICAS GENERALES DE LA RETINA.

La retina forma parte de la vesícula óptica que es una prolongación del cerebro anterior. Las neuronas que la forman provienen del tejido encefálico del que han migrado durante el desarrollo embrionario; es lógicamente la presencia de neuronas de asociación en la retina, formada por una capa de células que reviste la parte posterior del ojo, que es la que detecta y transmite al cerebro información del entrono visual, no es más gruesa que el filo de una hoja de afeitar y consta de un pequeño número de células agrupadas en escasas capas. (29).

Las células fotorreceptoras se hallan en la capa más externa de la retina, ésta es la primera capa excitada por la luz después que ha atravesado el cuerpo vítreo.

Los fotorreceptores tienen forma parecida a conos y bastones, los axones de estas células se dirigen hacia adelante y establecen sinapsis con dendritas de las células bipolares. Estas últimas si tienen varias dendritas y un axón. Los axones de las células bipolares se dirigen hacia adentro y establecen sinapsis con las células ganglionares, los axones de estas células siguen hacia adentro hasta el borde de la retina, donde cambian de dirección en ángulo recto hacia la salida del nervio óptico, por la parte más interna de la retina paralelamente a su superficie.

La luz exterior que penetra atraviesa el cuerpo vítreo, las dos capas internas de las células nerviosas de la retina así como los propios cuerpos celulares de los fotorreceptores; cuando la luz alcanza los fotorreceptores (conos y bastones), se originan los impulsos nerviosos, estos siguen en dirección inversa hacia adentro, a través de las células bipolares y ganglionares hacia la parte más interna y desde allí siguiendo por los axones de las células ganglionares hasta la salida del nervio óptico (6,11, 15). (figura 1).



1

Figura 1. Los estímulos visuales son recibidos por las células ganglionares. Los fotorreceptores transforman la energía luminosa en señales químicas y eléctricas que atraviesan las células horizontales, bipolares y amacrinas. Los axones de estas células forman el nervio óptico que unen el ojo con el cerebro (Viola 1987).

IV. DESARROLLO EMBRIOLOGICO DE LA RETINA.

En las primeras fases del desarrollo embrionario de la retina se forma como una excrecencia del cerebro anterior. Este es hueco y su pared anterior se hace prominente para constituir la vesícula óptica primaria; la prominencia se estrecha luego al nivel de su origen en el cerebro anterior y la porción constriñida recibe el nombre de pedículo óptico, mientras que el cerebro anterior va progresando hacia adelante para constituir la vesícula óptica; el ectodermo situado inmediatamente por delante se vuelve más grueso para formar el cristalino (figura 2).

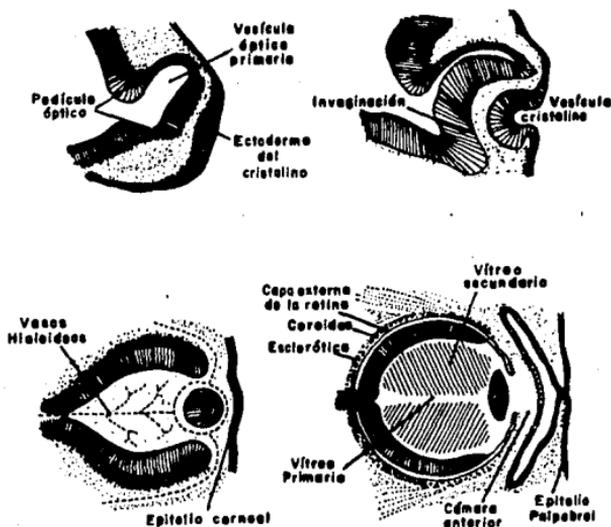


Figura 2. Representación esquemática de cuatro etapas importantes del desarrollo del ojo (Ham. 1975).

La pared anterior de la vesícula óptica se invagina de manera que adquiere forma de copa con dos capas, al mismo tiempo el ectodermo engrosado que se halla por delante de la vesícula óptica, hace prominencia hacia adentro para constituir la vesícula cristalina, la cual posteriormente se separa del ectodermo que dió origen. Al principio es hueca pero las células de su pared posterior se alargan de modo que resulta más gruesa que la anterior, más tarde su cavidad desaparece y las paredes anterior y posterior se unen; en este momento en la vesícula óptica que se ha transformado en una estructura con forma de copa más profunda; (figura 2) su pared anterior se comprime hacia atrás y acaba por constituir la capa interna de dicha copa que se desarrolla para formar la capa nerviosa de la retina y la capa externa de la vesícula pasa a constituir su capa pigmentaria. (9). (figura 2).

La diferenciación de las capas de la retina se inicia en el polo posterior cerca del pedículo óptico. Las células diferenciadas como neuroglíicas descritas por Muller sirven de armazón y suelen encontrarse ya desde las fases jóvenes entre las neuronas (6). El proceso de diferenciación de las células ganglionares comienza a nivel de la capa neuroblástica interna cuyos elementos más profundos aumentan de tamaño y adquieren características definitivas de neuronas, algunas de estas envían ya sus prolongaciones axónicas en dirección al pedículo óptico; tales fibras se acumulan en la vecindad de la superficie externa de la retina neural formando la capa de fibras nerviosas. Muchos de estos axones avanzan por el pedículo óptico y se decusan a nivel de la región basal y rostral del diencéfalo donde forman el esbozo del quiasma óptico. La invasión del pedículo óptico por las fibras axónicas de procedencia ganglionar motiva la transmisión de la luz por el nervio óptico. A nivel del estrato neuroblástico interno existen células que no se diferencian en sentido ganglionar transformándose posteriormente en células amacrinas, que elaboran el GABA (Acido gamma-aminobutírico), importante neurotransmisor. (6,9,11).

Las células del estrato neuroblástico externo se desplazan en dirección hacia los elementos no ganglionares del estrato neuroblástico inter-

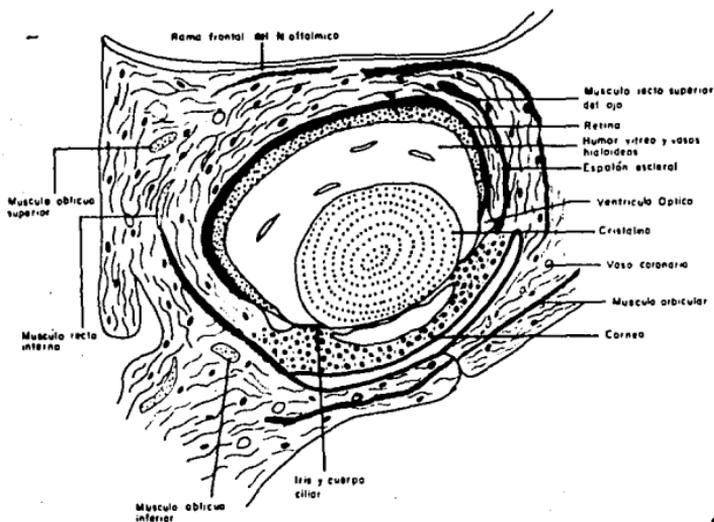
no, con los que se mezclan. Dichas células se diferencian en elementos de forma bipolar y en células horizontales. Debido a ello la zona de chiewitz desaparece, constituyendo la capa nuclear interna en la retina adulta, en cuya formación intervienen, por lo tanto, ambas capas neuroblásticas.

Las restantes células de la capa neuroblástica externa que mide 50 milimicras se diferencian más tardíamente y forma células de los conos y bastones. En una área muy limitada de la retina situada en su mitad temporal, cerca de la papila, hay retraso en su diferenciación respecto al resto de la retina neural. Se trata de la macúla lútea a cuyo nivel los bastones se diferencian, estando las restantes capas con escasas neuronas. Una vez cerrada la fisura embrionaria, los bordes de la cúpula óptica proliferan activamente, creciendo y avanzando en la parte de la cara superficial del cristalino (50 milimicras) la hoja interna crece a dicho nivel más rápidamente que la externa lo que trae como consecuencia que la capa pigmentaria no se forme en la parte del borde cupular y durante bastante tiempo la primitiva vesícula óptica se conserve a dicho nivel.

La citada área de extensión retiniana recibe el nombre de pars ceca retinae, ya que en ella no se diferencia ningún tipo de células nerviosas y forma una línea circular preecuatorial e irregular, más próxima al borde pupilar que al fondo de la pupila, se separa la retina óptica de la porción ciega, dicha línea recibe el nombre de ora serrata (6,9,11,28).

Mientras que la superficie interna de la retina es ciega y es aciento de un activo crecimiento que conduce a la formación del cuerpo ciliar y del iris. (figura 3). En efecto en un área intermedia entre la ora serrata y el borde pupilar, el mesodermo determina la invaginación de ambas hojas retinianas formándose de 70 a 75 pliegues meridionales o procesos ciliares, en cuyo espesor se diferenciarán fibras musculares lisas que en su conjunto constituirán el músculo liso ciliar (figura 3). Los procesos ciliares no llegan a alcanzar distalmente el borde de la cúpula, esta región inmediatamente vecina al área pupilar permanece más o menos lisa y se asocia al mesodermo vecino formando el iris. Derivándose de la cara externa de este último se forman los músculos constrictor y dilatador del iris, los cuales

son por consiguiente de origen ectodérmico (6,11,28). (figura 3).



3

Figura 3. Sección frontal de feto humano de 62 mm. que secciona el globo ocular y anexos del mismo. (Genesis 1970).

V. CARACTERISTICAS DE LAS DIEZ CAPAS DE LA RETINA.

Capa 1 o capa del epitelio pigmentario, está formada por un estrato de células cuboides que tienen cristales de pigmento en su interior. La extremidad externa de estas células es maciza encierra un núcleo y forma un pavimento pentagonal bastante regular, mientras que la retina parece descompuesta en numerosas prolongaciones filiformes granulosas a veces portadoras de granos melánicos los que distribuidos entre conos y bastones forman a los extremos de éstos una atmósfera pigmentaria absorbente de la luz.

El epitelio pigmentario cuboideo consta de una sola capa de células con el núcleo central o basal, generalmente sin nucleolos su ápice está en estrecho contacto con los fotorreceptores y en su base presenta una compleja lámina, la membrana de Brunch, la que es derivada de la membrana basal del epitelio y de los capilares coroideos (14,21,32,). La membrana plasmática de las células epiteliales presentan grandes plegamientos en el extremo basal; en esta región y en la parte apical de la célula se observan vesículas pinocíticas, lo que sugiere transporte de materiales de uno a otro lado de la célula. Estudios hechos con microscopio electrónico han revelado que las paredes de los capilares coroideos poseen numerosas fenestraciones lo que sugiere que existe un transporte de materiales desde la red capilar coroidea a través del epitelio pigmentario hacia los fotorreceptores. Por otra parte hay evidencia de que en el extremo basal de las células pigmentaria existe un material que probablemente es transportado hacia los capilares de la coroidea (14,30,32).

En el extremo apical de la célula epitelial la membrana plasmática desarrolla largas extensiones que se interdigitan con los segmentos externos de los fotorreceptores (14,30), que están en gran parte ocupados por polisacáridos.

Las células epiteliales contienen paquetes de vesículas membranosas aplanadas de función desconocida, llamadas cuerpos mioeloides ricos en lipoproteínas que son características del retículo endoplásmico. (6,14,30).

