

## MISCELÁNEA

### Las técnicas histológicas para el estudio de la microglia \*

El hallazgo y descripción de la microglia (DEL RÍO HORTEGA), así como el estudio de su estructura normal y patológica y el de su histogénesis (DEL RÍO HORTEGA), que sin el previo y correcto conocimiento de éstos es imposible encarar ni soluble al empleo de los métodos de impregnación argéntica de P. DEL RÍO HORTEGA que, sin el previo y correcto conocimiento de éstos es imposible encarar ningún problema que se relacione con ese elemento celular del sistema nervioso.

Ahora bien, el dominio de tales procedimientos sólo se alcanza mediante una grande y continuada práctica *personal*, pues — contrariamente a lo que de ordinario ocurre en Histología — tratase de técnicas cuyo mínimo de resultados utilizables, más que de la estricta aplicación de las normas establecidas, depende de la oportuna introducción, en cada caso y ambiente, de pequeñas modificaciones en los diferentes tiempos que constituyen los métodos, variantes que casi siempre están relacionadas con la concentración y período de acción de las soluciones usadas. Con esto, además de señalarse las dificultades que los métodos de P. DEL RÍO HORTEGA oponen a la obtención regular de buenas impregnaciones, se explica también el origen de la serie de otras técnicas afines aparecidas, cuyo número aumentará seguramente con la difusión que adquieran las investigaciones sobre microglia, y cuyo propósito y beneficio son, en último análisis, permitir la impregnación de esta célula en muchos de los casos en los cuales la aplicación del método original suministra resultados defectuosos o negativos.

Para servir este mismo propósito nos ha parecido útil la reproducción conjunta de todas las técnicas publicadas, a las cuales añadiremos algunos detalles que han favorecido nuestra propia experiencia personal, en la ciudad de Buenos Aires.

Esta exposición se divide en tres partes. La primera comprende el detalle del instrumental e ingredientes necesarios, juntamente con la ordenada enumeración de las soluciones que se emplean en estos métodos. La segunda parte contiene la descripción de las diferentes técnicas. La tercera reúne brevísimas consideraciones sobre los resultados.

#### I

**INSTRUMENTAL.** Microtomo para cortes en congelación. Cápsulas de Petri. Cápsulas de vidrio (3,5 c. de diámetro por 1,5 c. de alto). Vidrios de reloj para usar como tapas de estas últimas cápsulas. Ganchos de vidrio para manipular los cortes. Frascos de vidrio color caramelo, tapa esmerilada, de 250, 500 y 1.000 c<sup>3</sup> de capacidad. Frascos de boca ancha de 100 c<sup>3</sup>, para fijar y conservar las piezas anatómicas. Papel negro a usar como fondo de contraste para el contenido de las cápsulas. Papel de filtro. Aguja de histología. Micromechero de gas o lámpara de alcohol. Trípode de hierro de 22 c. de alto. Lámina de amianto de 15 x 15 c. x 3 mm. Porta-objetos comunes. Cubre-objetos.

\* SINONIMIA: mesoglia DEL RÍO HORTEGA; mesoglia *in partibus* ROBERTSON; tercer elemento *in partibus* CAJAL; célula de Hortegea ("Hortegazelle") METZ Y SPATZ; célula en bastoncito ("Stäbchenzelle") NISSL; célula granulosa o adiposa, célula gránulo-adiposa ("Körnchenzelle", "Gitterzelle") NISSL; célula de remoción *in partibus* ("Abräumzelle" *in partibus*) MERZBACHER.

**INGREDIENTES.** Agua bidestilada<sup>1</sup>. Agua destilada. Formaldehido<sup>2</sup> MERCK o KAHLBAUM. Bromuro de amonio. Alcohol de 96° Acido fénico cristalizado. Xilol. Creosota de haya. Hiposulfito de sodio. Cloruro de oro amarillo. Sulfito de sodio cristalizado. Carbonato de sodio cristalizado. Acido clorhídrico. Ferrocianuro de potasio. Piridina. Acetona. Glicerina pura. Acido bromhídrico. Hidrato de sodio. Antiformina. Carbonato de sodio anhidro, *pro analisis*, KAHLBAUM. Nitrato de plata, *pro analisis*, KAHLBAUM. Amoníaco, *pro analisis*, KAHLBAUM. Resina de *Dammar*, en terrones.

