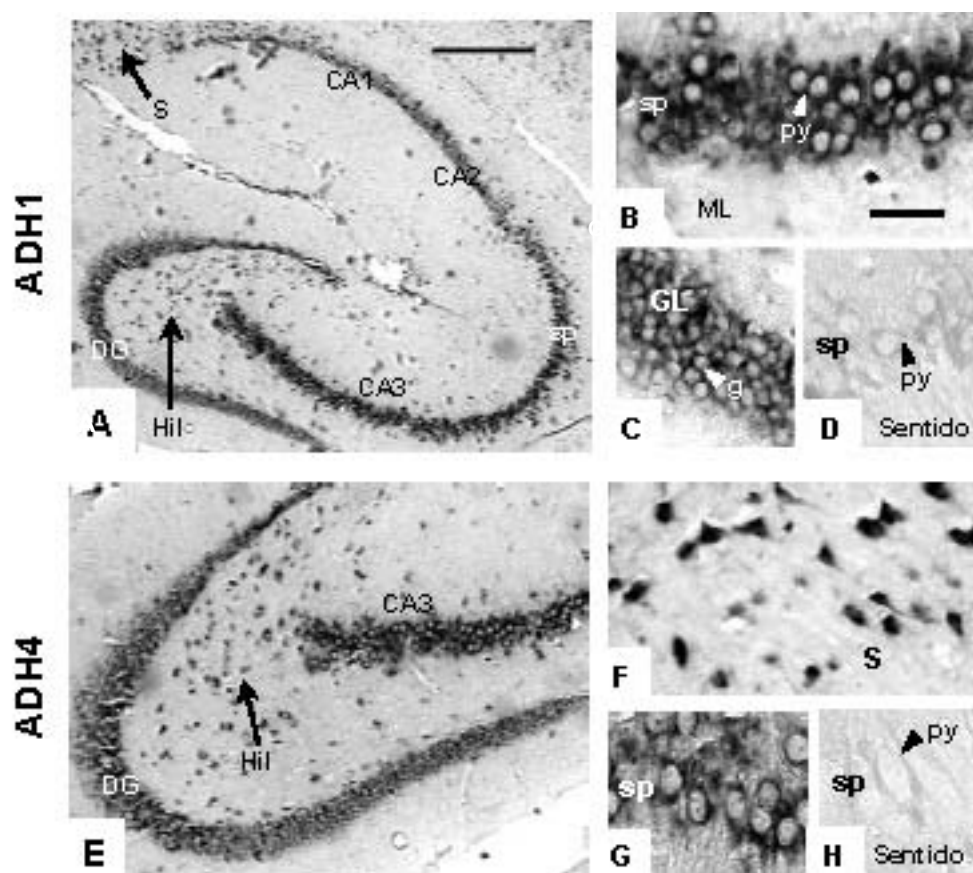


**Figura 43. Formación hipocámpal de la rata.** Localización de las formaciones hipocámpales de los hemisferios derecho e izquierdo del cerebro adulto de rata (A). Estructura tridimensional de la formación hipocámpal izquierda aislada (B) y sección histológica generada por un corte transversal (C). ALV, *alveus*; CA2 y CA3, regiones en los que esta dividido el hipocampo; DG, circunvolución dentada; fi, fimbria; fx, fórnix; HC, formación hipocámpal; Hilus, hilio; LAC-MOL, *stratum lacunosum-moleculare*; MS, septo medial; P, *stratum pyramidale*; RAD, *stratum radiatum*; SUB, subículo. Modificado de [www.academicpress.com](http://www.academicpress.com).

En la formación hipocámpal, los mRNA de ADH1 y ADH4 colocalizaron en el *stratum pyramidale* de las regiones CA1-CA3 del hipocampo, en la capa celular granular de la circunvolución dentada, y en algunas neuronas del subículo e hilio (Fig. 44A y E). A juzgar por su tamaño y morfología, la mayoría de las células con señal positiva de la formación hipocámpal parecían ser neuronas (Fig. 44B, C, F y G) y no astrocitos, lo que se confirmó con la detección inmunocitoquímica de GFAP (resultados no

mostrados). En la capa molecular, entre las células piramidales y granulares, únicamente se encontraron algunas células con señal positiva.