Las células epiteliales contienen además inclusiones que parecen ser fragmentos de los segmentos externos de los fotorreceptores, englobados probablemente por la parte apical; sin embargo el proceso no ha sido totalmente analizado. También se presentan inclusiones parecidas a lisosomas o áreas de degradación y digestión citoplasmática de estos fragmentos (6,14,32). Los productos finales de digestión son removidos hacia los capilares de la coroides (14), tal proceso es fundamental en la regulación del crecimiento y renovación de los segmentos externos de los fotorreceptores (14,32).

Las células epiteliales contienen en forma de granulos concentrados un pigmento melánico de color negro, llamado fucsina, que esta principalmente en las porciones más internas de las células y en las prolongaciones citoplasmáticas que se entrelazan con los segmentos externos de conos y bastones. El epitelio pigmentario absorbe los rayos luminosos que no activan los fotopigmentos, si el exceso de luz no fuera absorbida, podría reflejarse y activar pigmentos fotorreceptores de otros conos y bastones, entorpeciendo la eficaz resolución. Además, estas células pigmentarias proporcionan apoyo metabólico y funcional por medio del transporte activo de iones para conos y bastones por ejemplo, el epitelio pigmentario puede ser esencial para la sobrevivencia de los fotorreceptores; esto se demuestra por el hecho de que cuando falta o está severamente dañado el epitelio, los conos y los bastones adyacentes se degeneran (3,23).

Capa 2 o capa de conos y bastones, llamada membrana de Jacob, está situada por fuera de la limitante externa y de las expansiones profundas de las células pigmentarias, forma una hilera de elementos alargados rectilíneos y dispuestos como una empalizada. Estos corpúsculos se distinguen por su forma en dos variedades: Los conos y los bastones.

Los bastones son filamentos cilíndricos, de contorno rectilíneo y de una longitud de 60 micras por 2-2 1/2 micras de anchura; están mezclados a los conos e implantados perpendicularmente sobre la limitante externa; consisten de dos segmentos que se distinguen por sus diversas propiedades, el externo y el interno y aunque son continuos substancialmente. El segmento externo es hialino birrefringente y coloreable en negro por el ácido ósmico,

tiene ciertos canales delgados longitudinales que le prestan a lo largo aspecto estriado, este segmento contiene la mayor parte del aparato molecular de detección de la luz y del inicio del impulso nervioso (figura 4); el interno es más grueso, algo abultado en su región, central tiene aspecto granuloso, es colorable con carmín e incolorable con ácido ósmico, esta especializado en generar energía y renovar las moléculas necesarias para el segmento externo; además en este último se encuentra una terminal sináptica que proporciona la base de la comunicación con otras células. Los discos apilados contienen mayor parte de las moléculas proteínicas que absorben la luz e inician la respuesta de excitación (29).

Los conos son más cortos que los bastones y menos numerosos que estos excepto en la foseta central donde se encuentran de un modo exclusivo, son cilindros gruesos con una forma que puede compararse a la de una botella, también poseen dos segmentos de propiedades análogas a las de los bastones, solo que el interno corresponde a la parte más gruesa que encierra un corpúsculo elipsoideo mucho más robusto (19). (figura 4).

Los fotorreceptores reciben la luz y la absorben a través de una masa de pigmentos densamente agrupados, este proceso altera las moléculas y se desencadena una compleja secuencia de eventos intracelulares que transforman la señal luminosa, la desplazan desde el extremo de la célula hasta el otro lado y de aquí pasa a las neuronas bipolares u horizontales.

Los conos y los bastones son células alargadas polarizadas y segmentadas en subregiones con diferente papel funcional. Los bastones son más alargados en la parte central de la retina.

Cada fotorreceptor esta formado por cuatro estructuras, una estructura conectora, un segmento externo, un segmento interno, una fibra con cuerpo celular y su base sináptica. (3,13,23,32).(Figura 4).

El segmento interno de un bastón es una estructura cilíndrica alargada en tanto que el de un cono es relativamente corto, conico afilado; cada segmento externo constituye una pila formada por cientos de discos membranosos (sacos), orientados en ángulo recto en relación al eje longitudinal de la célula, todos los discos en un cono mantienen su continuidad con la membrana celular, pero sólo algunas porciones del baston lo hacen, los

sacos estan constituidos de capas transversas alternantes de lípidos y proteínas. Los lípidos (fosfolípidos) forman películas arregladas longitudinalmente, mientras que las proteínas estan orientadas transversalmente son de tipo estructurales e incluyen a la opsina, la cual presenta la proteína del pigmento visual, esta opsina es una proteína capaz de desempeñar funciones enzimáticas. La opsina está constituida por 348 aminoácidos se encuentra embebida en la membrana del disco, su espectro de radiaciones absorbe con una longitud de onda de 380 nanómetros.

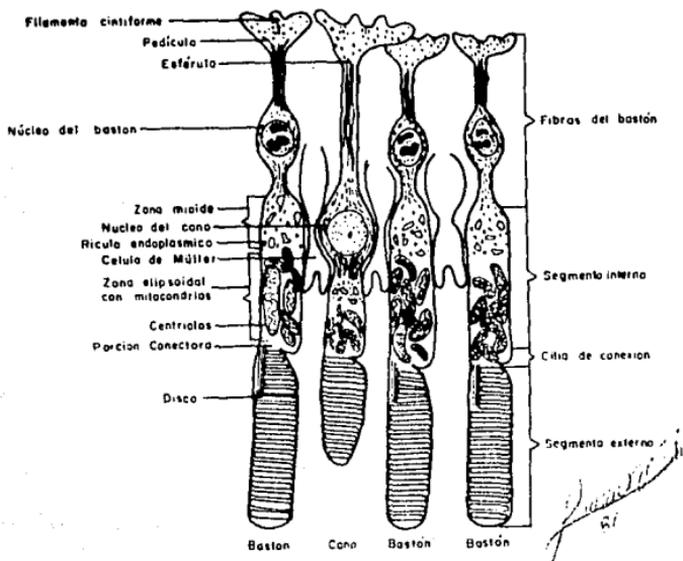


Figura 4. Representación esquemática de los componentes ultraestructurales de los conos y los bastones.

La absorción de un fotón por parte del 11-cis retinal desencadena la actividad enzimática de la ópsina y pone en movimiento la cascada bioquímica.

Cuando un fotón incide en la retina, la rodopsina que lo recibe informa el hecho con gran eficacia, mientras que los restantes millones de moléculas de rodopsina de la célula permanecen en silencio.

El estrecho tallo que conecta los segmentos externo e interno del fotorreceptor es un puente citoplasmático que encierra un cilio que se extiende desde un cuerpo basal complejo situado en el vértice del segmento externo, hasta el segmento interno, de hecho cada segmento externo debe considerarse como una porción modificada (punta o flecha) de un cilio especializado (3,13,23,32)(figura 4).

El segmento interno se divide en una porción externa llamada zona elipsoide y una interna que recibe el nombre de zona mioide, la porción externa está llena de mitocondrias en tanto que la interna contiene el complejo de Golgi y un extenso retículo endoplásmico de este último segmento, que constituye el centrometabólico de la célula y son los que sintetizan las nuevas proteínas conducidas a través de la estructura conectora hasta la base del segmento externo donde se forman los discos de doble membrana de dicho segmento. Los nuevos discos de los conos se forman continuamente a nivel de la porción conectora mediante plegamientos sucesivos de la membrana celular y las moléculas del pigmento visual se incorporan orientadas regularmente y alineadas con toda precisión en la cavidad de los pliegues membranosos. Los discos se desplazan hacia la capa coroidea a medida que se añaden nuevos discos, así estas estructuras pierden su continuidad y su adhesión a la membrana celular convirtiéndose en sacos membranosos cerrados. Generalmente estos discos alcanzan la extremidad del segmento donde son expulsados e incorporados por las células pigmentarias (figura 4.).

En el caso de los conos las proteínas recién sintetizadas en el segmento externo y se incorporan en todos los discos del cono.

En la oscuridad y durante el sueño los conos y los bastones presentan una elevada concentración de monofosfato cíclico de guanosina, que unen a los poros de la membrana superficial y los abre permitiendo la en-

trada de iones sodio, a la luz cae la concentración de monofosfato cíclico de guanosina, la que abandona las zonas de unión y los poros se cierran. En consecuencia la permeabilidad de la membrana a los átomos de sodio disminuye con la luz y la membrana se hiperpolariza (3,13,23,32).

Cuando la rodopsina absorbe un fotón de luz cambia la configuración de la proteína que forma parte de las moléculas que se activan enzimáticamente como demostraron posteriormente Lubert, Strayer y sus discípulos de Stanford en 1980. La rodopsina activa catalíticamente muchas moléculas de la proteína que llamaron transducina, ésta activa a una enzima que parte del monofosfato cíclico de guanosina, está bloquea la entrada de un millón de iones sodio. (23).

El monofosfato cíclico de guanosina controla el transporte de iones a través de la membrana superficial del segmento externo de un bastón, y la unión de tres o más moléculas de monofosfato cíclico de guanosina desencadena la apertura de un poro, o sea que los poros se comportan como interruptores moleculares de gran eficacia (23).

Los conos y los bastones responden a cierta cantidad de energía radiante y de determinada longitud de onda. Los rayos luminosos que no reaccionan con los fotopigmentos son absorbidos por el pigmento del epitelio de la retina y transformados por macrófagos pasan a la capa coroidea. Las actividades funcionales de los fotorreceptores se dividen en transducción y génesis del potencial generador. La transducción consiste en reacciones fotoquímicas que tiene lugar en los discos membranosos de los segmentos externos de conos y bastones. En la visión la única acción de la luz es hacer al retinaldehído cromatóforo de 11-cis a trans, después de que ésta etapa se ha llevado a cabo los siguientes pasos químicos pueden tener lugar en la oscuridad total, un cuanto de luz proporciona la energía suficiente para iniciar la reacción en una molécula de pigmento visual.(3,13,23,32).

Los bastones son sensores para la luz y la percepción subjetiva de negro, gris y blanco, responden a todas las radiaciones del espectro visual y aún las de la banda ultravioleta, a diferencia de los conos, los bastones no reaccionan selectivamente a diferentes longitudes de onda, el hom-

desconoce las experiencias con los rayos ultravioleta debido a que estas longitudes de onda son absorbidos por el cristalino, la luz ultravioleta puede activar los fotopigmentos de los bastones en un paciente a quien se le ha extirpado el lente por la presencia de cataratas.

La visión del color depende de la actividad receptora de tres tipos de conos y del procesamiento dentro del sistema nervioso central. En cierto sentido los pasos químicos desencadenados por las ondas luminosas en los fotopigmentos son responsables de la génesis del potencial receptor (generador) en los bastones y conos. Los potenciales resultantes inducen cambios en las membranas plasmáticas de los cuerpos sinápticos y de otras sinapsis asociadas con cuerpos sinápticos que sean depolarizados; a su vez liberan neurotransmisores de los fotorreceptores para estimular a la membrana postsináptica de las células bipolares y horizontales. Las cintas sinápticas se consideran circuitos de retroalimentación. Los bastones, las células bipolares y amacrinas responden a la estimulación con potenciales bajos graduados. Estas células muestran diversos grados de depolarización e hiperpolarización; carecen de potenciales de acción del tipo todo o nada (3,16,23).

Un fotón que absorba un cono produce una fotocorriente de 100 veces menor que la respuesta cuántica de un bastón, la diferencia de magnitud característica de las respuestas ayuda a comprender por qué en el hombre la visión diurna mediada por los conos es menos sensible que la visión nocturna mediada por los bastones. Por el contrario, la respuesta cuántica de un cono resulta unas cuatro veces más rápidas que la de los bastones que tardan 300 milisegundos en informar de la absorción de un fotón. Los conos por su mayor velocidad de respuesta, están más capacitadas para codificar estímulos visuales, presentan variaciones rápidas, esto permite que el sistema visual detecte cambios de intensidad o movimiento rápido de objetos (23).

