

DESVELLANT ELS SECRETS DE LA MICRÒGLIA

BERNARDO CASTELLANO LÓPEZ I BERTA GONZÁLEZ DE MINGO

Unitat d'Histologia. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Unitat d'Histologia. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Biologia Cel·lular i Fisiologia. 08193 Bellaterra. Tel.: + 93 581 18 75. Fax: + 93 581 23 92.

INTRODUCCIÓ

El complex entramat cel·lular que compon el sistema nerviós central (SNC) de tots els vertebrats pot considerar-se constituït per dues classes de cèl·lules netament diferenciades, tant des del punt de vista histològic com fisiològic: les neurones i les cèl·lules de glia. Si bé clàssicament les neurones han estat considerades els elements cel·lulars més importants de l'SNC pel fet que constitueixen la base de la transmissió dels impulsos nerviosos, actualment els neurocientífics estan cada vegada més convençuts que les cèl·lules glials tenen un paper primordial actuant com a elements reguladors de la pròpia activitat, plasticitat i supervivència neuronal.

Entre els diferents tipus de cèl·lules glials descrits a l'SNC, els astròcits i els oligodendròcits constitueixen la població glial (macròglia) més nombrosa i més ben carac-

teritzada citològicament a partir d'estudis realitzats sobre talls histològics i també a partir de cultius cel·lulars *in vitro*. Des dels treballs clàssics desenvolupats per Cajal usant la tècnica de l'or sublimat (Cajal, 1916) es coneix que els astròcits, o cèl·lules estrel·lades, com el seu nom indica, són cèl·lules que es troben distribuïdes tant en la substància blanca com en la gris. Estudis morfològics demostren que les prolongacions astrocitàries participen en el recobriment dels capil·lars sanguinis que irriguen el teixit nerviós i en la formació de la membrana glial externa (Polak, 1965). Al neuròpil, ultraestructuralment, s'observa que les prolongacions astrocitàries estan estretament connectades amb els terminals sinàptics (Peters *et al.*, 1991). Els astròcits i les estirps glials associades com les cèl·lules endimòmiques (ependimòmiques i tanòmiques) que reco-

breixen els ventricles cerebrals, la glia de Bergmann al cerebel i les cèl·lules de Müller a la retina, aconpleixen un important paper estructural donant sosteniment a l'entramat nerviós, però alhora participen en moltes altres funcions (Fedoroff i Vernadakis, 1986a, c). Particularment, els astròcits s'han implicat en funcions tan diverses com l'eliminació del CO_2 (Kimelberg i Bourke, 1982), el control extracel·lular d'ions K^+ (Hertz, 1981; Landis, 1994; Pasantes-Morales *et al.*, 1994), i el metabolisme de certs neurotransmissors com l'àcid γ -amino-butíric (GABA) (Kelly i Dick, 1978; Fraser *et al.*, 1994), l'àcid glutàmic (Kaneko *et al.*, 1988; Erecinska, 1990) i la taurina i les amines biògenes (Federoff i Vernadakis, 1986b). D'altra banda, els astròcits estan considerats el magatzem d'energia de l'SNC, de forma que emmagatzemen glucogen en el seu citoplasma (Ibrahim, 1975), i quan es produeix una activitat neuronal intensa són els astròcits els qui aporten la glucosa necessària a les neurones actives (Eyre *et al.*, 1994).

Les cèl·lules d'oligodendròglia o oligodendrocits són cèl·lules amb una morfologia variable que es troben tant a la substància blanca, en relació amb les fibres nervioses, com a la substància gris, associades principalment a somes neuronals (Peters *et al.*, 1991). Així mateix, aquestes cèl·lules, que són les responsables de la síntesi i el manteniment de la mielina de les fibres nervioses (Wood i Bunge, 1984; Asou *et al.*, 1994, 1995), participen en el metabolisme neuronal aconpleint una important funció tròfica (Ludwin, 1979). D'altra banda, aquestes cèl·lules també prenen part en el control de la concentració iònica del medi extracel·lular (Langley *et al.*, 1980). Recentment, s'ha comprovat que, a més a més, els oligodendrocits presenten receptors per a certs neurotransmissors i hormones (Baas *et al.*, 1994), fet que suggereix que poden estar desenvolupant funcions encara no conegudes.

A més de les cèl·lules de macròglia, les anomenades cèl·lules de micròglia també constitueixen una part important de la població glial de l'SNC. Des del seu descobriment, aquestes cèl·lules han estat sempre una estirp glial enigmàtica, l'existència de la qual ha estat sempre molt debatuda i les funcions de la qual s'han mantingut obscures durant molt de temps. Tanmateix, avui, tot i ser un tipus cel·lular relativament poc estudiat, els treballs publicats l'última dècada indiquen que aquests elements gliers podrien ser la clau per explicar molts dels processos que es donen en l'entramat nerviós, incloent-hi l'etiologia d'algunes malalties neuronals (Castellano i González, 1991; Dickson *et al.*, 1991; Thomas, 1992).

Al llarg d'aquest capítol, volem plantejar quins han estat els principals enigmes associats amb les cèl·lules de micròglia i com s'han anat resolent. En el nostre laboratori estem treballant des de fa quinze anys en alguns d'aquests aspectes i els resultats obtinguts de les nostres investigacions han contribuït a desvetllar algunes d'aquestes qüestions.

DESCOBRIMENT DE LA MICRÒGLIA

El nom de «cèl·lula de micròglia» va ser concebut per Pío del Río Hortega a principis de segle (per a una revisió, Castellano i González de Mingo, 1995). Va ser aquest investigador qui, després d'una sèrie contínua de treballs, va poder demostrar que l'anomenat tercer element de Cajal (el primer element el representaven les neurones i el segon, l'astròglia) estava constituït alhora per dues estirps diferents: unes cèl·lules amb poques prolongacions que va denominar oligodendrocits (Río Hortega, 1921b), i unes cèl·lules amb característiques pròpies que va anomenar micròglia o microglíocits (Río Hortega, 1920a, 1924). Posteriorment, i en

honor seu, a les cèl·lules de micròglia s'ha aplicat també el nom de cèl·lules d'Hortega. Els extensos estudis sobre les cèl·lules de micròglia que va realitzar Río Hortega, i que van continuar alguns dels seus deixebles, es van basar en l'ús d'una tècnica específica que ell mateix va posar a punt: la tècnica del carbonat de plata amoniacal (Río Hortega, 1918). Durant més de 50 anys, aquesta tècnica, en la seva original i en les múltiples variants, ha estat l'única eina disponible per

visualitzar aquestes cèl·lules glials. La lectura dels treballs originals de Río Hortega té un interès particular, ja que es pot comprovar, amb sorpresa, que moltes de les observacions que es fan actualment amb tècniques més sofisticades i moltes de les hipòtesis que es barallen al voltant de les cèl·lules de micròglia ja van ser proposades per aquest investigador fa més de 70 anys (Río Hortega 1920*b, c, d, e*, 1925, 1932; Río Hortega i Penfield, 1927).

TAULA I. Principals marcadors proposats per a la detecció de micròglia. R: rata; M: ratolí; L: llangardaix; G: guatlla; H: home