**Figura 44. Localización de ADH1 y ADH4 en la formación hipocámpal de rata mediante ISH.** Detección de ADH1 (A, B y C) y de ADH4 (E, F y G) en las regiones CA1-CA3 del hipocampo, capa granular de la circunvolución dentada, subículo e hilio. Células piramidales del *stratum pyramidale* del hipocampo (B y G), capa celular granular de la circunvolución dentada (C) y neuronas del subículo (F) a mayor aumento. Secciones control hibridadas con sondas sentido para ADH1 (D) y ADH4 (H). CA1, CA2 y CA3, regiones del hipocampo; DG, circunvolución dentada; g, células granulares; GL, capa granular de la circunvolución dentada; ML, capa molecular de la formación hipocámpal; Hil, hilio; py, células piramidales; S, subículo; sp, *stratum pyramidale* del hipocampo. Barras de calibración: A y E (mostrada en A), 800 y 400  $\mu\text{m}$ , respectivamente; B-D y F-H (mostrada en B), 50  $\mu\text{m}$ .

#### 1.3.4.3 Expresión de la ADH en la corteza cerebral

La superficie de los hemisferios cerebrales se divide en cuatro lóbulos, que reciben el mismo nombre que los huesos del cráneo que los protegen: frontal, parietal, temporal y occipital. La corteza o córtex cerebral, rodea los hemisferios cerebrales de manera similar a la corteza de un árbol, de forma que se halla muy plegada formando surcos (pequeñas muescas), cisuras (grandes surcos) y circunvoluciones (protuberancias localizadas entre dos surcos o cisuras adyacentes), lo que aumenta de manera

considerable su superficie. Básicamente, consiste en células gliales y en los cuerpos celulares de las neuronas, dendritas y axones de interconexión. Debido al predominio de cuerpos celulares, responsables del color marrón grisáceo de la corteza, ésta se denomina también sustancia gris, que tapiza la masa medular central de sustancia blanca donde millones de axones conectan las neuronas corticales con las localizadas en otras partes del SNC. Histológicamente, las neuronas de la corteza cerebral están divididas en cinco tipos morfológicos diferentes dispuestos en varias capas: las células piramidales, las estrelladas o granulares, las de Martinotti, las fusiformes y las horizontales de Cajal. En los mamíferos, estas neuronas esta dispuestas en seis capas: la capa plexiforme o molecular (I), la granular externa (II), la celular piramidal (III), la granular interna (IV), la gangliónica (V) y la capa celular multiforme (VI) (Fig. 45).

La expresión de ADH4 se encontró en gran número de neuronas de varias capas de la corteza cerebral frontal (Fig. 46B y D), mientras que esta región no presentó mRNA de ADH1 (Fig. 46A y C). Las capas medias fueron las que presentaron la mayoría de células con mRNA de ADH4, mientras que en la capa molecular (I) no apareció casi ninguna célula con señal positiva. No se detectó señal específica para ADH1 ni ADH4 en la sustancia blanca (Fig. 46A y B).