La sensibilidad aumenta notablemente a niveles bajos de iluminación porque se commuta la visión por conos a la de los bastones. Por ejemplo la ceguera que sufrimos al entrar en una habitación debilmente iluminada es fruto de la escasa sensibilidad del sistema de los conos, paulatinamente el sistema de los bastones incrementa su sensibilidad y conforme asume su pa-

pel principal los objetos van haciéndose visibles, incluso en la visión estrictamente de bastones, la sensibilidad aumenta conforme disminuye el nivel de luz de fondo y la sensibilidad disminuye conforme aumenta la intensidad de las luces de fondo, la pérdida de la sensibilidad se explica por un simple mecanismo de saturación. Con el aumento de la intensidad de fondo, se van cerrando los canales de sodio de la membrana superficial y de este modo se va restringiendo el número de canales que puede cerrar el destello de luz (3,23).

Cada tipo de cono es sensible a la luz en un rango de longitudes de onda; las sensibilidades de los tres grupos se solapan considerablemente. Sin embargo, la distribución de los pigmentos en los conos apropiados parece muy estricta; las moléculas de pigmento de tipo rojo-verde de un cono, y de tipo azul no superan la proporción de una por cada 100,000 moléculas (23).

La respuesta de un cono no depende de la longitud de onda de un fotón que absorbe; los estímulos que se absorben del mismo modo desencadenan respuestas idénticas, sin embargo el sistema visual es capaz de deducir el color a partir de la longitud de onda tomando nota de la proporción en que se excitan los tres tipos distintos de conos. La percepción del color a longitudes de onda larga viene determinada exclusivamente por la absorción relativa de los conos rojos y verdes conforme aumenta la longitud de onda hasta los 600 nanómetros, el color que se percibe va pasando del naranja a un rojo progresivamente más oscuro. Por encima de los 700 nanómetros esa progresión se invierte y el color se torna anaranjado (23).

La luz estacionaria, que activa simultáneamente los receptores de activación e inhibición, provoca más excitación que la luz que avanza en sentido nulo, en que las señales de inhibición salen con ventajas. Cuando la estimulación sináptica abre los canales de iones cercanos a la sinapsis de la célula entran y salen iones, perturbándose el potencial de reposo en esa zona. Si el potencial se hace más positivo, se dice que la célula se depolariza; se hiperpolariza cuando gana cargas negativas. Ese potencial recién generado viaja hasta el cuerpo celular, disminuyendo conforme se propaga, si la depolarización que alcanza el cuerpo celular es

suficientemente pronunciada, inducirá un potencial de acción, por lo tanto la estimulación despolarizante lo es de excitación, y el cambio del potencial se denomina potencial postsináptico de excitación. La estimulación de inhibición, que en la mayoría de los casos es hiperpolarizante, genera un potencial postsináptico de inhibición.

Unas sinapsis transmiten señales de excitación y otras de inhibición según el canal iónico que regulen, la entrada de iones positivos de sodio provoca la depolarización de la neurona, y de ahí que la sinapsis que controlan los canales de sodio, sean de excitación.

Por su parte el potasio, que también porta cargas positivas, la salida de los iones provoca la hiperpolarización de la célula por lo que - las sinapsis controlan canales de potasio son de inhibición. Una neurona puede experimentar simultáneamente varias señales de excitación e inhibición (3,13,23,29,32).

Capa 3 o membrana limitante externa. Es una cutícula recta, finísima formada por la unión de las chapas que presentan exteriormente las fibras de Muller; ésta capa esta acribillada de agujeros para el paso de las prolongaciones profundas de los conos y bastones (19). La membrana limitante externa es una membrana a modo de criba compuesta de las prolongaciones internas de lo que se denominan fibras de Muller, se trata de elementos neuróglícos de la retina; las células de las cuales provienen estas fibras se hallan en la misma capa de las células bipolares, según veremos luego. Las terminaciones dendríticas de los fotorreceptores se extienden atravesando los huecos que quedan en la capa plexiforme externa de aspecto criboso y quedan sostenidos por ellas (9). (figura 5).

Se encuentra situada a nivel del extremo basal del segmento interno de los fotorreceptores y permite el paso selectivo de sustancias y de corrientes eléctricas.

Capa 4 o capa nuclear externa, está formada por los receptores, llamados también granos externos, representan la prolongación protoplásmatica profunda de conos y bastones, el cuerpo del cono está cerca de la limitante poseyendo un núcleo grueso ovoide; por abajo del protoplásmo se continúa en fibra recta, la cual al llegar a la zona plexiforme externa

experimenta una dilatación cónica (pie de cono) de cuyo contorno bacilar emergen fibrillas horizontales libremente terminadas (9,15,16).

El cuerpo del bastón reside a distintas alturas, encierra un núcleo ovoide de menor tamaño que el del cono cuya cromatina homogénea está dispuesta en zonas transversales alternadas con cajas acromáticas, siendo los cuerpos de los bastones más numerosos que los de los conos se ven más obligadas a constituir muchas hileras las cuales son tanto más abundantes cuanto más finos se muestran los bastoncitos. El protoplasma se estira en dos fibras, ascendentes y descendentes. La expansión ascendente, fina y varicosa se continúa con un bastoncito; mientras que la descendente también delicada va hasta la zona plexiforme externa, donde acaba mediante una esferita completamente libre y extensa de ramillas (18) (figura 5).

Usualmente tiene uno ó más nucléolos, el núcleo puede encontrarse a distintos niveles en la fibra del fotorreceptor y alrededor de él corren neurofibrillas que se continúan dentro de la fibra, terminando el cuerpo sináptico, el núcleo contiene además cantidades considerables de glucógeno (31). En general el núcleo de los conos suele ser más tenue y mayor que el de los bastones (30).

Capa 5 o capa plexiforme externa. Es el punto de entrecruzamiento de numerosas expansiones protoplásmicas de las células de la capa subyacente (granos internos); así como de muchas fibrillas bacilares procedentes de los pies de los conos, esta zona debe dividirse en dos pisos; superior e inferior cada uno de ellos es pareja de empalme de una categoría superior particular de células nerviosas. El piso superior de reunión y contacto de las esférulas terminales de los bastones y de los penachos ascendentes de ciertas bipolares (bipolares para bastón). El piso inferior es el punto de aglomeración y contacto de los pies y fibrillas bacilares de los conos por un lado y las expansiones superiores aplanadas de ciertas bipolares de otro lado (bipolares para cono) (19). La capa plexiforme externa suele ser muy delgada y contiene las terminales de los fotorreceptores de las células bipolares y horizontales incluyendo sus conexiones sinápticas (24).

Se han reportado numerosos contactos sinápticos entre los fotorrecep-

nocidas regularmente después de los trabajos de Tartuferi y Dogiel, y los de Cajal (19), en mamíferos; estas células forman dos variedades; Células pequeñas o externas y células horizontales grandes o internas, las células pequeñas o externas, son estrelladas y están inmediatamente debajo de la zona plexiforme externa; de su citoplasma periférico, brotan numerosas expansiones divergentes ramificadas que constituyen las dendritas, su cilindro eje es fino se dirige horizontalmente a la zona referida y a distancia variable acaba descomponiéndose en algunas ramitas terminales, en su trayecto emiten numerosas colaterales ramificadas y libres. Las células Horizontales grandes están por lo general en un plano más interno de su robustez por sus expansiones protoplasmicas más espesas horizontales que acaban cercanamente en forma de ramitas cortas, digitiformes y ascendentes. La expansión nerviosa es robusta y horizontal fue vista por Tartuferi y Dogiel quienes las han teñido recientemente con azul de metileno y suponen que tras un curso horizontal variable descienden bruscamente a través de las capas retinianas para continuarse con una fibra del nervio óptico (5, 6, 19,) (figura 5).

Estas células se interconectan con grupos de fotorreceptores a través de sus prolongaciones y se localizan superficialmente en la capa externa y según la evidencia proporcionada por Boycot y Col. (1969), sus terminales dendríticas se conectan sólo con los conos mientras que las terminales axónicas lo hacen con los bastones (24). Algunos investigadores las han considerado como células gliales especializadas puesto que poseen gránulos de glúcogeno y les falta en cambio la sustancia de Nişsl y el aparato de Golgi típicos de las neuronas, aunque la mayoría de los autores modernos las consideran como neuronas, tomando como base sus contactos sinápticos (3), y la elaboración de actil colina (24).

Células bipolares. Como han demostrado Tartuferi y Dogiel (1973), estas células son fusiformes y poseen dos expansiones; ascendente y descendente, la descendente es siempre única y acaba a distintas alturas de la zona plexiforme interna por un penacho aplanado; la ascendente es a menudo múltiple y forma una abundante ramificación que se dispone en el piso inferior de la zona plexiforme externa, tanto el penacho formado por la expansión ascendente como el constituido por la descendente acaban en ra-

mitas varicosas y libres. Las células bipolares no son todas iguales existiendo entre ellas notables diferencias de forma y magnitud, las principales variedades son células de penacho ascendente fino, terminando libremente entre esferitas de los bastones. Como éstas se alojan precisamente entre las fibrillas de dicho penacho, hasta ellas no llegan las expansiones de otros elementos (1,2,3) (figura 5).

Las células bipolares de penacho aplanado, ramificado en el piso segundo están en la capa plexiforme externa, paraja donde se dilatan las fibrillas bacilares de los conos; esta coincidencia de posición nos ha hecho calificar dichas células de bipolares para conos, porque dada la disposición de su penacho externo, sólo con estos pueden conectarse.

El penacho inferior de todas, o al menos de la mayor parte de las bipolares para bastones, se aplica al cuerpo de las células de la capa ganglionar, mientras que el penacho descendente de las bipolares para conos se termina sobre uno, cualquiera de los pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna. (19).

Las células bipolares son numerosas, intermedias o internunciales de la retina que reciben el impulso de los conos o los bastones y lo transmiten a las células ganglionares y otras neuronas, como las amacrinas (1,24,30), son las más pequeñas de la retina sus axones son los más cortos y su área de extensión la menor (1). El cuerpo celular es oval y puede observarse a distintos niveles de la capa nuclear interna, el núcleo es elipsoidal, localizado excéntricamente y usualmente presenta uno o dos nucléolos; cerca del núcleo sale el axón el cual termina en una expansión en forma de un botón llamado telodendrón. El polo más estrecho del cuerpo celular termina en punta y forma un tronco que se divide para dar muchas ramas dendríticas, las que se ramifican aún más formando ramitas que viajan a lo largo de la capa plexiforme interna (1,11).

Las células bipolares se diferencian en dos subtipos uno conectado con conos y el otro con bastones, estas células muestran gran variedad en cuanto a tamaño extensión y estratificación de las ramificaciones (24).

Las células amacrinas. Están localizadas a lo largo del borde interno de la capa nuclear interna y conectan grupos de células ganglionares (30), se caracterizan por numerosas prolongaciones que se extienden sobre áreas

amplias dentro de la capa plexiforme interna. El término amacrinas fue introducido por Ramón y Cajal para denotar células que aparentemente células que aparentemente no poseen axón, pero estudios posteriores (24) han demostrado las prolongaciones axónicas de las células amacrinas que tienen grandes grupos de vesículas sinápticas, su cuerpo celular tiene forma de urna y es mayor que el de las células bipolares (1,24) el núcleo es excéntrico y redondeado y el citoplasma es más abundante que el de las células bipolares y gliales vecinas (1) (figura 5). Existen varios subtipos de células amacrinas dependiendo de su localización, del tamaño celular, el grosor, la extensión, densidad y estratificación de sus prolongaciones en la capa plexiforme interna (4). Existe una semejanza entre los patrones de ramificación y de los de las células ganglionares (24).