Tècnica	Espècie	Micròglia ramificada	Micròglia reactiva	Referències
<i>Immunocitoquímica</i>				
OX-42 (C3R)	R	+	+	Perry i Gordon, 1987
OX-18 (MHC I)	R	-	+	Finsen <i>et al.</i> , 1993
OX-6 (MHC II)	R	-	+	Hayes <i>et al.</i> , 1987
W3/25 (CD4)	R	- +	+	Perry i Gordon, 1987
MUC 101-102	R	+	+	Gehrmann i Kreutzberg, 1991
ED2	R	- +	+	Graeber <i>et al.</i> , 1989
LCA (CD45)	R	- +	+	Morioka <i>et al.</i> , 1992
Fosfotirosina	R	+	+	Tillotson i Wood, 1989
Queratan sulfat	R	+	+	Bertolotto <i>et al.</i> , 1993
F4/80	M	+	+	Perry <i>et al.</i> , 1985
Mac-1	M	+	+	Matsumoto <i>et al.</i> , 1985
2.4 G2 (FcR)	M	+	+	Perry <i>et al.</i> , 1985
QH1	G	+	+	Cuadros <i>et al.</i> , 1992
EBM-11	H	+	+	Esiri i McGee, 1986
CR3/43 (HLA)	H	-	+	Graeber <i>et al.</i> , 1994
LN-1	H	+	- +	Miles i Chou, 1988
AMC-30	H	-	+	Cras <i>et al.</i> , 1990
Ki-M1P	H	+	+	Paulus <i>et al.</i> , 1992
<i>Histoquímica enzimàtica</i>				
NDPasa	L/R/M/H	+	+	Castellano <i>et al.</i> , 1991a
NTPasa	R/M/H	+	+	Ibrahim <i>et al.</i> , 1974
5'-Nucleotidasa	R/M/H	-	- +	Schoen <i>et al.</i> , 1992
PNPasa	R/M/H	+	+	Castellano <i>et al.</i> , 1990b
Fosfatasa àcida	R/M/H	-	- +	Jensen <i>et al.</i> , 1994
<i>Histoquímica de lectines</i>				
GSA-IB4	R/M	+	+	Streit i Kreutzberg, 1987
ML-1	R/H	+	+	Suzuki <i>et al.</i> , 1988
RCA-I	R/H	+	+	Mannoji <i>et al.</i> , 1986
LEA	L/R/M	+	+	Acarín <i>et al.</i> , 1994

Si bé la tècnica del carbonat de plata amoniacal de Río Hortega és un mètode que, en mans expertes, ofereix uns resultats magnífics, no sempre és fàcil de reproduir amb uns resultats acceptables, per això, molts investigadors han desistit en els intents de marcar la micròglia i han preferit l'estudi dels astròcits, la demostració dels quals és molt més gratificant. La manca de tècniques de marcatge alternatives justifica que durant molt de temps hagin quedat sense resposta moltes de les qüestions associades a la micròglia, com el seu origen, el paper que tenen aquestes cèl·lules en els processos de gliogènesi i neurogènesi, la seva funció en el cervell normal i el seu possible paper en els processos degeneratius i regeneratius.

TÈCNiques DE MARCATGE PER A LA DEMOSTRACIÓ DE MICRÒGLIA

El marcatge selectiu de les cèl·lules microglials no constitueix actualment una limitació important per al seu estudi (Castellano i González, 1996b). En aquests moments s'obtenen excel·lents resultats aplicant tècniques immunocitoquímiques basades en l'ús d'alguns anticossos dirigits contra macròfags (Taula I). Així i tot, convé tenir en compte que la utilització d'aquests anticossos específics està restringida a l'espècie contra la qual estan dirigits. Així, per exemple, l'anticòs OX-42 que reconeix el receptor de membrana C3bi en la micròglia de la rata (Perry i Gordon, 1987) no pot ser usat amb èxit en el ratolí o en el cervell humà, ja que per obtenir resultats similars han d'usar-se anticossos Mac-1 (Matsumoto *et al.*, 1985; De Groot *et al.*, 1992), i AMC-30 (Cras *et al.*, 1990), respectivament. Sobre la nostra experiència, dos dels millors marcadors microglials que hi ha actualment (Figura 1) són la tècnica histoquímica per a la demostració de l'ectoenzim nucleòsid difosfatasa (NDPasa)

(Castellano *et al.*, 1991a) i la tècnica histoquímica de la lectina del tomàquet, *Lycopersicon esculentum* aglutinina (LEA) (Acarín *et al.*, 1994). Ambdues tècniques presenten l'avantatge respecte de les tècniques immunocitoquímiques de poder-se utilitzar satisfactòriament per a la demostració de micròglia en diferents espècies. La tècnica de la NDPasa ofereix, d'altra banda, resultats excel·lents sobre mostres humanes i també pot aplicar-se amb èxit en estudis sobre cultius cel·lulars.

TIPUS DE MICRÒGLIA

L'ús de les diferents tècniques de marcatge selectiu en combinació amb mètodes de microscòpia òptica i electrònica ha permès la identificació i caracterització de les cèl·lules de micròglia en diferents espècies al llarg de l'escala filogenètica, i s'ha comprovat que aquestes cèl·lules es troben no només al cervell humà (Kelly *et al.*, 1988; Fujimoto *et al.*, 1989; Castellano *et al.*, 1990a; Dickson *et al.*, 1991) i al de mamífers (Vobrodt i Wisniewski, 1982; Schnitzer, 1989; Vela *et al.*, 1995a), sinó també en aus (Cuadros *et al.*, 1992), rèptils (Castellano *et al.*, 1991b; Plaza-Pérez *et al.*, 1996), peixos (Velasco *et al.*, 1995), amfibis (Vela *et al.*, 1989) i crustacis (Castellano *et al.*, 1984). En termes generals, hi ha certes diferències morfològiques quan es comparen els tipus cel·lulars entre les espècies, si bé dins del grup dels vertebrats la tipologia de les cèl·lules microglials a l'SNC adult normal obeeix sempre a un patró de cèl·lules ramificades.

D'estudis portats a terme en mamífers i preferentment en els animals experimentals més comuns com són la rata i el ratolí, es desprèn que la població microglial és molt plàstica i pot adoptar morfologies molt variades i diverses. Així, durant el desenvolupament de l'SNC o també després d'una lesió,