### SOLUCIONES.

**A. FIJADORAS:** 1ª Solución de formol al 10 % (para el invierno); y al 15 % (para el verano). 2ª *Formol-bromuro*: agua dest. 430 c<sup>3</sup>, bromuro de amonio 10 g., formaldehido 70 c<sup>3</sup>. 3ª *Fijador de BOLSI*: agua dest. 75 c<sup>3</sup>, bromuro de amonio 3 g., formaldehido 15 c<sup>3</sup>, piridina 5 c<sup>3</sup>, acetona 5 c<sup>3</sup>. 4ª *Fijador de DUBRANSKY*: agua dest. 100 c<sup>3</sup>, formaldehido 6 c<sup>3</sup>, carbonato de sodio cristalizado 6 g., solución acuosa de amoníaco al 20 %: V gotas.

**B. REFORZADORAS DE LA FIJACIÓN:** 1ª Agua dest. 430 c<sup>3</sup>, bromuro de amonio 10 g., formaldehido 70 c<sup>3</sup>. 2ª Agua dest. 70 c<sup>3</sup>, bromuro de amonio 3 g., formaldehido 30 c<sup>3</sup>. 3ª Agua dest. 400 c<sup>3</sup>, bromuro de amonio 15 g., formaldehido 100 c<sup>3</sup>. 4ª Solución de formol al 20 % y piridina en partes iguales.

**C. RESTAURADORAS:** 1ª Agua dest. 20 c<sup>3</sup>, amoníaco II gotas. 2ª Agua dest. 30 c<sup>3</sup>, amoníaco XX gotas. 3ª Agua dest. 20 c<sup>3</sup>, amoníaco IV gotas. 4ª Agua dest. 160 c<sup>3</sup>, glicerina 40 c<sup>3</sup>, amoníaco C gotas. 5ª Agua dest. 20 c<sup>3</sup>, solución de hidrato de sodio al 40 %: I gota. 6ª Agua dest. 90 c<sup>3</sup>, amoníaco 10 c<sup>3</sup>. 7ª Agua dest. 2 c<sup>3</sup>, antiformina 3 c<sup>3</sup>, alcohol de 96°: 8 c<sup>3</sup>. 8ª Alcohol de 96°: 20 c<sup>3</sup>, glicerina 20 c<sup>3</sup>, solución de formol al 5 %: 60 c<sup>3</sup>. 9ª Glicerina 30 c<sup>3</sup>, solución de formol al 5 %: 70 c<sup>3</sup>. 10ª Solución acuosa de carbonato de sodio cristalizado al 5 %: 11ª Sol. acuosa de carbonato de sodio crist. al 10 %.

**D. MORDIENTES:** 1ª Piridina, amoníaco, agua dest. en partes iguales. 2ª Solución acuosa de sulfito de sodio cristalizado al 5 %. 3ª Solución acuosa de ácido clorhídrico al 10 %. 4ª Solución acuosa de ferrocianuro de potasio al 10 %: 45 c<sup>3</sup>, solución acuosa de ácido clorhídrico al 10 %: 55 c<sup>3</sup>. 5ª Solución acuosa de carbonato de sodio cristalizado al 1 %. 6ª Solución acuosa de ácido bromhídrico al 5 %. 7ª Solución acuosa de ácido bromhídrico al 10 %. 8ª Solución acuosa de bromuro de amonio al 2,5 %. 9ª Solución acuosa de bromuro de amonio al 10 %.

**E. COLORANTES<sup>3</sup>:** I. *Carbonato argéntico*. Se preparan las soluciones siguientes:

1ª Nitrato de plata al 10 %. 2ª Carbonato de sodio anhidro al 2,7 g. %. 3ª Carbonato de sodio anhidro al 5,4 g. %.

1. En la ciudad de Buenos Aires su uso es indispensable para la preparación de las soluciones argénticas. La primera destilación se realiza mediante un alambique de cobre. La segunda por medio de un aparato totalmente construido con vidrio neutro; la unión entre el balón dador y el refrigerante se establece con un manguito de gasa desengrasada y limpia. Esta segunda destilación se hace sobre granalla de zinc e hidrato de bario.

2. Empleado como fijador y como reductor, el formaldehido debe neutralizarse previamente con carbonato de calcio, substancia que se agrega en cantidad abundante. La mezcla se revuelve varias veces y, al cabo de varios días, se hace decantar; la porción transparente, sobrenadante, se utiliza para la preparación de las soluciones.