Células de Muller. Estas células de estirpe neuroglíca (18) se extienden en el espesor de toda la retina y tienen la función de sostener y nutrir a las neuronas, especialmente a los fotorreceptores, además separan y aíslan a los cuerpos neuronales y a sus prolongaciones para evitar la intercomunicación horizontal de las señales en las capas nucleares; todas las extensiones de las células de Muller son muy gruesas. En todas las capas plexiformes las prolongaciones de estas células faltan o son muy delgadas para permitir la transmisión de señales. En la capa de las células ganglionares sus prolongaciones son cortas, gruesas e irregulares, y más allá de sus pies terminales se bifurcan para dar paso a un paquete de fibras neuroglícas ópticas. Las retinas de todos los vertebrados contienen células de Muller muy semejantes (17), su núcleo es oval (1,30), es menos especializado que el de las neuronas y sus organelos más dispersos. En algunos casos se ha observado un cilio en estas células (1,29).

Capa 7 o capa plexiforme interna. Es aquella en la cual los axones de las células bipolares y amacrinas establecen sinápsis con dendritas de las células ganglionares y se apoyan en las prolongaciones de las células de Muller. En esta capa se encuentran fibras centrifugas exógenas a la retina (1,5,10,18,24), que corren formando el nervio óptico desde el cerebro hasta alcanzar las capas internas de la retina (5,18,24,25) (figura 5).

Capa 8 o capa de células ganglionares. Es la capa que contiene células de este nombre con algunos elementos de neuroglía además de vasos san-

guíneos retinianos. Estas células son multipolares, forman la capa más interna (24) y se les considera como neuronas típicas, sus dendritas se extienden en la capa plexiforme, en donde hacen numerosos contactos sinápticos (4). Las células ganglionares colectan información de una gran área y existen muchas variedades según el tamaño del cuerpo celular, la extensión de las arborizaciones dendríticas y el nivel o estrato que ocupan éstas en la capa plexiforme interna; así, existen células ganglionares gigantes de tamaño intermedio, estratificadas y poliestratificadas (24). De acuerdo a Polyak en 1941, todas estas células reciben el impulso visual a través de numerosas células bipolares (4), también existen otras células ganglionares que colectan información de un área quizás de una sola célula bipolar, llamadas células ganglionares pequeñas que se encuentran en y cerca de la fovea de los primates (4,24), su cuerpo celular es de 12-15 milimicras y de él se origina un sólo tronco dendrítico, en virtud de su localización en la fovea y su extensión restringida estas células que proporcionan la mayor agudeza visual (24). Por otra parte es notable el hecho de que las terminales axónicas de las células bipolares concuerden casi exactamente en tamaño con las terminales dendríticas de los pedículos de los conos. Esto hizo suponer a Polyak en 1941 que existe una ruta directa privada en la parte central de la retina que transmite la información desde un cono hasta una célula ganglionar pequeña y de aquí hasta el cerebro, esto no quiere decir que una célula ganglionar pequeña este influenciada por un sólo cono, puesto que las células horizontales y amacrinas llevan a cabo conexiones laterales y de esta manera muchos fotorreceptores pueden afectar a cualquier célula ganglionar pequeña (4).

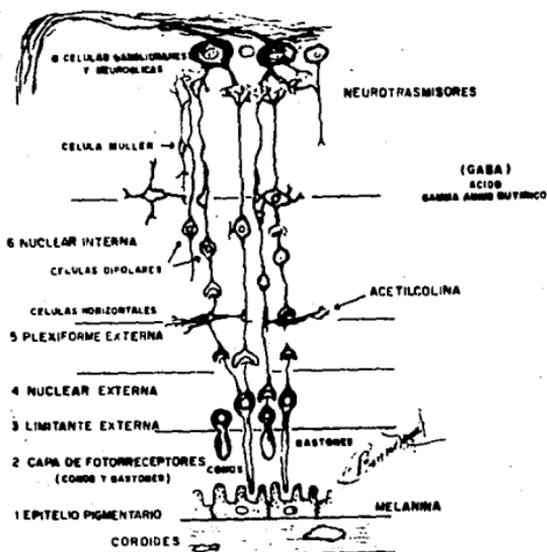
Las células ganglionares, son las más alejadas de los conos y bastones, estos últimos convierten la luz percibida en señales eléctricas.

Estas neuronas distinguen la dirección y se les denomina neuronas selectivas de dirección, están especializadas en reconocer el movimiento en un sólo sentido preferente, lo que exige una vigorosa respuesta generando potenciales de acción, mientras que la célula no se inmota ante el movimiento en sentido contrario o nulo porque la respuesta resulta mucho más débil.

Los fotorreceptores están relacionados con las células selectivas de dirección; se ordenan de tal manera que los estímulos que se mueven en sen-

tido preferente activan las células excitadoras antes de llegar a las inhibitoras. Por lo tanto, el movimiento en dirección preferente a los impulsos excitadores les sigue un tren de impulsos inhibitoras, ese retraso se debe a las señales de inhibición. Las veloces excitaciones atraviezan las capas de células nerviosas retinianas y se dirigen hacia el cuerpo de la célula ganglionar de donde parten potenciales de acción. Debido a este re-

RETINA



5

Figura 5. representación esquemática de los componentes celulares de la retina.

traso, las señales de inhibición llegan demasiado tarde para amortiguar a las de excitación. Si por el contrario el movimiento es el sentido nulo, se activan primero los receptores; sin embargo las señales de excitación más veloces dan alcance a las señales de inhibición anulándose mutuamente al interceptarse (17,26,29).

Capa 9 o capa de fibras nerviosas. Esta formada por axones de las células ganglionares; estos después de alcanzar la capa más interna, cambian de dirección formando ángulo recto para seguir paralelamente a su superficie interna hasta aclanzar la salida del nervio óptico. Son transparentes, no poseen vainas de mielina ni células de Schwann. Esta capa también hay células de tipo estrelladas. provienen de las ramas internas de las capas de Muller, de los vasos sanguíneos.

Las fibras nerviosas siguen su curso radiado (24), forman paquetes de fibras que constan de dos o tres axones gruesos y un número variable de delgados; juntos constituyen el nervio óptico (18,24).

Por otra parte el nervio óptico de todos los vertebrados y quizás también la capa de las fibras ópticas, contienen células de neroglifa en forma de araña que como las células de Muller, aíslan a las fibras previniendo la comunicación lateral entre ellas (18)(figura 5).

Capa 10 o membrana limitante interna. Esta constituida exclusivamente por la reunión en la membrana continúa de los extremos internos de las fibras de Muller y es una cutícula hialina y correctamente contorneada cuya área interna es libre, mientras que la externa recibe el cono terminal de las fibras.

La interna es continúa con fibras delgadas bañadas con el humor vítreo y la externa está formada por las extremidades aplanadas de los procesos de las células de Muller (27)(figura 5).

VI. MATERIAL Y METODO

Se utilizaron 15 ratas albinas, adultas de 50 días de edad, cepa wistar, 10 hembras y 5 machos normales con peso promedio de 250 gr., obtenidas del bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de la Secretaría de Salud. Permanecieron en cajas especiales de policarbonato con tapas de filtro de alambre a temperatura ambiente entre 21 y 22 °C, con una humedad relativa de 50% y un ciclo de 12 horas de luz-obscuridad, se les administró alimento y agua ad libitum.

Se formaron dos lotes, el lote A con 10 hembras y el lote B con 5 machos; las hembras se colocaron dos por cada jaula y los machos estuvieron 3 en una jaula y dos en otra. se dejaron en estas condiciones para que tuvieran buen espacio. Se aparearon por dos días, un macho por cada dos hembras, se hizo frotis vaginal a estas para tener seguridad del inicio de la gestación.

A cuatro de las ratas hembras se les vigiló la gestación, dos de ellas se sacrificaron cuando cumplieron 18 días de gestación, las otras dos se sacrificaron a los 21 días de gestación, a todas sus crías se les extrajeron los ojos que se fijaron de inmediato en formol al 10 % durante 15 días.

De las 6 hembras restantes, terminada su gestación se sacrificaron sus crías en las diferentes edades como se muestra en la tabla siguiente que se explica a continuación.

SEMANA DE GESTACION	SEMANAS DESPUES DEL NACIMIENTO			
	I	II	III	IV
18	1	9	15	25
21	3	11	17	30
	5	13	19	35
	7		21	

1

Las crías se sacrificaron a diferentes edades (tres de cada edad) También se les extrajeron los ojos que se fijaron en una solución de formalina al 10 % por un promedio de 15 días y se procedió a la inclusión en parafina (tabla 1), (Anexo 1).

Se realizaron las siguientes técnicas histológicas:

- La técnica de Hematxilina y Eosina (Anexo 2)
- La tricrómica de Masson (anexo 3)
- La doble impregnación de Río-Hortega modificada por nosotros para inclusión en parafina. (anexo 4).

VII. RESULTADOS

A los 18 días de gestación. (figuras 6-12) se encuentran dos capas sin diferenciación. La primera la observamos en la parte externa y está formada por células epiteliales que contienen el pigmento melánico, y se le llama epitelio pigmentario.

La segunda es una capa de neuronas donde no hay diferenciación; pero si hay emigración, podemos ver en la parte externa varias mitosis, estas células al madurar formarán la capa de los fotorreceptores

La retina se encuentra pegada al cristalino, en medio de ambos existen muchos vasos capilares, todavía no se forma el humor vítreo. El cristalino aún no transparente presenta muchos núcleos en toda la superficie.

Figura. 6 Vista panorámica de la retina(R) de rata con el cristalino (C) y la retina unidos. No hay humor vítreo que los separe.
18 días de gestación, Método de Rio-Hortega variante en parafina 15 X. (ESQ.1)

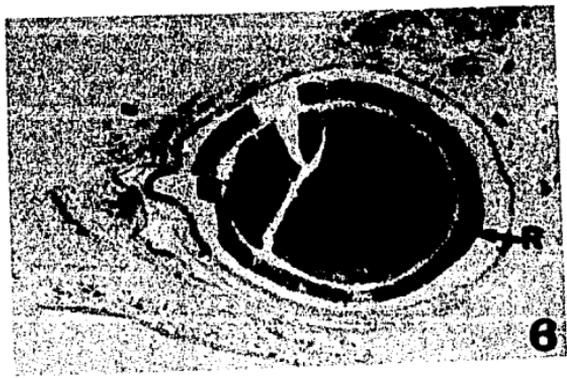


Figura 7. Se observa la retina (R), con vasos capilares (Cv) y el cristalino (C) nucleado. (18 días de gestación). Método de Rio-Hortega variante en parafina 80 X.