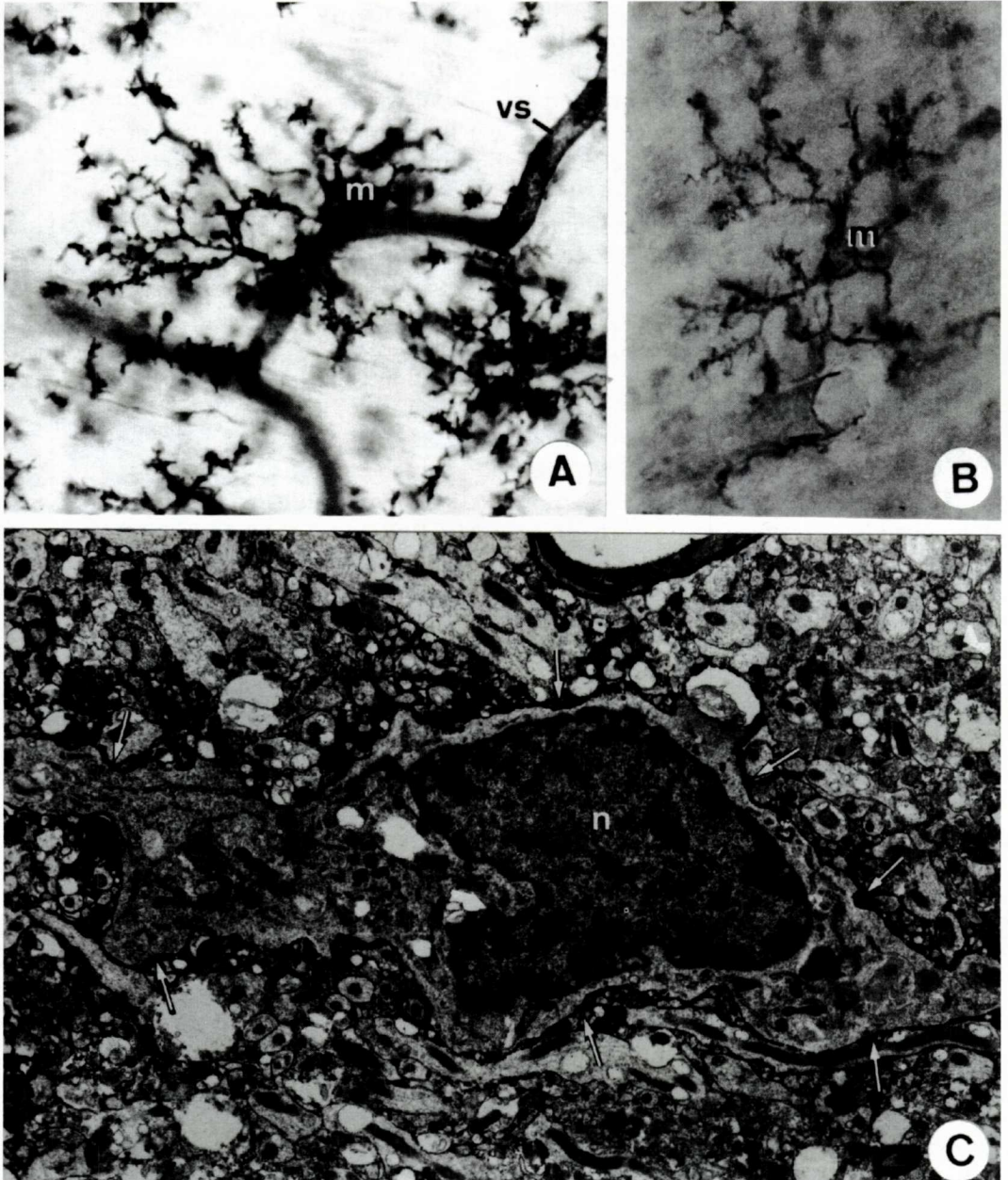


FIGURA 1. A: La tècnica histoquímica de la NDPasa marca específicament les cèl·lules de microglia (m). Els vasos sanguinis (vs) també mostren activitat enzimàtica. B: Tècnica histoquímica de la lectina del tomàquet per a la demostració de la microglia (m). C: La tècnica de la NDPasa pot ser utilitzada per marcar la microglia en estudis de microscòpia electrònica. (n): Nucli de la cèl·lula microglial. Les fletxes indiquen el dipòsit electrodens, producte de la reacció enzimàtica, al costat de la membrana citoplasmàtica de la cèl·lula microglial.

les cèl·lules de micròglia presenten una morfologia completament diferent a l'observada en el cervell adult en condicions normals. La diversitat de formes que poden adoptar aquestes cèl·lules ha originat una profusió terminològica per designar-les, sobretot en condicions patològiques, fet que ha contribuït moltes vegades a augmentar la confusió entre elles. Tot i no existir actualment un consens per designar els diferents tipus de micròglia, al llarg del capítol, basant-nos en les tendències actuals, utilitzarem la terminologia següent:

Micròglia ramificada: cèl·lules anomenades també micròglia normal o adulta (*resting microglia*) que es troben a les diferents regions de l'SNC adult normal amb una morfologia ramificada característica (Figura 1A, 3D).

Micròglia ameboide: població transitòria de cèl·lules que s'observa durant el desenvolupament embrionari i primera etapa postnatal (Figura 3A, B). Comprèn els subtipus micròglia ameboide arrodonida i micròglia ameboide pseudopòdica. Aquestes cèl·lules estan considerades com les precursoras de les formes adultes. En alguns estudis es fa referència a aquestes cèl·lules com a macròfags cerebrals.

Micròglia activada: cèl·lules de micròglia ramificada que mostren els primers signes de reactivitat incloent-hi canvis morfològics, expressió de nous antígens i canvis metabòlics amb síntesi i secreció d'algunes substàncies (Figura 4F, G). El terme de micròglia activada ha d'entendre's com un estat transitori d'alerta que pot retrocedir o bé desembocar en un grau de reactivitat superior.

Micròglia reactiva: cèl·lules procedents de la transformació de la micròglia ramificada després de ser activades (Figura 4H). Els fenotips de la micròglia reactiva són molt variats, amb graus de reactivitat i morfologies diverses: micròglia reactiva ameboide o

pseudopòdica, micròglia reactiva en bastó (*rod cells*), micròglia reactiva en matoll (*bushy cells*), etc.

Micròglia fagocítica: estat avançat de reactivitat microglial que culmina en la transformació en una cèl·lula macrofàgica.

Macròfags cerebrals: població heterogènia de cèl·lules que s'observa després d'una lesió experimental, processos inflamatoris o en el desenvolupament de certes malalties neurodegeneratives (Figura 5A). Poden provenir de la infiltració *de novo* de monòcits sanguinis o bé de la transformació de cèl·lules de micròglia reactiva.

ORIGEN I DIFERENCIACIÓ DE LA MICRÒGLIA EN EL CERVELL NORMAL

Avui dia, sobre la base d'estudis realitzats en diferents espècies, s'accepta que la població de cèl·lules microglials, tal com va suggerir inicialment Río Hortega (1920*d*; 1921*a*) té un origen mesodèrmic, i es descarta l'origen neuroepitelial reiteradament proposat per alguns investigadors (Rydberg, 1932; Vaughn i Peters, 1968; Oehmichen, 1982; Kitamura *et al.*, 1984; Hao *et al.*, 1991). Tot i coincidir en la naturalesa mesodèrmica, la procedència dels precursors microglials sembla ser heterogènia (Figura 2). S'ha postulat que aquestes cèl·lules precursoras poden provenir de les meninges (Cammeyer, 1970; Boya *et al.*, 1991), de perícits (Mori i Leblond, 1969; Baron i Gallego 1972), de macròfags ventriculars (Sturrock, 1978), o bé a partir de precursors derivats de la medul·la òssia (Hickey i Kimura, 1988), probablement relacionats amb cèl·lules d'estirp monocítica (Ling, 1979; Ling *et al.*, 1980). Les investigacions que estem realitzant actualment al nostre laboratori en el cervell de la rata (Dalmau *et al.*, 1997) donen suport a la hipòtesi a favor de l'origen monocític, tal

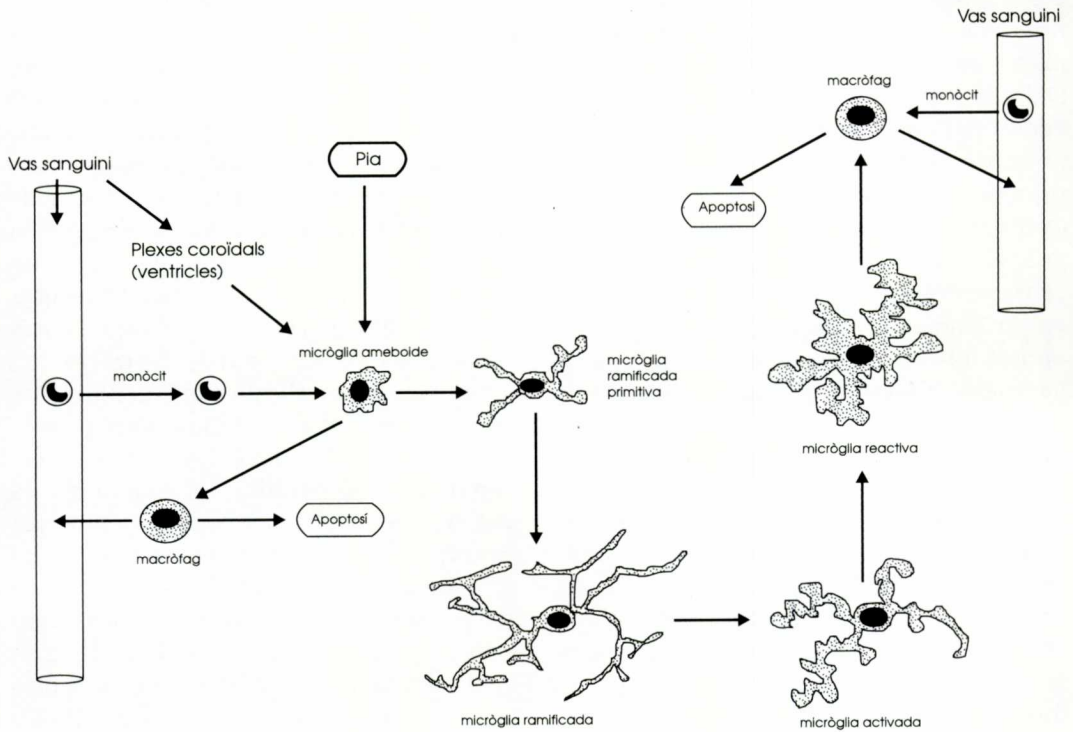


FIGURA 2. Esquema que resumeix l'origen, la diferenciació i la reactivitat de les cèl·lules de microglia.

com també suggereixen investigacions que s'han portat a terme en altres centres d'investigació (Imamoto i Leblond, 1978; Ling, 1981; Murabe i Sano, 1982*b*; Perry *et al.*, 1985; Ashwell, 1991; Chugani *et al.*, 1991). Segons les nostres observacions, l'entrada de monòcits sanguinis al parènquima nerviós es dona en les últimes etapes del desenvolupament embrionari mitjançant mecanismes de reconeixement mediat per molècules d'adhesió cel·lulars. Concretament, als últims dies de vida intrauterina hi ha expressió temporal del sistema LFA-1/ICAM-1 (Dalmau *et al.*, 1996*a*). Aquest sistema és un conegut mecanisme utilitzat pels leucòcits en el trànsit a

través de l'endoteli vascular per a la migració a l'interior dels teixits limfoides o a la resta de teixits en cas d'inflamació (Springer, 1990, 1994). Després de l'entrada al parènquima nerviós, els monòcits adopten la morfologia característica de cèl·lules ameboides (Río Hortega, 1921*a*) (Figura 3A, B).