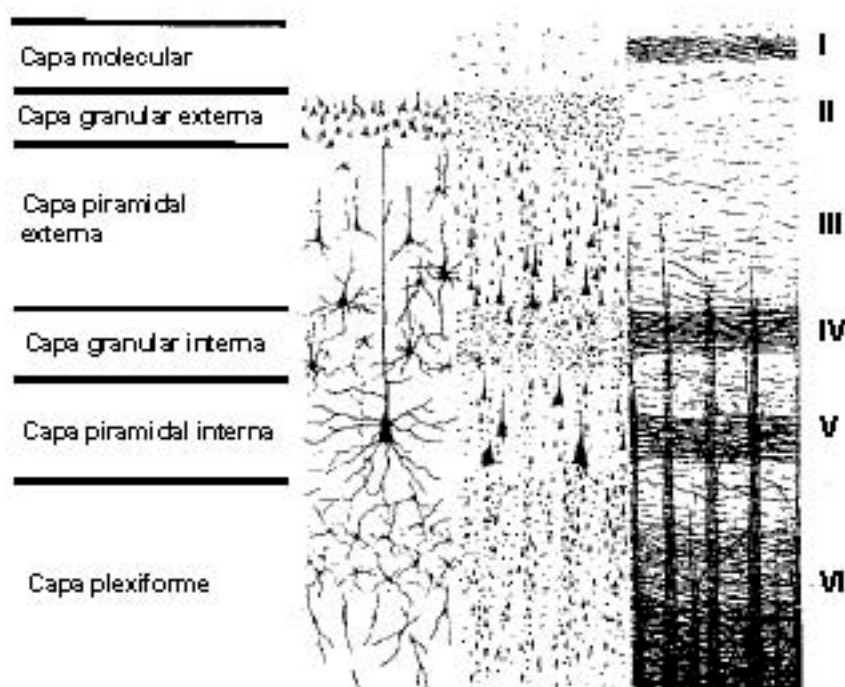
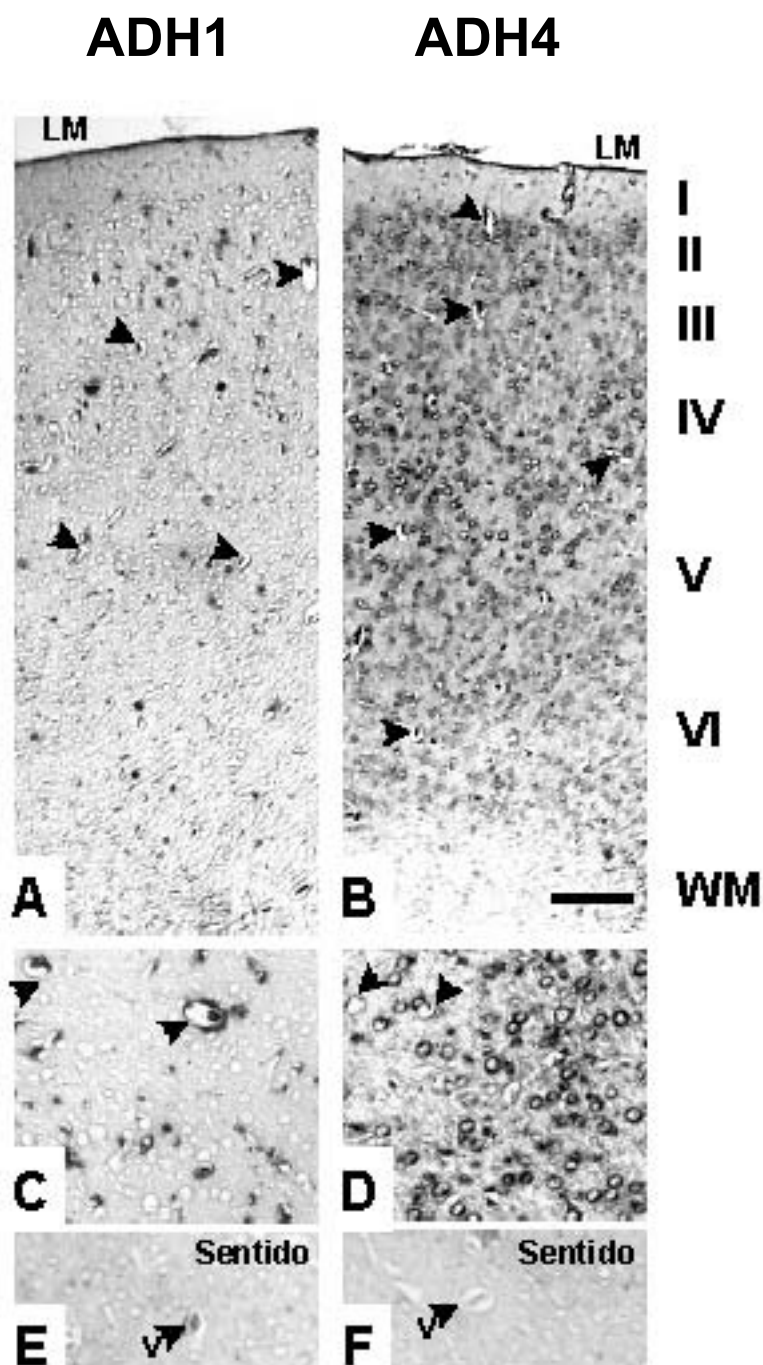