Figura 8. A mayor aumento de un campo de la figura anterior con los vasos capilares y los nucleos del cristalino. (18 días de gestación) Método de Rio-Hortega variante en parafina 100 X. (ESQ.1)

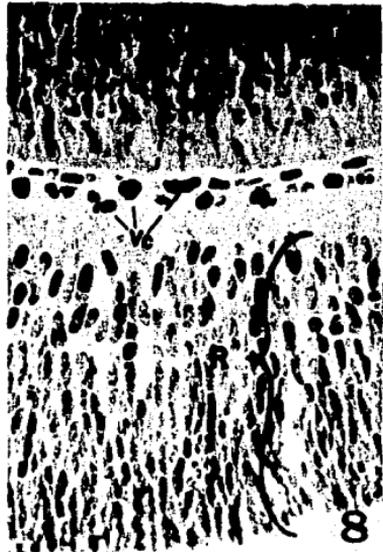
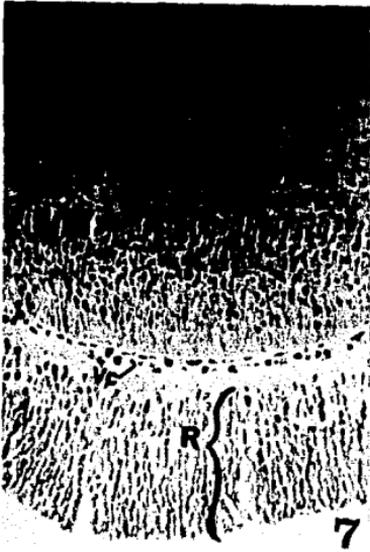


figura. 9 Un detalle de la capa neuronal de la retina (R). en el borde externo se ven las células muy indiferenciadas y en mitosis.(M) (18 días de gestación). Método de Rio-Hortega variante en parafina 100 X.

Figura. 10 Retina (R) donde se observan conos y bastones poco diferenciados mitosis (CB)(M) y neurofilamentos (Nf). (18 días de gestación). Método de Rio-Hortega variante en parafina 500X. (ESQ.1)

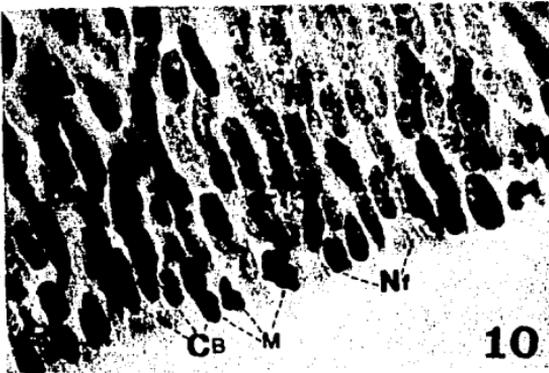
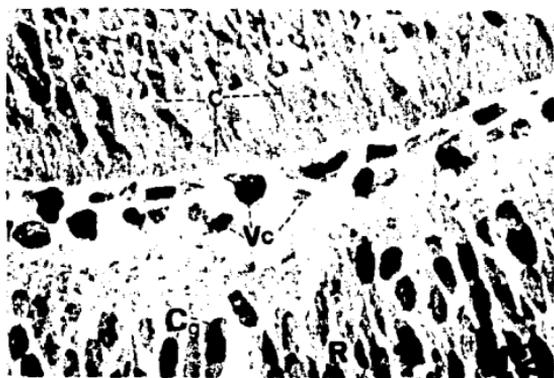


Figura. 11 A mayor aumento observamos la emigración de las neuronas indiferenciadas (R) que formaran las distintas capas de la retina. (18 días de gestación). Método de Río-Hortega variante en parafina 200X.

Figura. 12 Microfotografía a gran aumento mostrando la emigración de las células ganglionares en diferenciación (Cg), y con mayor detalle los vasos capilares y las células del cristalino (C). (18 días de gestación). Método de Río-Hortega variante en parafina, 18 días de gestación 200X. (ESQ.1)

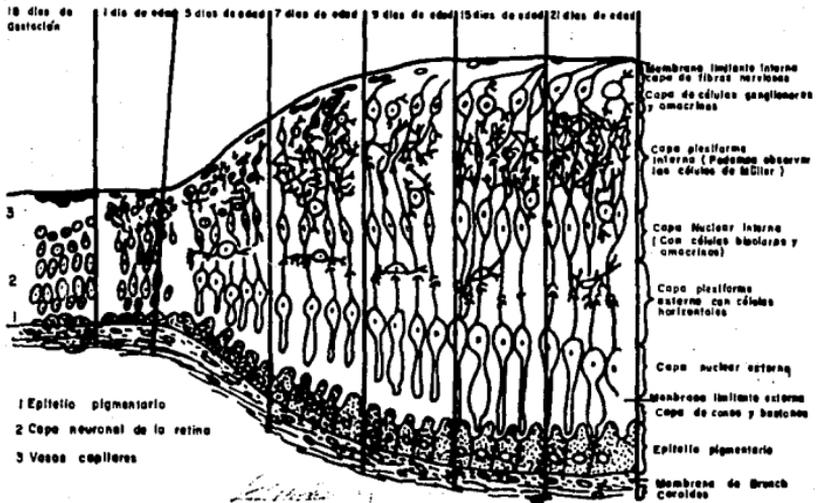


21 días de gestación (figuras 13,14), la capa neural empieza a diferenciarse, las primeras células en emigrar son ganglionares y las amacrinas, en diferentes niveles. Al ir madurando éstas, sus pequeñas prolongaciones van formando la capa plexiforme interna.

Las células bipolares no se han diferenciado de la masa neural donde también hay células amacrinas; los fotorreceptores se encuentran aún en división.

Hay muchos vasos capilares entre la retina y el cristalino, pero en esta etapa ya no están unidos porque se ha iniciado la formación del humor vítreo.

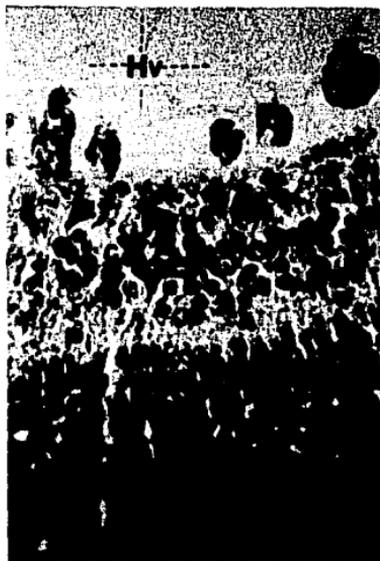
**EVOLUCION DEL DESARROLLO DE LA RETINA DESDE
3 días antes del nacimiento hasta los 21 días de edad**



ESQUEMA 1

Figura. 13 Vista panorámica de la retina (C) separada del cristalino (C) y presencia del humor vítreo.(Hv) (21 días de gestación). Método de Hematoxilina-Eosina, 20 X.

Figura. 14 Se observa un detalle de la retina con las células ganglionares separadas de la capa neuronal (Cn), se inicia la formación de la capa plexiforme interna (Pi), y el Humor vítreo (Hv), (21 días de gestación), Método de Hematoxilina-Eosina 150X. (ESQ.1)



1 día de edad (figuras 15-17), las células ganglionares se ven en diferentes niveles, aún no hay diferenciación entre éstas y las células amacrinas. El espesor de la capa plexiforme interna no muestr ningún cambio.

La capa nuclear interna empieza a diferenciarse, aunque aún no se diferencian las células bipolares de las amacrinas, pero ya se nota la emigración de ellas para la formación de esta capa.

La capa de los fotorreceptores se ve igual que en la edad anterior, aún se observan las mitosis tanto en los conos como en los bastones. Todavía no hay crecimiento de las prolongaciones de estos. La cámara vítrea es cada vez más grande. El cristalino todavía tiene núcleos en toda la superficie.

Figura. 15 Vista panorámica de la retina donde se ve la esclerótica (E), Coroides (C*), Epitelio pigmentario (Ep), capa neuronal en maduración, Vasos capilares (Vc), humor vítrio (Hv), y el cristalino (C). (1 día de edad). Método de Masson 20X.

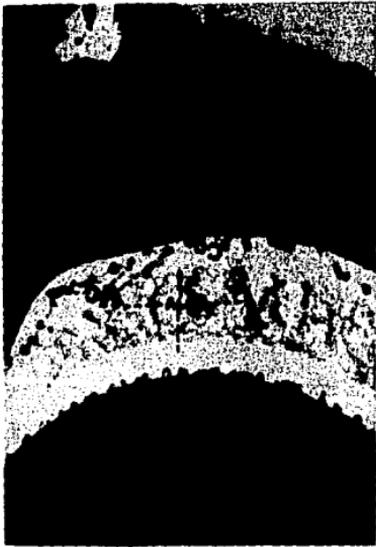
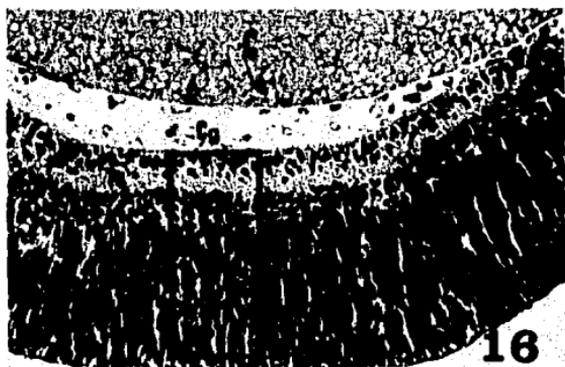


Figura. 16 A mayor aumento de la figura anterior se muestran las células ganglionares (Cg) y amacrinas, no hay diferenciación entre ambas, ya se ve la capa plexiforme interna. (1 día de edad). Método de Río-Hortega variante en parafina, 80X.

Figura. 17 Detalle a mayor aumento de la retina (R) a las 24 horas de nacida, aún se observan mitosis (M) en la capa más externa. Hacia arriba se ve ya la capa de células ganglionares (Cg), mezcladas con las amacrinas y la capa plexiforme interna (PI). Se inicia la diferenciación de las bipolares. (1 día de edad). Método de Masson 100X. (ESQ.1)



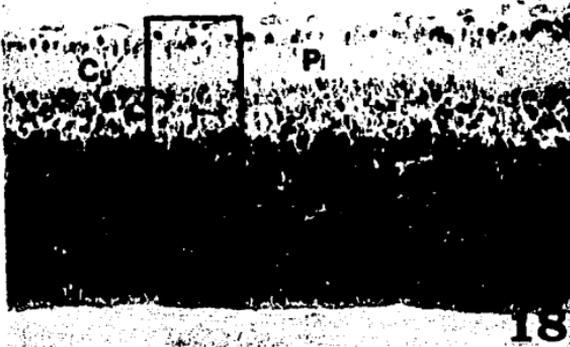
3 días de edad (figuras 18-19), no se ve ninguna variación en la capa de las células ganglionares. La capa plexiforme interna, a aumentado ligeramente de espesor, ésto quiere decir que las células ganglionares, amacrinas y bipolares han emitido sus pequeñas prolongaciones.

La capa nuclear interna ya tiene una mayor diferenciación, aunque todavía no se separa de la capa de los fotorreceptores, pero es notable la emigración de las células bipolares y amacrinas.

No hay ningún cambio visible en la capa de los fotorreceptores, y ya puede verse la membrana limitante externa.

Figura. 18 Retina de Rata a los 3 días de edad. Imagen panorámica que muestra la diferenciación entre la capa de conos y bastones, hacia arriba la capa de ganglionares con amacrinas se han separado completamente. Método de Måsson 80X.

Figura. 19 Imagen a mayor aumento de un campo de la figura anterior Ganglionares (Cg), amacrinas (Ca), plexiforme interna (Pi), Células bipolares (Cb) con amacrinas. Método de Måsson 180 X. (ESQ.1)



5 días de edad (figuras 20-21), las células ganglionares se van distribuyendo y organizando, junto con las amacrinas. En la capa plexiforme interna no hay ningún cambio. La capa nuclear interna ya muestra una mayor diferenciación aunque las células no han madurado completamente; las amacrinas son redondas y más claras, con pequeñas granulaciones, las células bipolares son alargadas y más oscuras.