L'intens increment de cèl·lules de microglia ameboide observat al cervell durant l'època postnatal inicial no pot atribuir-se, malgrat tot, a una entrada massiva de precursors sanguinis sinó que, més aviat, és degut a una intensa proliferació d'aquests elements un cop han colonitzat el teixit nerviós. La diferenciació d'aquestes cèl·lules de

micròglia ameboide fins a cèl·lules de micròglia ramificada és un procés que es dona ràpidament durant les dues primeres setmanes de vida postnatal (Perry *et al.*, 1985; Dalmau *et al.*, 1992; Wu *et al.*, 1993). Durant aquest període, es pot observar com les cèl·lules de micròglia ameboide, localitzades principalment a les àrees de substància blanca, migren envaint les àrees de substància gris, al mateix temps que els comencen a créixer unes prolongacions al principi curtes i gruixudes (micròglia ameboide pseudopòdica a la figura 3A) i després molt més llargues i primes (micròglia ramificada primitiva a la figura 3C), que s'internen en les esclotxes del neuròpil. Al llarg d'aquest procés de diferenciació, les cèl·lules de micròglia ameboide van perdent algunes característiques diferencials, com són l'expressió de certs enzims (Ling i Wong, 1993). També s'ha descrit que determinades expressions antigèniques de les cèl·lules de micròglia ameboide pateixen variacions importants durant aquest procés (Ling *et al.*, 1990; Ling *et al.*, 1991). Alguns estudis indiquen que no totes les cèl·lules ameboides arriben a diferenciar-se en cèl·lules de micròglia ramificada (Imamoto i Leblond, 1978; Wu *et al.*, 1992), i s'ha avaluat que les dues terceres parts de la població de cèl·lules ameboides desapareixen (Imamoto i Leblond, 1978), sense deixar clar si degeneren (Reid *et al.*, 1992; Gehrmann *et al.*, 1995) o bé abandonen el teixit nerviós.

La transformació de cèl·lules ameboides en micròglia ramificada, que es pot observar seqüencialment mitjançant l'estudi de talls histològics de diferents edats (Figura 3A-D), també es pot comprovar en estudis *in vitro*. La utilització de marcadors microglials específics aplicats a explantaments d'hipocamp en el desenvolupament de la rata (cultius organotípics), ens ha permès de seguir *in vitro* la transformació d'elements ameboides fins a micròglia ramificada (Castellano *et al.*,

1991c). Aquest procés de diferenciació *in vitro* es dona en un temps aproximat de 7-14 dies, que correspon al període de diferenciació observat *in vivo*. Aquesta mateixa diferenciació de la micròglia ameboide en micròglia ramificada pot observar-se també seqüencialment en cultius primaris gials mixtos. És interessant d'afegir que, segons indiquen les nostres observacions *in vitro*, la diferenciació de micròglia ramificada requereix sempre la presència d'astròcits. Aquesta és probablement la causa per la qual en els denominats cultius «purs» d'astròcits, on sempre hi ha una important població de cèl·lules microglials contaminants (Castellano *et al.*, 1991a), aquestes cèl·lules mostren un aspecte ramificat molt similar a les observades en talls histològics, mentre que en cultius purs de micròglia (sense la presència d'astròcits) les cèl·lules que s'observen són sempre cèl·lules arrodonides o amb molt poques ramificacions (Giulian i Baker, 1989), similars a la micròglia ameboide dels talls histològics.

La diferenciació microglial durant l'etapa postnatal presenta un cert paral·lelisme amb la diferenciació astroglial. Estudis de doble marcatge, utilitzant la LEA com a marcadors microglial i la GFAP com a marcadors astrocitari, demostren que hi ha una certa relació física entre les cèl·lules de micròglia ameboide i les prolongacions de la glia radial (precursors astrocitaris) (Dalmau *et al.*, 1997). S'ha suggerit que la diferenciació de les dues poblacions gials podria estar relacionada entre si mitjançant contactes específics cèl·lula-cèl·lula (Benveniste, 1993; McMillan, 1994). Es coneix, a més, que els astròcits alliberen diversos factors que controlen la diferenciació i la proliferació de les cèl·lules microglials (Frei *et al.*, 1986; Suzumura *et al.*, 1991; Ganter *et al.*, 1992). S'ha establert, d'altra banda, que les cèl·lules de micròglia poden secretar interleucina-1 (IL-1) (Giulian *et al.*, 1986; Giulian *et al.*,

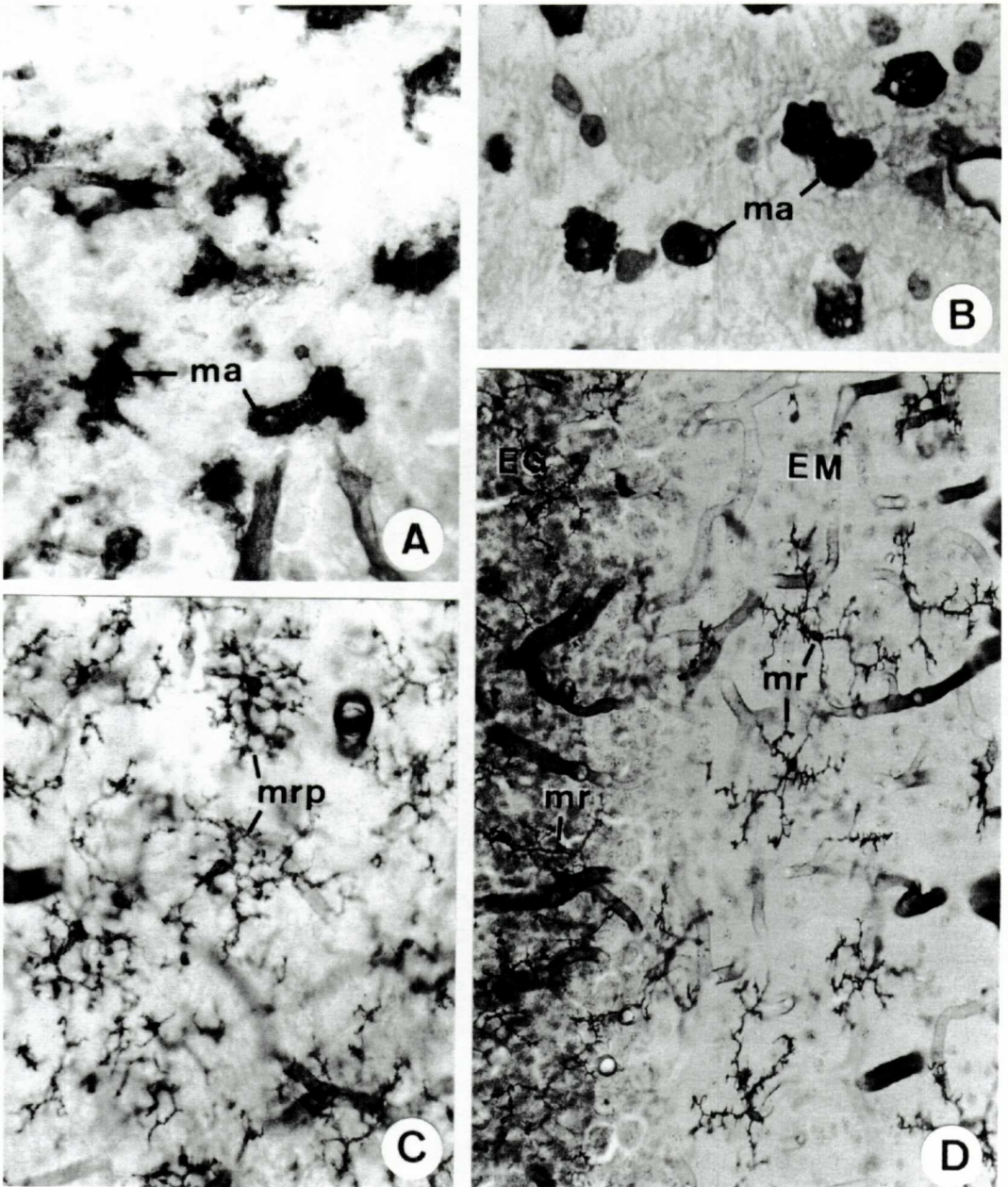


FIGURA 3. A: Cèl·lules de micròglia ameboide (ma) del tipus pseudopòdiques, marcades amb NDPasa, a l'hipocamp d'un embrió de rata. B: Cèl·lules de micròglia ameboide, marcades amb lectina de tomàquet, al cos callós de la rata postnatal en un tall semiprim contrastat amb blau de toluidina. C: Micròglia ramificada primitiva (mrp) a l'escorça cerebral de la rata postnatal. D: Micròglia ramificada adulta (mr) a l'escorça cerebel·losa del ratolí. (EG): Estrat granulós; (EM): estrat molecular.