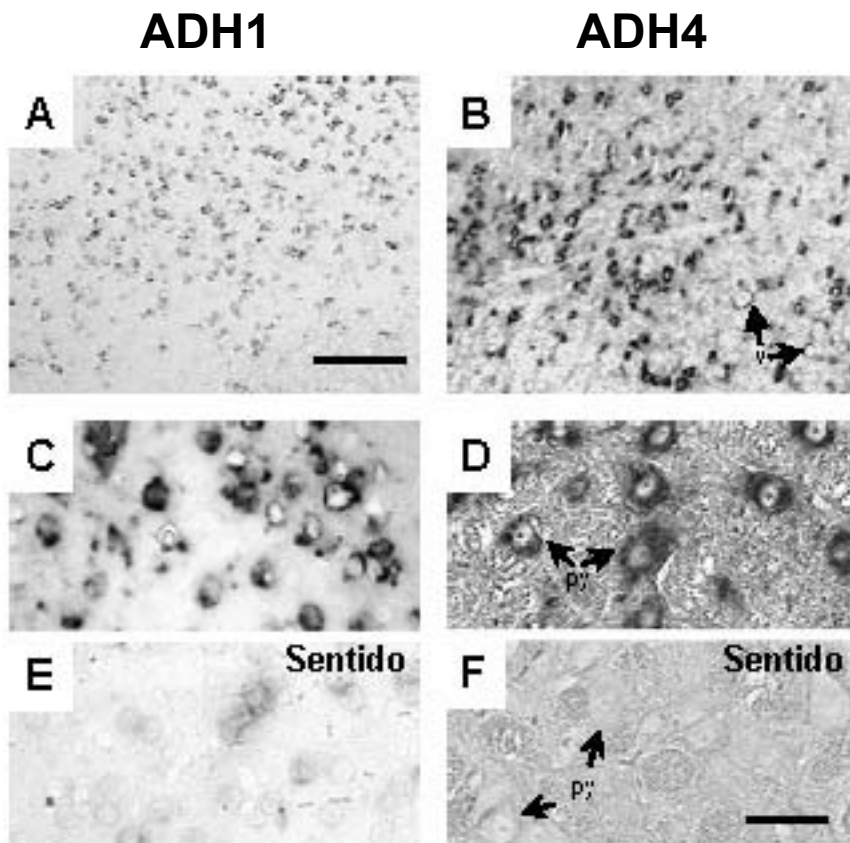
Figura 45. Esquema de la capas celulares de la corteza cerebral.



**Figura 46. Localización del mRNA de ADH1 y ADH4 en la corteza frontal de rata adulta mediante ISH.** Ausencia de ADH1 en las células de la corteza (A y C), mientras que numerosas células se tiñeron intensamente con la sonda antisentido para ADH4 (B y D). Secciones control de la corteza temporal hibridadas con sondas sentido para ADH1 (E) y ADH4 (F) no muestran señal. Las flechas indican presencia de vasos con señal positiva. I-VI, capas de la corteza cerebral; LM, leptomeninges; v, capilares sanguíneos; WM, sustancia blanca. Barra de calibración (mostrada en B): A y B, 100  $\mu$ m; C-F, 50  $\mu$ m.