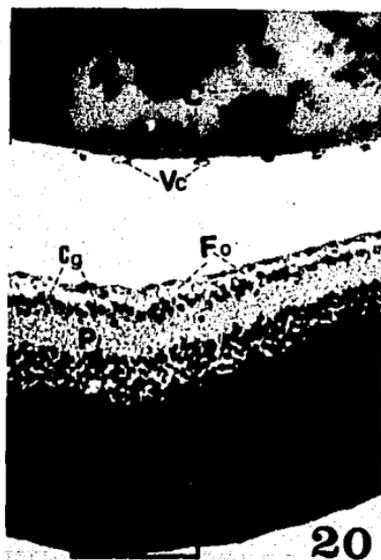
Se ha iniciado la formación de la capa plexiforme externa, así como también la diferenciación de las células horizontales. Esto nos indica que empiezan a desarrollarse las fibras tanto de las bipolares como de los fotorreceptores.

Se empieza a distinguir el crecimiento del cuerpo de los conos y bastones, todavía no hay una diferenciación entre ambos.

El cristalino va perdiendo sus núcleos y se va haciendo transparente.

Figura. 20 A los 5 días de nacida se inicia en la retina de la rata la formación de la plexiforme externa (Pe), la separación entre las bipolares y las amacrinas (Ni), así como la distribución organizada de las neuronas ganglionares (Cg) con las amacrinas, además las fibras ópticas. El cristalino (C) aún se sitúa muy cerca de la retina. Método de Måsson 80X.

Figura. 21 Un detalle a mayor aumento de la figura anterior donde se aprecia la formación inicial de la plexiforme externa (Pe) y la presencia de las células horizontales (Ch). Las bipolares más oscuras y alargadas tienen distinto tono forma y tamaño de las amacrinas (Ni). Método de Måsson 100 X. (ESQ.1).



7 días de edad (figuras 22-27), las células ganglionares ya se han organizado en hilera; hay una notable diferenciación entre las células amacrinas y las células ganglionares. Estas son más oscuras y estrelladas y las amarinas son más claras redondas y contienen en su citoplasma granulaciones.

La capa plexiforme interna no tiene ningún cambio en cuanto a su tamaño, como tampoco lo presenta la capa nuclear interna en cuanto a su morfología.

La capa plexiforme externa ya se ha formado entre la capa nuclear interna y la capa nuclear externa, por medio de las prolongaciones de las células bipolares que van a hacer sinapsis con las prolongaciones de los conos y bastones, también entre ellas se distinguen las células de Muller. Las células horizontales de dos tamaños se encuentran en esta capa; las pequeñas son aplanadas y estrelladas; las grandes tienen expansiones protoplásmicas espesas.

La capa nuclear externa no muestra variación en cuanto a su morfología, el cuerpo de los conos y bastones no ha aumentado de tamaño.

Figura. 22 A los 7 días de nacida con imagen a mediano aumento de todas las capas de la retina con inicio de la plexiforme externa (Pe) presencia de las células horizontales, nuclear interna (Ni), células bipolares donde se ven entre abundantes amacrinas redondeadas, la plexiforme interna (Pi), y la capa de ganglionares (Cg) con algunas amacrinas más oscuras. Método de Måsson 100 X.

Figura. 23 A gran aumento se aprecian, entre la nuclear externa (Ne) el principio de la plexiforme externa (Pe) y las células horizontales (Ch) aplanadas estrelladas por encima de las cuales -- esta la capa nuclear interna (Ni) con células bipolares inmaduras. Método de Måsson 500 X.

Figura. 24 Semejante a la figura anterior pero con células horizontales redondeadas (Ch). con múltiples dendritas, vecinas a la capa de células bipolares en la nuclear interna, Método de Måsson 500 X. (ESQ.1)

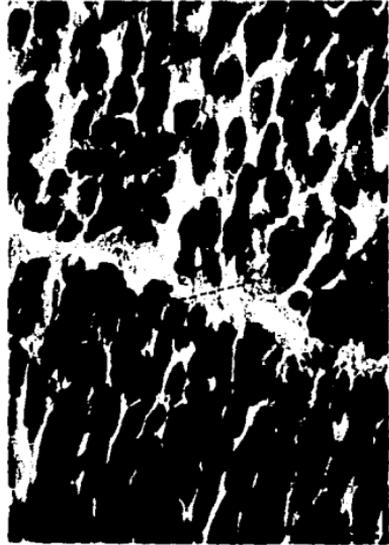


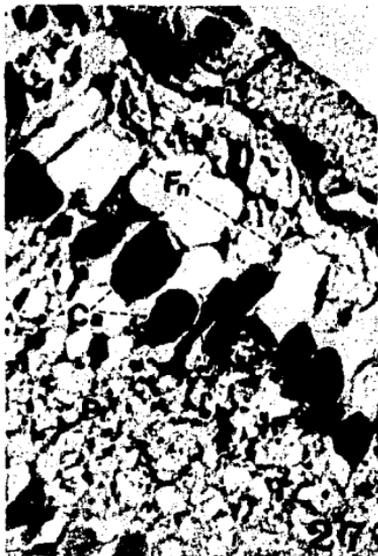
Figura. 25 Retina de rata de 7 días de nacida donde se muestra el inicio de diferenciación de conos y bastones apoyadas en la membrana limitante externa (Mle). Método de Måsson 500 X.

Figura. 26 En otro campo de la figura anterior se muestra la capa de células bipolares (CB) mezcladas con las amacrinas (Ca) y por arriba la plexiforme interna (Pi), Método de Måsson 500 X.

Figura. 27 La capa más interna de la retina corresponde a las células ganglionares, que en la microfotografía aparecen con prolongaciones dendríticas arborescentes (Fn) y cilindroejes que se dirigen hacia la limitante interna (MLi), para dar origen a las fibras del nervio óptico. (Fn), mezcladas con células más claras de núcleo redondeado correspondientes a las amacrinas. Método de Måsson 500 X. (ESQ.1)



25



9 días de edad (figuras 28-28), hay importantes avances en su diferenciación, en la capa de las células ganglionares están ya ordenadas y se observan completamente maduras; sus cilindros ejes se dirigen **hacia** la limitante interna para dar origen a las fibras del nervio óptico.

La capa plexiforme interna no presenta un cambio visible en cuanto a su espesor.

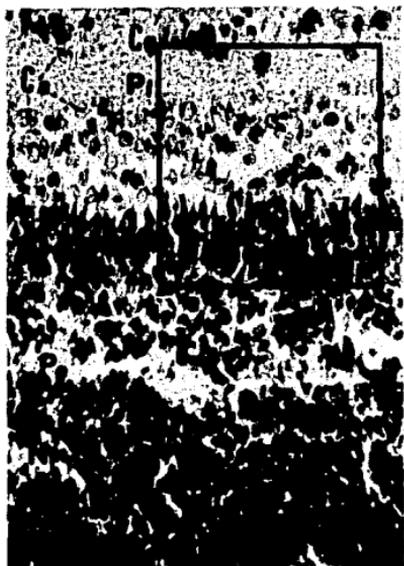
En la capa nuclear interna se ven en emigración células bipolares, de forma muy alargada y más oscura y las células amacrinas de forma redondas y más claras con granulaciones; en esta edad ya es notoria la diferenciación.

La capa plexiforme externa no muestra ningún cambio morfológico y hay un ligero aumento de tamaño en el cuerpo de los conos y bastones.

En cuanto a la observación del cristalino, se ha separado de la retina y aparece el humor vítreo.

Figura 28 Retina de rata a los 9 días de edad, muestra importantes avances en su diferenciación. En la figura se observa en la parte de abajo los núcleos de conos y bastonees (Ne), la plexiforme externa más definida (Pe) la capa de los núcleos alargados y oscuros de las células bipolares (Cb) separadas por los núcleos más escasos y claros de las células amacrinas (Ca). La capa de fibras nerviosas de la plexiforme (Pe) y la parte superior de las células ganglioanres y amacrinas. Método de Masson 80X.

figura 29 Un detalle a mayor aumento de la figura anterior donde se aprecia más claramente la diferenciación de las células bipolares (Cb) con las amacrinas más claras y las ganglioanres (Cg). Método de Masson 100 X (Esquema 1).



11 días de edad (figuras 30-32), las células ganglionares están completamente formadas y maduras.

La capa plexiforme interna esta completamente formada, tiene su espesor normal, esto indica que las células ganglionares, bipolares y amacrinas han llegado al final de su crecimiento.

La capa nuclear interna ya está bien diferenciada con sus neuronas bipolares y amacrinas entremezcladas estas últimas secretoras de GABA.

La capa plexiforme externa ya tiene su espesor normal, esto nos muestra que las células bipolares, y las células de Muller ya tienen contacto con las prolongaciones de los fotorreceptores; además están presentes las células horizontales secretoras de acetil-colina.

La capa nuclear externa esta ya completamente diferenciada, los núcleos de los conos y bastones se pueden observar redondos y bien organizados.

El cuerpo de los conos y bastones no presentan ningún cambio visible en su crecimiento.

figura 30 Imagen panorámica de la retina de una rata a los 11 días de nacida que muestra todas las capas bien diferenciadas Método de Masson 80 X.

figura 31 A mayor aumento se ven la mezcla difusa de los núcleos de bipolares y amacrinas, la plexiforme interna (Pi) bien definida y la capa de células ganglionares (Cg) entremezclada con amacrinas (Ca) de núcleos más pequeños y oscuros. Método de Masson 100 X.

Figura 32 Al mismo aumento de la figura anterior se demuestra la conexión por medio de las prolongaciones nerviosas (Pn) de una célula bipolar con dos células ganglionares (Cg). En el espesor de la capa plexiforme interna (Pi). (Disecada en una grieta de la plexiforme interna). Método de Masson 100X. (Esquema 1).

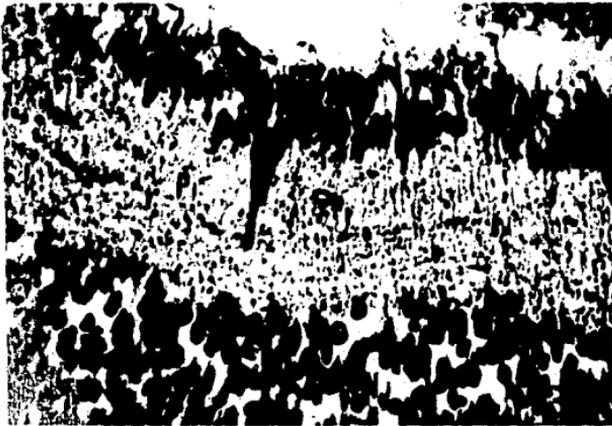


13 días de edad (figuras 33-34), las capas ganglionar, plexiforme interna, nuclear interna y plexiforme externa no presentan ningún cambio porque ya están completamente diferenciadas, organizadas y maduras.

La capa nuclear esterna tiene los núcleos bien diferenciados de conos y bastones, pero su cuerpo aún no ha adquirido su madurez o su tamaño normal.

Figura 33 A los 13 días de edad la retina de la rata muestra panorámicamente todas sus capas bien organizadas. Método de Masson 20 X.