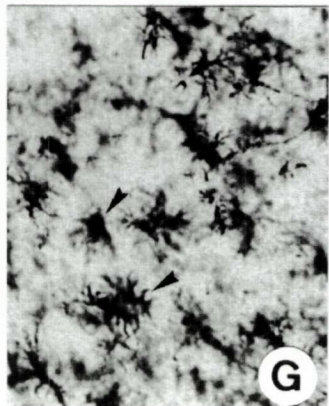
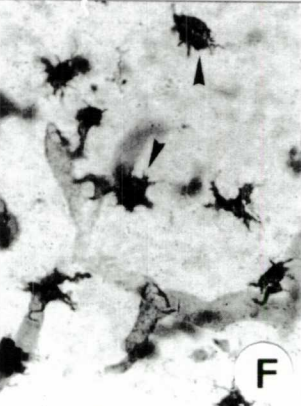
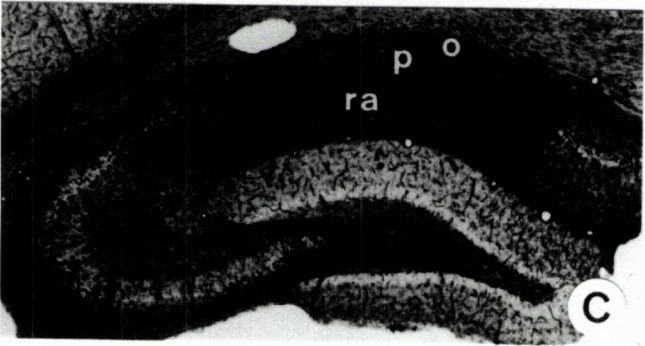
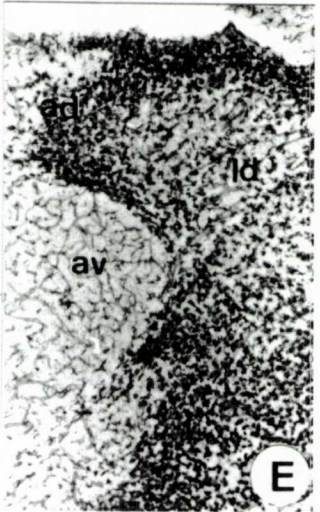
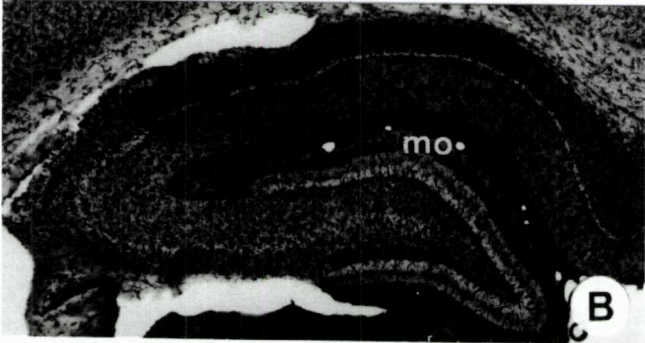
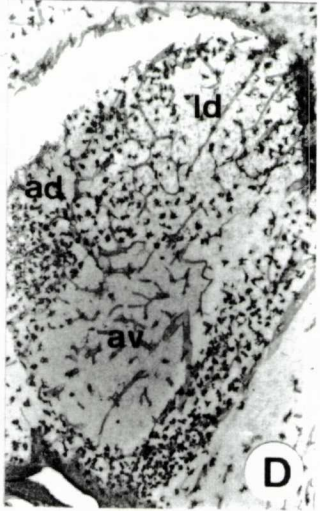
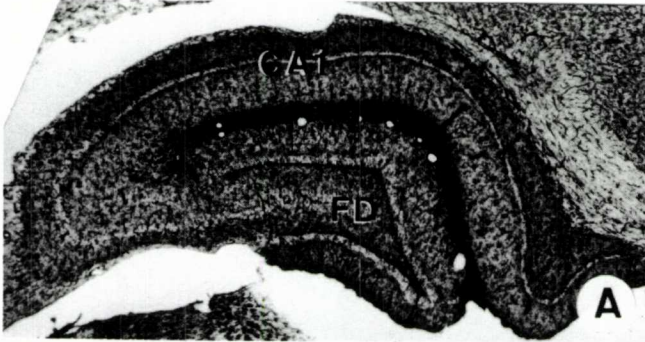


FIGURA 4 (pàg. 18) A: Formació hipocàmpica d'una rata adulta que mostra la distribució normal de la micròglia a les diferents regions (CA1, CA3) de l'hipocamp i fàscia dentada (FD). B: La lesió de l'escorça entorrinal produeix una degeneració anterògrada dels axons que arriben a l'estrat molecular (mo) de la FD. La reacció microglial queda restringida a aquest estrat. C: La injecció intraventricular d'àcid caínic provoca la mort específica de les neurones de la regió CA1 de l'hipocamp. La reacció microglial es restringeix a aquesta regió i és especialment intensa a l'estrat radiatum (ra); (p) estrat de somes piramidals; (o) estrat oriens. D i E: Nuclis talàmics d'un animal postnatal de sis dies lesionat mitjançant una injecció intracortical de NMDA. Al primer dia postlesió (D) es produeix una activació microglial específica als nuclis anterodorsal (ad) i laterodorsal (ld), mentre que no s'observa cap reacció al nucli anteroventral (av). Dos dies després (E) s'incrementa la reactivitat microglial, específicament als nuclis degenerats. F: Cèl·lules de micròglia activada a l'escorça cerebral d'una rata postnatal lesionada amb NMDA. G: Cèl·lules de micròglia activada al tàlem d'una rata adulta que expressa antigens MHC classe II després d'una lesió cortical per aspiració. H: Micròglia reactiva al tàlem d'una rata postnatal que expressa uns nivells alts de NDPasa.

1988), interleucina-6 (IL-6) (Frei *et al.*, 1989), factor de necrosi tumoral (TNF α) (Righi *et al.*, 1989; Sawada *et al.*, 1989) i altres mitògens (Giulian i Baker, 1985; Giulian *et al.*, 1991) que poden induir proliferació i activació d'astròcits. Aquestes observacions, en conjunt, indiquen que hi ha una íntima interrelació entre ambdues poblacions durant el procés de gliogènesi.