3. Para la preparación de éstas es de rigor el uso de agua bidestilada.

*Fórmula a:* Sobre 50 c<sup>3</sup> de solución de nitrato de plata (1<sup>a</sup>)\*, verter 200 c<sup>3</sup> de solución de carbonato de sodio (2<sup>a</sup>). Disolver el precipitado producido con amoníaco, substancia que se agrega gota a gota, agitando suavemente. Evitar un exceso de amoníaco. Completar el volumen con agua bidestilada hasta 400 c<sup>3</sup>.

*Fórmula b.* Solución de nitrato de plata (1<sup>a</sup>): 50 c<sup>3</sup>; solución de carbonato de sodio (2<sup>a</sup>): 200 c<sup>3</sup>; amoníaco en cantidad suficiente.

*Fórmula c.* Solución de nitrato de plata (1<sup>a</sup>): 50 c<sup>3</sup>; solución carbonato de sodio (2<sup>a</sup>): 200 c<sup>3</sup>; amoníaco en c. s.; agua bidestilada 750 c<sup>3</sup>.

*Fórmula d.* Solución de nitrato de plata (1<sup>a</sup>): 100 c<sup>3</sup>; solución de carbonato de sodio (3<sup>a</sup>): 150 c<sup>3</sup>; amoníaco en c. s.

## II. Solución de nitrato de plata al 20 %.

III. *Oxido de plata amoniacal.* Se preparan las soluciones siguientes: 1<sup>a</sup> Nitrato de plata al 10 %. 2<sup>a</sup> Nitrato de plata al 20 %. 3<sup>a</sup> Lejía de soda al 40 %.

*Fórmula a* (DEL RIO HORTEGA Y CAJAL). Sobre 20 c<sup>3</sup> de solución de nitrato de plata (1<sup>a</sup>), verter XXII gotas de lejía (3<sup>a</sup>). Una vez que el precipitado esté totalmente formado y sedimentado, quitar el líquido sobrenadante. Lavar varias veces el precipitado con agua bidestilada, empleándose en esta operación 250 c<sup>3</sup> de agua. Agregar al pp. lavado 110 c<sup>3</sup> de agua bidestilada y disolverlo, con amoníaco, añadido gota a gota. Cada gota de amoníaco se agrega sólo después de que el líquido ha perdido el olor característico que le ha dado la gota precedente. Durante este tiempo, no olvidar la constante y suave agitación del pp. Evitar un exceso de amoníaco.

*Fórmula b.* Solución de nitrato de plata (2<sup>a</sup>): 5 c<sup>3</sup>; solución de lejía de soda (3<sup>a</sup>): VI gotas. Lavar varias veces el pp. con agua. Agregar 5 c<sup>3</sup> de agua bidestilada y luego amoníaco, gota a gota. Completar con agua bidestilada hasta 25 c<sup>3</sup>.

## IV. Solución de fucsina, según ZIEHL = III gotas y agua destilada 10 c<sup>3</sup>.

F. REDUCTORAS: 1<sup>a</sup> Solución de formol al 1 %, 2 %, 3 %, 5 % y 10 %. 2<sup>a</sup> solución de formaldehído al 1/2-1 %: 20 c<sup>3</sup>, solución de nitrato de plata al 20 %: I gota.

G. VIRADORA. Solución acuosa de cloruro de oro amarillo al 1/500.

H. FIJADORA. Solución acuosa de hiposulfito de sodio al 5 %.

I. ACLARANTE. Xilol 90 c<sup>3</sup>, ácido fénico 30 c<sup>3</sup> y creosota de haya 13 c<sup>3</sup>.

K. MEDIO DE INCLUSION: En nuestra experiencia personal empleamos una solución espesa de resina de *Dammar* en xilol. (Este medio de inclusión que, ya hace mucho tiempo, el Prof. Chr. JAKOB reconociera como muy superior al bálsamo de Canadá, reemplaza a esta substancia muy ventajosamente.) Preparamos este medio de acuerdo con la técnica de JAKOB: disolver en xilol los terrones de resina *Dammar*, a una temperatura moderada, no olvidando que el solvente es fácilmente inflamable. Esta solución, que debe ser fluida, se recoge en frascos para que sedimente en algunos meses, pues la resina contiene muchas suciedades. Ya clarificada, se hace evaporar una parte del xilol, hasta conseguir la consistencia necesaria.

\* La cifra ordinal que está en el paréntesis es también la misma que, en un lugar inmediatamente anterior del texto, precede la enunciación del detalle de la solución correspondiente.