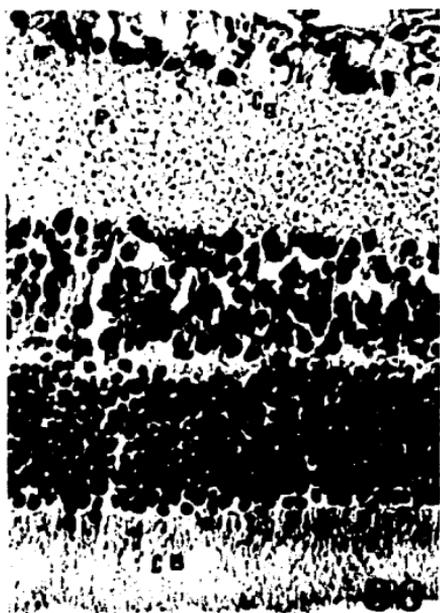
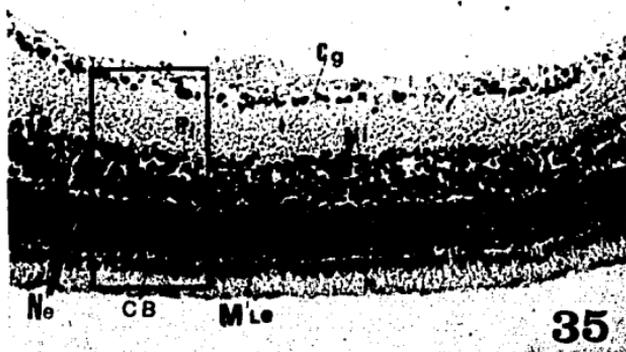
Figura 34 Una imagen a mayor aumento de la porción de la figura anterior, revela en la capa plexiforme interna (Pi) las fibras nerviosas que unen a las células bipolares de la nuclear interna (Ni) con las gangliónicas (Cg). Método de Masson 100 X (Esquema 1).



15 días de edad (figuras 35-36), cuando la rata ha abierto los ojos, todas las capas están ya completamente organizadas, en la flecha, podemos observar que la capa nuclear externa ya está completamente madura, las prolongaciones de los conos y bastones ya tienen toda su dimensión. también es notable la membrana limitante externa.

figura 35 A los 35 días de nacida la rata, su retina muestra todas sus capas histológicamente organizadas. Es importante hacer notar que en este día los animalitos abren los ojos. Método de Masson 10 X.

figura 36 Una imagen a mayor aumento de esta misma rata, muestra con detalle lo mencionado en la figura anterior, conos y bastones (Cb), membrana limitante externa (Mle), nuclear externa (Ne), plexiforme externa (Pe), nuclear interna (Ni), plexiforme interna (Pi) y células ganglionares (Cg). Método de Masson 100 X. (Esquema 1).

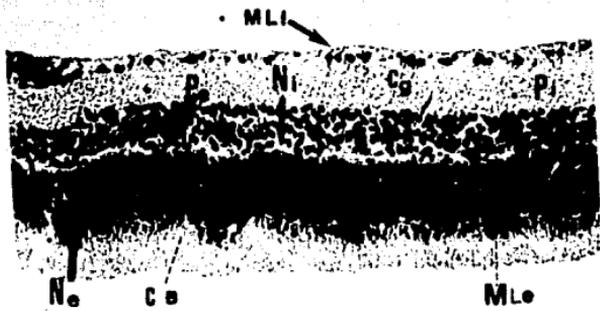


17 días de edad (figura 37), no hay ningún cambio en las capas porque ya están maduras y bien constituidas y a partir de esta edad hasta los 45 días después del nacimiento las capas ya no sufren cambios, las células de Muller las observamos bien hasta los 35 días (figuras 38-41), no fue posible conocer a que edad se diferencian.

La retina ya madura esta compuesta por los siguientes estratos o capas.

- Capa 1 Epitelio pigmentario
- Capa 2 fotorreceptores
- Capa 3 membrana limitante externa
- Capa 4 nuclear extern
- Capa 5 plexiforme externa
- Capa 6 nuclear interna
- Capa 7 plexiforme interna
- Capa 8 células ganglionares, amacrinas y neuróglías (Muller).
- Capa 9 fibras nerviosas
- Capa 10 membrana limitante interna

Figura 37 A los 17 días de edad de la rata su retina está bien constituida (comparese con la figura 28). Muestra aumento de la capa plexiforme externa, las células ganglionares se ha separado entre sí debido a que el globo ocular aumenta de tamaño. Método de Masson 10 X. (Esquema 1).



37

Figura 38 A los 21 días de edad las ratas muestran en la microfotografía todas las capas constituidas, sobre todo llamó la atención... el aumento de grosor de las plexiformes externa e interna donde han aumentado las conexiones interneurales. Método de Masson
- 10 X.

Figura 39 Un detalle a mayor aumento de la figura anterior nos confirma lo descrito en la figura 33. Además se nota la diferencia en el tono y transparencia entre los núcleos claros de las amacrinas y los núcleos oscuros de las bipolares en la capa nuclear interna (Ni), y la plexiforme externa, la presencia de los núcleos alargados y claros de las células horizontales (Ch) en el espesor de la plexiforme externa (Pe). Método de Masson
100 X. (Esquema *).

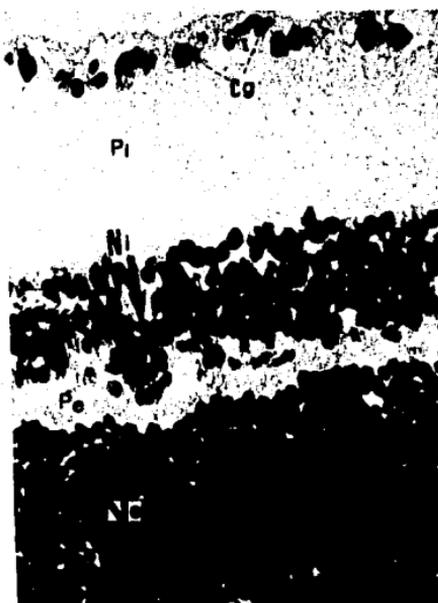
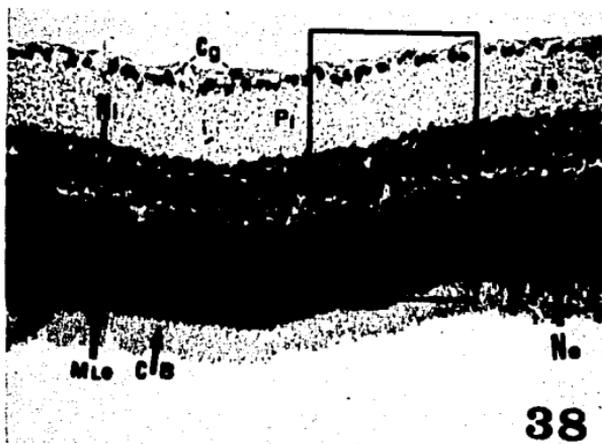
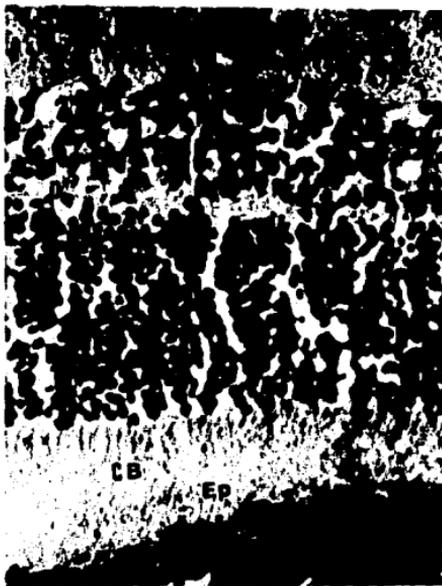


Figura 40 Todas las capas de la retina están bien organizadas a los 35 días de nacida. Se encuentran adheridas a la coroides (C*) en la parte inferior de la foto con algunas grietas vasculares (V). Método de Masson 80 X.



Figura 41 Microfotografía tomada de una rata a los 45 días de nacida. (cuando el animal con su propia vista busca el alimento), Nos muestra la importancia que tienen la aparición de las células pigmentarias que están entre la coroides y los fotorreceptores (conos y bastones) haciendo más selectiva la visión y su transmisión a través de los conos (C,B,). Los bastones, células bipolares, ganglionares y por fibras nerviosas de la plexiforme interna a las ganglionares Método de Masson 100 X.

ESTA TESIS -NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



VIII. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el estudio del desarrollo de la retina en ratas albinas hemos comprendido la importancia, organización y maduración de cada uno de los componentes.

Cabe resaltar que aunque se ha avanzado en el conocimiento de la retina con el auxilio de las técnicas modernas, los conceptos fundamentales establecidos por Cajal siguen siendo vigentes.

De los diferentes componentes estructurales del ojo adulto, es la retina la primera en esbozarse y varía en el sentido en que aparecen nuevos estratos celulares, debido a la emigración y diferenciación de sus numerosas células (6).

En el desarrollo de la retina la división celular ocurre primero en el margen de la capa óptica y continúa la multiplicación celular en toda la superficie de la capa neural, y a su vez la diferenciación empieza en la capa interna de la retina, las células ganglionares, origen del nervio óptico son las primeras en emigrar de la capa germinal (12). y continúa hasta los aparatos sensitivos de los conos y bastones que se han formado (6,8,12,).

A los 18 días de gestación distinguimos sólo dos capas; las células del epitelio pigmentario y una capa neural; pero a los 21 días de gestación empiezan las células ganglionares a emigrar y se pueden observar ya cuatro estratos; el epitelio pigmentario, la capa neuronal, empieza a formarse la plexiforme interna y las células ganglionares que ya están en su estrato definitivo. (figuras 1-14).

La distancia diferencial morfológica entre las células bipolares y las células amacrinas es muy reducida (12).

En los últimos días de gestación y el primer día de nacidos no se distinguen las bipolares de las amacrinas, ya están en emigración pero no hay una diferenciación entre ambas (figuras 1-17). Las células de Müller descritas por Cajal suelen encontrarse ya en sus fases muy jóvenes y persisten en el adulto (11,12).

No fué posible distinguir a que edad de la rata empiezan a diferenciarse las células de Muller, quizá porque no usamos una técnica argéntica adecuada, posiblemente si hubiéramos usado la técnica de Golgi tal vez hubiéramos podido seguir la secuencia de su maduración. Sólo a los 35 días de edad observamos una, pero a esta edad la retina ya está completamente madura y diferenciada (figura 40).

La maduración de las neuronas permite ver la formación de las capas plexiformes interna y externa. Como ya se mencionó las células ganglionares son las primeras en emigrar; las bipolares y las amacrinas son las que siguen, entonces al ir emigrando también van madurando. La primera capa plexiforme en formarse es la interna, a partir de las terminales axónicas de las células bipolares y amacrinas, dendritas de las células ganglionares y prolongaciones de las células de Muller.

A los 5 días después del nacimiento empieza a diferenciarse la capa nuclear interna que está formada por los núcleos de las células bipolares y amacrinas y se observan ya completamente maduras a los 13 días de edad, dos días antes de que las ratas abran los ojos (figuras 20-34).

La capa plexiforme externa es el punto de entrecruzamiento de numerosas expansiones protoplásmicas procedentes de los pies de los axones de los conos y bastones (Cajal), que hacen sinápsis con las prolongaciones de las células bipolares y horizontales, (9,11,19). Esta capa plexiforme externa se visualiza después de los 5 días de edad como también las células horizontales. Esto nos indica que a esta edad se inicia el crecimiento de las fibras provenientes de las células bipolares, horizontales y de los fotorreceptores; aunque no está completamente madura ya se distingue (figura 21), y observamos su espesor normal hasta los 13 días de edad (figura 33).