DISTRIBUCIÓ I MORFOLOGIA DE LES CÈL·LULES DE MICRÒGLIA AL CERVELL NORMAL

Una vegada complerta la migració i la diferenciació fins a cèl·lules ramificades, les cèl·lules de micròglia al cervell adult es troben àmpliament distribuïdes tant a la substància blanca com a la substància gris i cobreixen amb les seves ramificacions una part important de l'entramat nerviós. Quantitativament, s'ha estimat que la població microglial pot representar del 5 al 20% de la població glial dependent de l'àrea cerebral considerada (Perry i Gordon, 1991; Peters *et al.*, 1991). Al cervell humà i de mamífers les cèl·lules de micròglia estan presents en totes les àrees estudiades de cervell, cerebel i medul·la espinal. Així i tot, la distribució de les cèl·lules de micròglia no és completament homogènia en totes les localitzacions. En estudis realitzats en cerebel del ratolí (Vela *et al.*, 1995), s'ha pogut comprovar que

les cèl·lules de micròglia presenten una densitat cel·lular diferent en cadascuna de les diferents regions (Figura 3D). La menor densitat de cèl·lules, al voltant de 1.400 cèl·lules/mm³, s'observa en l'estrat molecular del còrtex cerebel·lós, seguides de l'estrat granular i la substància blanca amb valors aproximats de 3.300 i 4.000 cèl·lules/mm³, respectivament. La major densitat, al voltant de 6.000 cèl·lules/mm³, s'ha estimat en els nuclis cerebel·losos, on, curiosament, hi ha una major vascularització. Estudis anàlegs demostren que en altres àrees del cervell del ratolí amb una vascularització important, com ara la substància negra, també s'observa una alta densitat de cèl·lules de micròglia (Lawson *et al.*, 1990). Desconeixem quin pot ser el significat d'aquesta relació directa entre el grau de vascularització i la densitat de micròglia, però cal assenyalar que aquestes cèl·lules poden mantenir algunes vegades una estreta relació de proximitat amb els vasos sanguinis. Estudis ultraestructurals (Lassman *et al.*, 1991) demostren que aproximadament un 4-13 % del recobriment glial al voltant dels vasos sanguinis és degut a les prolongacions microglials i no només als peus astrocitaris, com es creia inicialment.

Existeixen poques dades sobre la distribució de les cèl·lules de micròglia en les diferents regions de l'SNC de vertebrats no mamífers. En aus, i concretament en guatelles, les cèl·lules microglials presenten una

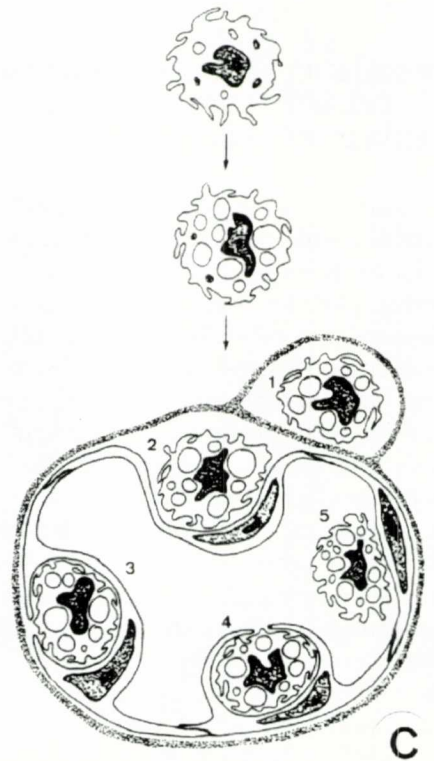
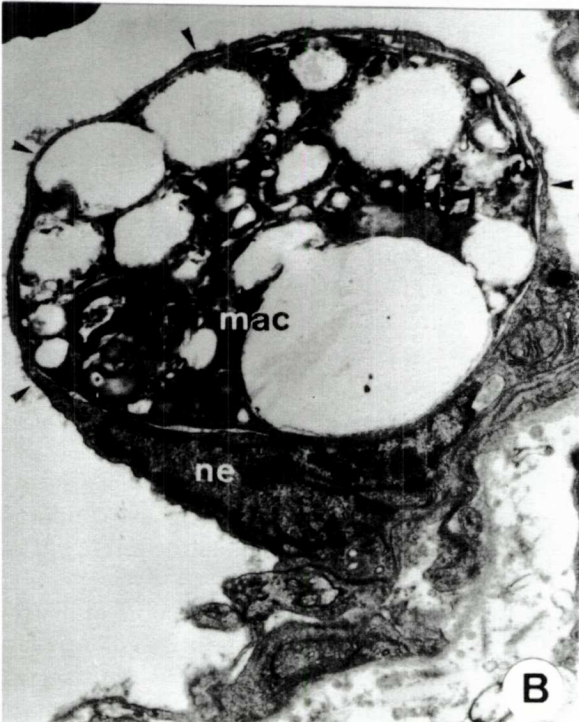
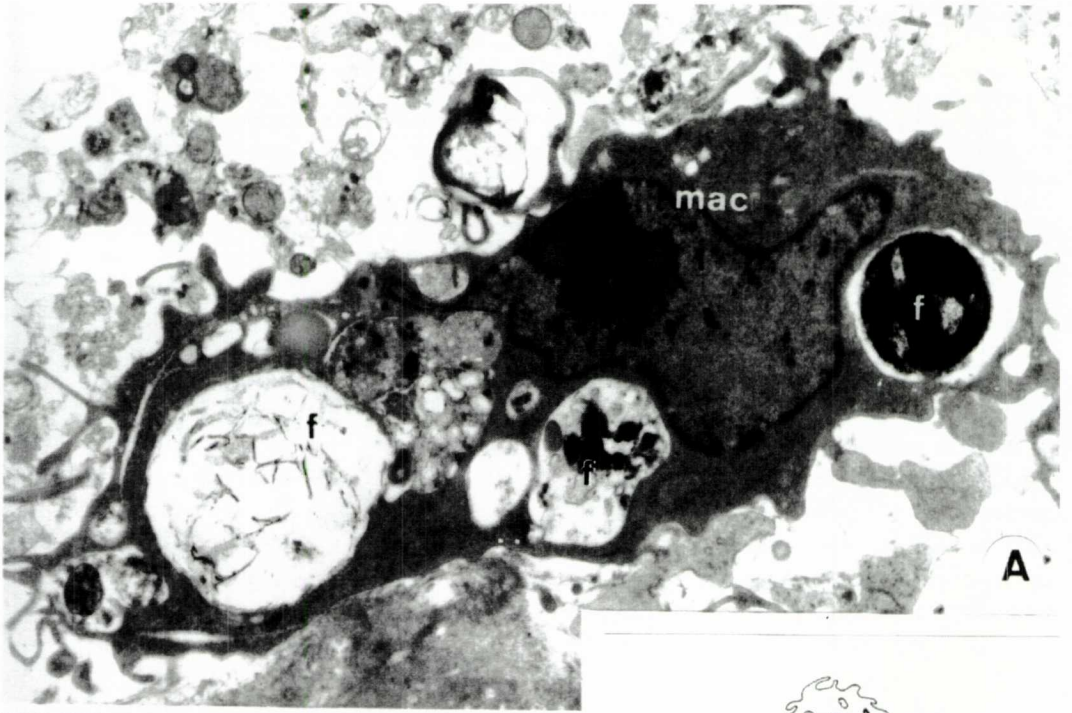


FIGURA 5 (pàg. 20) A: Macròfag cerebral (mac) amb vacúols fagocítics (f) que contenen material heterogeni. B: Macròfag cerebral (mac) reblert de vacúols fagocítics travessant l'endoteli d'una vènula postcapil·lar. Es pot observar com el citoplasma de la cèl·lula endotelial embolcalla completament (caps de fletxa) el macròfag; (ne): nucli de la cèl·lula endotelial. C: Esquema que mostra el mecanisme utilitzat pels macròfags per abandonar el teixit nerviós. Després de creuar la làmina basal (1), els macròfags són transportats per les cèl·lules endotelials fins a la llum del vas (2-4) i són alliberats (5).

distribució aparentment homogènia en les diferents àrees estudiades (Cuadros *et al.*, 1993, 1994). Per contra, en rèptils, estudis portats a terme en el telencèfal de llargardaixos demostren que la seva distribució és menys uniforme (Castellano *et al.*, 1991b). En el còrtex cerebral d'aquests animals, les cèl·lules de micròglia adopten un patró laminar de distribució, concentrant-se en algunes àrees, mentre que d'altres queden totalment lliures. Tot i caldre un estudi més exhaustiu, les nostres observacions suggereixen que hi ha una correlació estreta entre les àrees lliures de micròglia i la presència de camps rics en terminals glutamatèrgiques. La major concentració de cèl·lules microglials correspon, d'altra banda, a aquelles àrees on abunden els terminals serotoninèrgics. Aquestes observacions es correlacionen amb els resultats obtinguts en el cerebel de ratolí (Vela *et al.*, 1995a) però exigeixen una comprovació mitjançant tècniques combinades de doble marcatge.