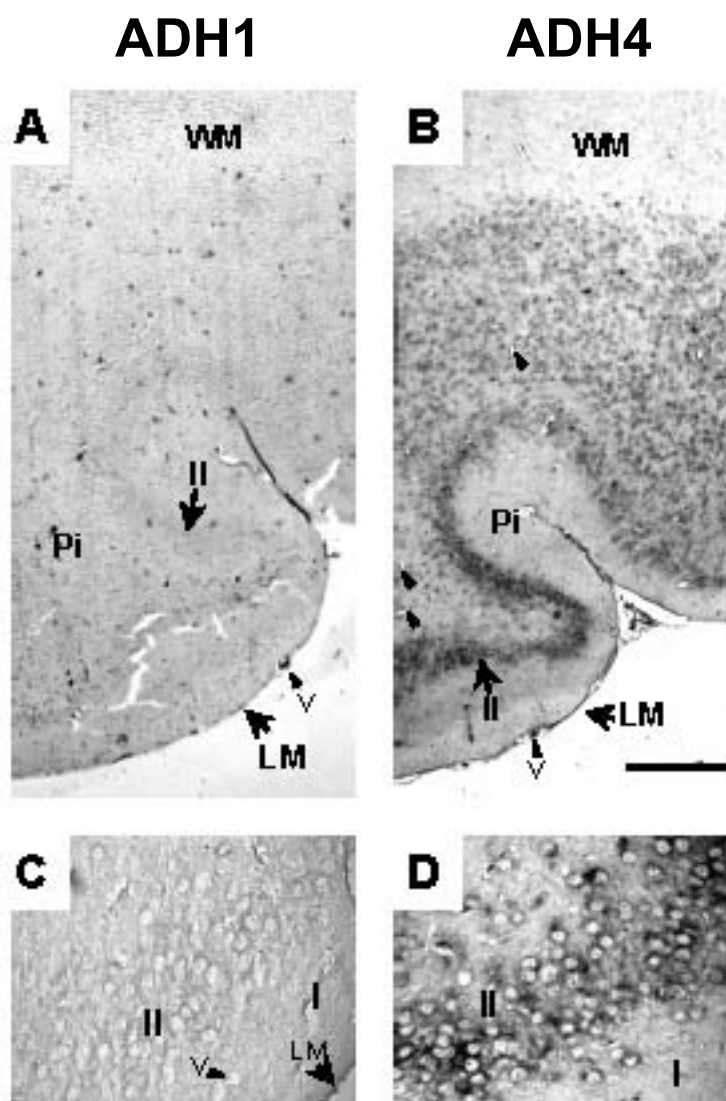
## Resultados

El análisis de la corteza temporal reveló la presencia de ADH1 en algunas células confinadas entre las capas granular (II) y gangliónica (V) (Fig. 47A y C). El mRNA de ADH4 también se localizó en células neuronales (seguramente células piramidales) de la corteza temporal y occipital (Fig. 47B y D, comparar con la lámina 113 de Paxinos y Watson, 1986).



**Figura 47. Localización del mRNA de ADH1 y ADH4 en la corteza temporal de rata adulta mediante ISH.** ADH1 se encontró en ciertas neuronas (A y C), mientras que ADH4 se detectó intensamente en las células piramidales (B y D). Secciones control de la corteza temporal hibridadas con las sondas sentido para ADH1 (E) y ADH4 (F) no mostraron señal. py, célula piramidal de la corteza cerebral; v, capilar. Barras de calibración: A y B (mostrada en A), 800  $\mu\text{m}$ ; C-F (mostrada en F), 50  $\mu\text{m}$ .

En la corteza piriforme no se detectó expresión de ADH1 (Fig. 48A y C), mientras que el mRNA de ADH4 se detectó de forma predominante en las células de la capa II (Fig. 48B y D).