Cabe mencionar que pudimos observar los dos tipos de células horizontales a los que hace mención Don Santiago Ramón y Cajal; unas son pequeñas, aplanadas y estrelladas, otras son grandes con expansiones protoplásmicas, espesas con ramificaciones cortas y digitiformes y ascendentes, su expansión es robusta y horizontal (figuras 23,24).

La capa de los fotorreceptores es muy importante, sus células son las que van a recibir la intensidad de luz y la absorben a través de una masa de pigmentos empaquetados (3,13,32). Los fotorreceptores ocupan dos estratos en la retina; el núcleo va a formar la capa nuclear y el cuerpo la capa de los conos y bastones; estas dos capas están separadas por la membrana limitante externa, estas capas empiezan a diferenciarse a los 5 días después de nacidas y están completamente formadas hasta los 15 días (figuras 20-35).

Es importante mencionar que todos los animales que no abren los ojos a las pocas horas del nacimiento es porque las neuronas de la retina están inmaduras, y no están preparadas para percibir la intensidad de la luz y como hemos visto los fotorreceptores que tienen la capacidad de percibir la luz son los últimos que se diferencian y maduran, por lo que consideramos es una medida de defensa hasta que estos animales abran sus ojos 15 días después de nacidos, cuando ya todas las neuronas están completamente maduras y diferenciadas.

El epitelio pigmentario lo observamos formado desde los 18 días de gestación, a diferencia de otras especies, por ser ratas albinas tiene muy poco pigmento melánico.

En cuanto a las técnicas histológicas de tinción utilizadas para realizar este trabajo podemos decir que todas nos permitieron realizar una observación global de la estructura de la retina de una manera complementaria, ya que cada una resaltó características distintas, la observación fue clara tanto de núcleos de neuronas como de fibras ópticas.

Es importante mencionar que el método de impregnación argéntica que usamos es una modificación para parafina a la técnica clásica de la doble impregnación de Río-Hortega.

Los resultados fueron satisfactorios, esta técnica tiene las siguientes ventajas.

- Se puede usar para tejidos muy delicados como es la retina
- Los cortes en parafina son de fácil manejo en relación con el corte por congelación.
- Esta técnica da la posibilidad de reconstruir las estructuras de diversos niveles con un grosor de 5 micras, facilita su observación.

- Este método debe hacerse a la temperatura ambiente del laboratorio a 24 C, puesto que se trata de una impregnación argéntica lenta; si se aplica calor agregado la lámpara de alcohol o de estufa, la plata se precipita fácilmente y los cortes se desprenden del portaobjetos durante las manipulaciones.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Allen R.A. (1969). " The retinal bipolar and their synapsis in the inner plexiform layer". The retinal Morphology, Function and Clinical Characteristics. UCLA Press, Berkeley and Los Angeles.
- 2.- Balinsky B.I. (1971). Introducci3n a la Embriologfa, 2ª. ed., Ed. Omega S.A. Barcelona Esp. pp. 296-306.
- 3.- Cohen A.I. (1979). " Rods and cones and the problem of visual excitation". In The retina. Morphology, Function and Clinical Characteristics, UCLA Forum in Medical, Science. Number 8 University of California Press, Berkeley and Los Angeles pp.31-62.
- 4.- Dowling J.E. and B.B. Boycott.(1969). " Retinal ganglion cells a correlation of anatomy and physiological, approaches". En The Retinal Morphology, Function and Clinical Characteristics, UCLA Forum in Medical Sciences, Number 8 University of California Press, Berkeley and Los Angeles pp. 140-191.
- 5.- Dubin M.W. (1979). The inner plexiform layer of the vertebrate retina a quantitative and comparative electron microscopic analysis J. Comp. Neurol.,140 pp. 479-505.
- 6.- Genesis G.J.M. (1970). Biologfa del desarrollo, 1ª. ed. Ed. Espasa Barcelona Esp.,pp. 206-219.
- 7.- Gilbert S.F. (1985). Developmente Biology, Sinaver Associates Inc. pp. 172-178.
- 8.- Gwiazada E.J., Brich E.E., R.Held (1981). Desarrollo de la Visi3n del Niño. Mundo Cientifico, Vol. 2, Nª.11, pp. 120-125.

- 9.- Ham A.W. (1975). Tratado de Histología, 6ª. ed. Ed. Interamericana México pp. 772-791.

- 10.- Kuffler S.W. and J.G. Nichols. (1979). From Neuron to Brain a Cellular Approach To the Function of Nervous System. Fourt Printing. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts. pp. 16-34.

- 11.- Leaked D.L. (1975). Comparative Histology and Introducction to the Microscopic Structure of Animals. Academic LTD London, pp.530-685.

- 12.- Meller K. (1970). Scanning Electron Microscopic Studies on the Development of the Nervous System in Vitro, and in Vivo. Int. Rev. Cytol. vo. 56, Nº 23.

- 13.- Miller W.H. (1960). "Visual Photorreceptor ". The Cell Biochemystry, Physiology, Morphology, Vol. IV Specialized Cells: Part.1 Academic Press, New York and London pp. 325-364.

- 14.- Moyer F.H. (1969). " Development Structure and Function of the Retinal Pigmental Ephitelium ". En: The retina Morphology, Function and Clinical Characteristics. UCLA Forum in Medical Science Number 8, University of California Press, Berkeley and Los Angerles pp. 1-30.

- 15.- Murray L., Barr., (1974). El sistema nervioso humano, 2ª. ed. Ed. Karla S,A. ,pp.257-265.

- 16.- Noback R.N., J.R. Denarest.(1981). El sistema nervioso humano, 2ª. ed. Ed. Mc. Graw Hill. México, pp. 271-284.

- 17.- Panzeta P., A.P.Chiareza., and H.J.F. Maccioni (1983). Axonal transport of gangliosides in the visual system of the devping chick embyron. vol. 1, Nº. 2 pp 149-153.

- 18.- Ramon y Cajal S. (1973). " The vertebrate retina " En: The vertebrate retina, By. R. W. Rodrek W.H/ Ed. Freman and Co., San Francisco pp. 775-904.
- 19.- Ramon y Cajal S., Castro de F. (1972). Elementos de la técnica Micrográfica del Sistema Nervioso, 2a. ed. Ediciones Salvat, S.A. Barcelona Esp. pp. 102-122.
- 20.- Retmulla S. and P.E. Hallett (1985). A schematic eye for mouse and comparisons with the rat. *Visión Res.* vol. 25 Nº 1 pp. 21-31.
- 21.- Romer S.A. (1973). Anatomía Comparada (Vertebrados) 4a. ed. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. México pp. 325-33.
- 22.- Salceda R. (1979). "Tesis doctoral" La participación de la taurina en la función retiniana. U.N.A.M. México. pp 1-20.
- 23.- Schnapf J.L., A.D. Baylor (1987). Respuesta de los fotorreceptores a la luz, *Investigación y Ciencia* Nº 129, pp. 20-29.
- 24.- Sherped G.M. (1974). The Sinaptic Organization of the Brain. An Introduction, Oxford University Press, Inc. New York. pp. 145-178.
- 25.- Sosula L. and Glow. H. P. (1979). A quantitative ultra estructural study of the inner plexiform layer of the retina. *J. Comp. Neurol.* 140.,pp. 439-454.
- 26.- Strayer L. (1987). Moléculas de excitación visual., *Investigación y Ciencia* Nº 32., pp. 18-20.
- 27.- Strojand F.S. (1969). " The Outer Plexiform Layer and the Neural Organization of the Retina". En: *The Retina Morphology, Function and Characteristics.* UCLA. Forum in Medical Sciences Number 8 University of California Press. Berkeley and Los Angeles pp. 63-100.

- 28.- Torrey W.T. (1978). **Morfogénesis de los vertebrados**, 2a. ed. Ed. Limusa, pp. 521-534.
- 29.- Viola E. V. y F.G. **Mathews** (1987). Sinapsis que computan el movimiento. **Investigación y Ciencia** N°. pp. 28-39.
- 30.- Welsch V.,V.Stroch., (1973). **Estudi Comparado de Citología e Histología Animal**. Urmo S.A. de Ediciones Bilbao, pp. 172, 193-203.
- 31.- Windle W.T. (1977). **Histología**, 5ª. ed. Ed. Mc. Graw Hill Latinoamericana, S.A. pp. 315-335.
- 32.- Young R.W. (1969). " **The Organization of Vertebrate Photoreceptor Cells**". En. **The retina Morphology, Function, and. Clinical Characteristics**. **UCLA Forum in Medical Sciences** number 8. University of California Press, **Berkeley** and Los Angeles pp. 177-210.

ANEXO 1

INCLUSION EN PARAFINA.

- Se lavan los ojos en agua corriente por 1 hora para quitar el exceso de formol.
- Se lavan en agua destilada
- Se deshidratan en alcoholes graduales de 60,70,80,96 dos cambios; alcohol absoluto dos cambios; se aclaran en dos cambios de xilol (1 hora por cada cambio).
- Se hicieron dos cambios en parafina por una hora cada cambio y se hizo la inclusión definitiva.
- Se hicieron los cortes de 5 micras de grosor (en microtómo de parafina).

ANEXO II

Método de Hematoxilina-Eosina.

- 1.- Desparafinar en Xilo.
- 2.- Hidratar en alcoholes graduales
- 3.- Pasarlos a agua destilada
- 4.- Pasarlos a Hematoxilina de Harris
- 5.- Se pasan a agua destilada
- 6.- Se pasan a una solución de carbonato de litio
- 7.- Se lavan en agua destilada
- 8.- Se pasan a alcohol de 70
- 9.- Se pasan a Eosina por 2 minutos
- 10.- Se pasan a alcohol del 70
- 11.- Se deshidratan en alcohol del 96
- 12.- Se pasan a alcohol absoluto
- 13.- Se aclaran con xilol 2 cambios
- 14.-Se cubren con resina

ANEXO III

Tricrómica de Masson.

- 1.- Desparafinar en xilol
- 2.- Se hidratan en alcoholes graduales
- 3.- Se enjuagan en agua destilada
- 4.- Se pasan a Bouin
- 5.- Lavar en agua corriente (15 min).
- 6.- Enjuagar en agua destilada
- 7.- Se pasan a hematoxilina ferrica por 15 min.
- 8.-Se enjuagan en agua corriente por 10 min.
- 9.- Se pasan a Fuschina escarlata por 15 min.
- 10.- Se enjuagan en agua destilada
- 11.- Se pasan a ácido Fosfomolibdico-fosfotungstico por 15 min.
- 12.- pasar a azul de anilina por 15 min.
- 13.- enjuagar en agua destilada.
- 14.- Pasarlos a una solución de ácido acético al 1 % 5 min.
- 15.- Deshidratar en alcoholes graduales
- 16.- Aclarar en xilol
- 17.- Cubrir con resina

ANEXO IV

Doble Impregnación de Río-Hortega variante para inclusión en parafina.

- 1.- Se fijan en Formol al 10 %
- 2.- Se lavan en agua corriente
- 3.- Se incluyen en parafina
- 4.- Se hacen los cortes de 5-7 micras
- 5.- Se desparafinan en xilol
- 6.- Se hidratan los cortes en alcoholes graduales
- 7.- Las laminillas se pasan a una solución de nitrato de plata al 10% por 24 horas
- 8.- Se lavan en agua destilada
- 9.- Se pasan a una solución de Carbonato de plata amoniacal por 24 Hrs.
- 10.- Se lavan en agua destilada
- 11.- Se pasan a una solución de formol al 10 %
- 12.- Se deshidratan en alcoholes graduales
- 13.- Se aclaran en xilol
- 14.- Se cubren con resina.