Morfològicament, en condicions normals, les cèl·lules microglials a l'SNC de rèptils, aus i mamífers (incloent-hi els humans) presenten sempre una forma ramificada característica. És interessant d'assenyalar que cada cèl·lula de micròglia abasta amb el conjunt de les seves ramificacions un espai o volum de parènquima nerviós propi, en el qual no solen penetrar les prolongacions de les cèl·lules microglials veïnes (Castellano *et al.*, 1991a, b; Jensen *et al.*, 1994). Tècniques de doble marcatge demostren que no pot establir-se una correlació directa entre el patró de ramificació de les cèl·lules microglials i el patró de ramificació de la població astroglià, si bé, a vegades, es pot observar la presència

de parelles de cèl·lules micròglia-astroglia els cossos de les quals es troben en una estreta aposició. El significat d'aquestes parelles cel·lulars pot ser únicament circumstancial o acomplir una funció encara no determinada.

Estudis ultraestructurals (Murabe i Sano, 1982a) demostren que hi ha una estreta relació entre les prolongacions de les cèl·lules microglials i determinats terminals sinàptics que embolcallen. Aquestes observacions es corresponen amb alguns estudis que demostren que, sota certes condicions de dany neuronal, les cèl·lules de micròglia poden intervenir en el control de la plasticitat sinàptica desconnectant les neurones fins a la seva ulterior recuperació (Blizinger i Kreutzberg, 1968; Kreutzberg *et al.*, 1988; Graeber *et al.*, 1993), que permet posteriorment el restabliment sinàptic.

HI HA UN RECANVI (TURNOVER) DE LA POBLACIÓ MICROGLIAL?

Segons l'opinió d'alguns investigadors, hi ha indicis que suggereixen que les cèl·lules de micròglia es renoven amb una certa periodicitat, però, al nostre entendre, aquesta és una qüestió difícil de contestar de forma conclouent. En l'SNC adult de mamífers, les neurones són cèl·lules postmitòtiques que no retenen generalment la capacitat proliferativa. La neurogènesi postnatal és un fenomen restringit a determinades localitzacions com el bulb olfatori (Altman, 1969; Bayer i Altman, 1987), la fàscia dentada de l'hipocamp (Bayer, 1980; Bayer i Altman, 1987; Jacobson, 1991) i el cerebel (Palay i

Chan-Palay, 1974; Jacobson, 1991). En cervell de mamífers adults, la producció de neurones persisteix durant tota la vida en àrees determinades com és la zona sub-ventricular al telencèfal (Corotto *et al.*, 1993) i a l'hipotàlam (Seress, 1985). Recentment, també s'ha demostrat que en aus, i concretament en canaris, hi ha una neurogènesi periòdica associada al desenvolupament estacional dels nuclis del cant (Alvarez-Buylla *et al.*, 1990). Així mateix, a l'escorça cerebral dels llargardaixos hi ha una neurogènesi periòdica (López-García, 1993). Com a contrapartida, les cèl·lules de macròglia poden seguir dividint-se al llarg de tota la vida a totes les àrees de l'SNC, tot i que els nivells de proliferació en condicions normals són relativament baixos.

Respecte a les cèl·lules de micròglia, els estudis portats a terme en l'SNC del ratolí mitjançant la combinació de tècniques autoradiogràfiques amb timidina tritiada i anticossos F4/80 específics per a micròglia demostren que les cèl·lules microglials retenen la seva capacitat mitòtica, si bé el percentatge de cèl·lules doblement marcades és molt baix (Lawson *et al.*, 1992; Perry i Lawson, 1992). Els nostres estudis en l'SNC de la rata utilitzant anticossos específics per a la demostració de cèl·lules proliferes (PCNA) en combinació amb marcadors microglials com la NDPasa o la lectina del tomàquet, ens indiquen que el percentatge de cèl·lules de micròglia en divisió és molt alt al cervell postnatal durant les dues primeres setmanes, però que, a partir de la tercera setmana i al cervell adult, només a vegades s'observen cèl·lules de micròglia PCNA positives (González de Mingo *et al.*, 1995). Aquestes observacions indiquen que, en condicions normals, el grau de proliferació de les cèl·lules de micròglia ramificada és molt baix, i alguns autors pensen que el possible recanvi de les cèl·lules de micròglia s'hauria d'explicar en funció de l'entrada de nous monòcits

(Lawson *et al.*, 1992), tal com succeeix en altres òrgans no limfoides. Recentment, s'han donat a conèixer (Hickey, 1996) unes observacions que indiquen que el recanvi de les cèl·lules de micròglia al cervell de la rata en el termini de 60-90 dies, és inferior a l'1 %, molt per sota del dels macròfags ventriculars (20-40 %), de les cèl·lules perivasculares (50-60 %) i dels macròfags de les meninges (50-70 %).

Si el recanvi normal de les cèl·lules de micròglia al cervell adult es dona mitjançant l'entrada i diferenciació de monòcits sanguinis, aquest fet pot ser de gran importància per entendre la patogènesi d'algunes malalties neurals. Concretament, l'entrada d'alguns patògens a l'SNC (Williams i Blakemore, 1990) com el virus HIV-1 causant de la sida, també podria ocórrer utilitzant els monòcits, precursors de les cèl·lules microglials, com a cavalls de Troia (Dickson *et al.*, 1991).

FUNCIONS DE LES CÈL·LULES DE MICRÒGLIA AL CERVELL HUMÀ

Però, quin és el paper de les cèl·lules microglials? Quina és la funció o les funcions que acompleixen en l'entramat nerviós? A la població de cèl·lules ameboides observades durant el desenvolupament se'ls ha atribuït un paper fagocític, implicant-les en l'eliminació de fibres nervioses i cèl·lules en degeneració (Innocenti *et al.*, 1983a,b; Hume *et al.*, 1983; Ashwell, 1990, 1991; Ferrer *et al.*, 1990). Estudis histoquímics i ultra-estructurals revelen, a més, la presència d'enzims hidrolítics, lisosomes i vacúols de fagocitosi que suggereixen l'actuació de la micròglia ameboide com a cèl·lula fagocítica (Ling, 1977; Ling *et al.*, 1982; Tseng *et al.*, 1983). Estudis histoquímics que estem duent a terme utilitzant la tècnica per a la demostració de la fragmentació d'ADN *in situ* (tècnica de

la TUNEL) (Gavrieli *et al.*, 1992; Gold *et al.*, 1994) per al marcatge d'apoptosi o mort cel·lular programada (Willians *et al.*, 1992; Ferrer *et al.*, 1994, 1995; Vermes i Haanen, 1994), ens demostren que hi ha una associació entre aquestes cèl·lules ameboides i cèl·lules nervioses que degeneren de forma natural en el cervell postnatal (González de Mingo *et al.* 1995). S'ha observat una associació similar en la medul·la espinal del mutant desmielinitzat Jimpy, on al llarg de l'etapa postnatal s'observa una estreta relació entre les cèl·lules de micròglia reactiva (Vela *et al.*, 1995b) i els oligodendròcits apoptòtics (Vela *et al.*, 1996). Tot això reforça la hipòtesi que aquestes cèl·lules poden acomplir transitòriament una funció morfogènica de forma natural durant aquests períodes de desenvolupament de l'SNC. No obstant això, cal incidir que no està completament aclarida la qüestió de si aquesta població de cèl·lules ameboides és una població homogènia o, per contra, heterogènia (Castellano i González de Mingo, 1996a), constituïda per elements amb característiques morfològiques similars que inclourien d'una part, els vertaders precursors de la micròglia (cèl·lules predeterminades a diferenciar-se en cèl·lules ramificades) i de l'altra, una població transitòria de macròfags que posteriorment desapareixerien (De Groot *et al.*, 1992; Cuadros *et al.*, 1993; Ling i Wong, 1993; Richardson *et al.*, 1994).