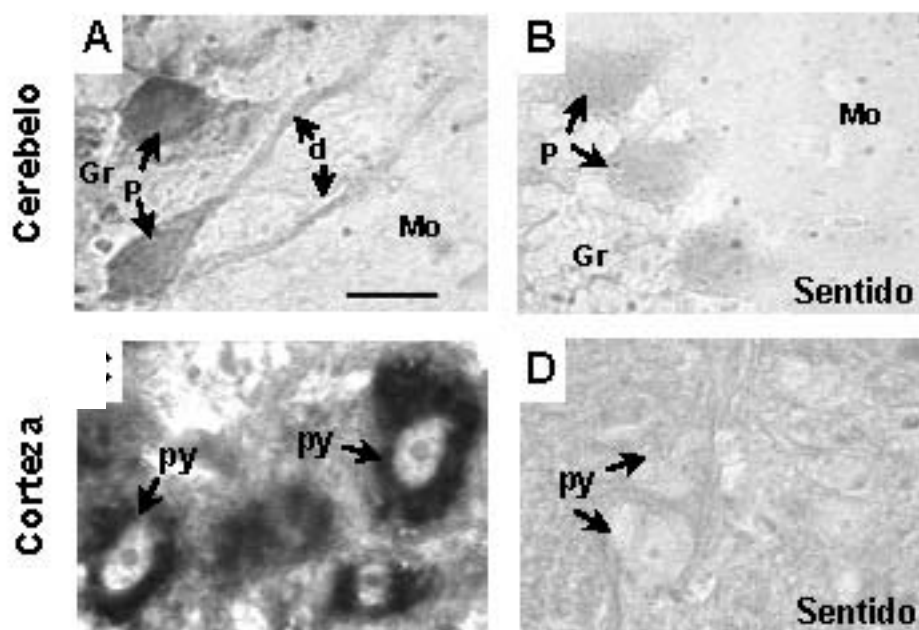
**Figura 48. Localización del mRNA de ADH1 y ADH4 en la corteza piriforme de rata adulta mediante ISH.** No se detectó expresión de ADH1 (A y C), mientras que gran número de células presentaron ADH4 con prominencia en la capa II (B y D). Pi, corteza piriforme; LM, leptomeninges; v, capilar sanguíneo. WM, sustancia blanca; I-II, capas I y II de la corteza piriforme. Barra de calibración (mostrada en B): A y B, 100  $\mu\text{m}$ ; C y D, 50  $\mu\text{m}$ .

#### 1.3.4.4 Localización celular y subcelular de los transcritos de ADH

La identificación de los tipos celulares se basó en el tamaño, la morfología (identificación del árbol dendrítico, estructura del citoplasma, etc), distribución y localización. Además, la tinción inmunocitoquímica de astrocitos con anticuerpos monoclonales contra GFAP, descartó la posibilidad de que la señal de ISH tanto para ADH1 como para ADH4 pudiese estar localizada en este tipo de célula glial.

## Resultados

En cuanto a la distribución celular de la señal, el mRNA de ADH se detectó en el pericarion y en el citoplasma del árbol dendrítico de las células neuronales. Esto se hizo evidente en las células de Purkinje de la corteza cerebelar (Fig. 38B y F; 41B y 49A) y en las células piramidales de la corteza cerebral e hipocampo (Fig. 44B y G; 46B y D; 47D y 49C), en cuyo citoplasma se detectó la señal de ISH coincidiendo con los gránulos de Nissl (retículo endoplasmático rugoso y ribosomas) donde tiene lugar la síntesis de proteínas. En las células de Purkinje, la localización de la señal de ISH en la desarrollada arborización dendrítica (Fig. 49A) podría contribuir a la tinción de fondo que se observó en algunos casos en la capa molecular de la corteza cerebelar, en la cual se localizan las extensas ramificaciones. De la misma manera, la tinción ADH4 observada alrededor de las células piramidales podría ser debida a las dendritas relativamente cortas que emergen de los cuerpos neuronales y están confinados a otros inmediatamente vecinos (Fig. 46D; 47D y 49C).



**Figura 49. Localización subcelular del mRNA de ADH4 mediante ISH.** Células de Purkinje del cerebelo (A) y células piramidales de la corteza temporal (C). Secciones control del cerebelo (B) y de la corteza temporal (D) hibridadas con las sondas sentido para ADH4. d, dendrita de célula de Purkinje; Gr, capa granulosa de la corteza cerebelar; Mo, capa molecular de la corteza cerebelar; py, célula piramidal; P, célula de Purkinje. Barras de calibración (mostrada en A): 20  $\mu$ m.

Por otra parte, es importante destacar que el examen cuidadoso de las secciones en el microscopio, mostró diferencias en la intensidad de señal entre las diferentes células de Purkinje. Es decir, se observaron células con señal positiva para la ISH (fuese ADH1 o ADH4) adyacentes a otras con menor intensidad o señal inexistente