Al cervell normal adult, la funció desenvolupada per les cèl·lules de micròglia ramificada no està determinada amb certesa (Perry i Gordon, 1991; Thomas, 1992). Sovint aquestes cèl·lules es consideren elements inerts (*quiescent microglia*), l'única missió de les quals en el cervell normal és esperar a reaccionar davant d'un procés lesiu o degeneratiu per transformar-se en macròfags (Jordan i Thomas, 1988; Perry i Gordon, 1991; Thomas, 1992). La hipòtesi que les cèl·lules de micròglia constitueixen

una xarxa d'immunovigilància en el teixit nerviós (Graeber i Streit, 1990; Gehrmann *et al.*, 1995) és un fet acceptat per la major part d'investigadors basant-se en diferents estudis que demostren que, després de la seva activació, les cèl·lules de micròglia poden sintetitzar i alliberar diferents citocines i factors de creixement (Giulian, 1990; Benveniste, 1992; Merrill, 1992; Piani *et al.*, 1994) i actuar com a cèl·lules presentadores d'antígens que regulen la resposta immunitària (DuBois *et al.*, 1985; Frei *et al.*, 1987; Suzumura *et al.*, 1987; Matsumoto *et al.*, 1992).

A més d'aquest important paper que poden tenir les cèl·lules de micròglia com a cèl·lules immunomoduladores i immunoeffectores quan són activades, hi ha nombrosos indicis que suggereixen que aquestes cèl·lules en el cervell normal estan implicades en el control de la concentració extracel·lular d'alguns neurotransmissors i neuromoduladors, i que intervenen, per tant, en la regulació de l'activitat sinàptica. Mitjançant tècniques histoenzimàtiques, es demostra que les cèl·lules de micròglia presenten el conjunt d'enzims necessaris per promoure la degradació dels fosfoèsters d'adenosina i fosfoèsters d'inosina fins a adenosina i inosina, respectivament. Dos d'aquests ectoenzims, la ATPasa i la nucleòsid difosfatasa (NDPasa) es troben en la membrana plasmàtica de la micròglia ramificada (Sjöstrand, 1966; Ibrahim *et al.*, 1974; Vorbrodt i Wisniewski, 1982; Castellano, 1987). Un altre enzim relacionat amb la degradació de la inosina, la nucleòsid fosforilasa (PNPasa), es troba en una localització nuclear i intracitoplasmàtica (Castellano *et al.*, 1990b). En micròglia ameboides i en l'activa/reactiva es detecta també l'expressió d'activitat 5'-nucleotidasa (Kreutzberg i Barron, 1978; Kreutzberg *et al.*, 1978; Jensen *et al.*, 1994). Les cèl·lules de micròglia presenten, per tant, la maquinària metabòlica necessària per controlar la concentració extracel·lular d'ade-

nosina, inosina i els seus nucleòtids corresponents. D'altra banda, s'ha suggerit que les cèl·lules de micròglia són capaces de detectar canvis en la concentració extracel·lular d'aquests components ja que posseeixen receptors purinèrgics (Waltz *et al.*, 1993; Neary *et al.*, 1996). Recentment, mitjançant l'experimentació *in vitro* hem demostrat que la població microglial també respon ràpidament als canvis de la concentració de nucleòtids cíclics (Dalmau *et al.*, 1996b). Els nostres estudis demostren que l'addició de dibutiril AMP cíclic a cultius gials mixtos d'astròcits i micròglia, a més d'induir una diferenciació en els astròcits, en correspondència amb altres estudis (Juurlink i Hertz, 1985; Le Prince *et al.*, 1991; Bruce *et al.*, 1992), produeix una dràstica disminució (al voltant del 80 %) de la població microglial que afecta principalment les cèl·lules de micròglia ramificada.

Segons la nostra opinió, la importància que té la implicació de les cèl·lules de micròglia en el control de la concentració extracel·lular de nucleòtids i nucleòtids encara no ha estat valorada suficientment. Com recentment s'assenyala en una excel·lent revisió (Neary *et al.*, 1996), les purines poden desenvolupar un important paper tròfic regulant la inducció de la diferenciació cel·lular i l'apoptosi, els canvis morfogenètics, l'estimulació de la síntesi i l'alliberació de citocines i altres factors. Potencialment, les variacions en la concentració extracel·lular de nucleòtids i nucleòtids podrien actuar controlant els mecanismes de diferenciació, divisió i apoptosi de neurones i cèl·lules gials.

Són ben coneguts, a través d'estudis *in vitro*, els efectes tròfics promoguts per l'adenosina o nucleòtids cíclics sobre les neurones, que provoquen un augment del creixement neural (Muñoz *et al.*, 1988; Stone, 1993; Backus *et al.*, 1994; Neary *et al.*, 1996). S'ha comprovat que, a més, els astròcits presenten purinoreceptors P1 per l'adenosina, i P2

per l'ATP i l'ADP, i que aquests compostos són capaços d'estimular l'activació astroglial promovent la seva divisió i l'increment dels filaments gials GFAP (Christjanson *et al.*, 1993; Hindley *et al.*, 1994; Walz *et al.*, 1994; Neary *et al.*, 1996). Els oligodendròcits també presenten receptors P2 (Neary *et al.*, 1996), fet que suggereix que els nucleòtids poden actuar també com a reguladors endògens sobre aquesta població glial.

Les cèl·lules microgials, a través del control de la concentració de nucleòtids en el medi extracel·lular, poden ser, per tant, els elements cel·lulars que controlen els processos de proliferació, diferenciació, supervivència i mort a l'SNC.

REACTIVITAT MICROGLIAL

L'activació i la reactivitat microglial comprèn el conjunt de canvis metabòlics i fenotípics observats a les cèl·lules de micròglia ramificada com a resposta davant d'un estímul. Aquest estat d'activació o reactivitat inicial pot ser transitori i manifestar-se únicament durant un període curt o bé desembocar en graus de reactivitat més avançats (Jørgensen *et al.*, 1993). En general, les cèl·lules de micròglia actives/reactives es caracteritzen morfològicament per una retracció de les seves prolongacions i engruiximent del cos cel·lular (Finsen *et al.*, 1993a; Jørgensen *et al.*, 1993; Vela *et al.*, 1995b; Sørensen *et al.*, 1996) (Figura 4F-H). En estats molt reactius, les cèl·lules de micròglia es tornen cèl·lules pseudopòdiques amb prolongacions curtes i gruixudes que poden recordar les formes ameboides que s'observen durant l'època embrionària i postnatal (Ling, 1981; Ling i Wong, 1993). A vegades, lligades sobretot a processos d'hipòxia, les cèl·lules de micròglia reactiva adopten formes allargades característiques (Jørgensen *et al.*, 1993), les anomenades cèl·lules en bas-

tó de Río Hortega (1920a). Totes aquestes formes reactives de micròglia demostren característicament un marcat increment de l'activitat enzimàtica relacionada amb el metabolisme de nucleòsids (Jørgensen *et al.*, 1993; Jensen *et al.*, 1994). Al mateix temps, s'observa un increment de la immunoreactivitat per certs antígens (Rinaman, 1991; Kaur i Ling, 1992; Finsen *et al.*, 1993a, b; Streit, 1993) i lectines (Acarín *et al.*, 1996a, b, 1997). Les cèl·lules de micròglia activa/reactiva poden sintetitzar i secretar interleucines i altres factors, incloent IL-1 (Woodrooffe *et al.*, 1991; Van Dam *et al.*, 1992; Yao *et al.*, 1992; Yabuuchi *et al.*, 1993), IL-3 (Gebicke-Haerter *et al.*, 1994), IL-6 (Woodrooffe *et al.*, 1991; Sawada *et al.*, 1992), IL-10 (Altman, 1994), TNF α (Hartung *et al.*, 1992), TGF β (Morgan *et al.*, 1993; Wiessner *et al.*, 1993; Lehmann *et al.*, 1995) i M-CSF (Altman, 1994), que estan implicats directament en la regulació del procés inflamatori o, fins i tot, poden actuar com a citotòxics (Hopkins i Rothwell, 1995; Rothwell i Hopkins, 1995). Les cèl·lules de micròglia reactives alliberen radicals lliures d'oxigen (Colton i Gilbert, 1993; Giulian i Corpuz, 1993; Giulian i Vaca, 1993; Giulian *et al.*, 1993b) i òxid nítric (Chao *et al.*, 1992), particularment després de ser estimulades per γ -IFN o TNF α (Zielasek *et al.*, 1992). Tant els radicals lliures com l'òxid nítric poden exercir efectes nocius sobre el teixit nerviós i promoure la neurodegeneració (Chao *et al.*, 1992; Schmidley, 1990). En estat reactiu, la micròglia també pot expressar antígens del complex major d'histocompatibilitat (MHC), de les classes I i II (Finsen *et al.*, 1991; Finsen *et al.*, 1993a, b) (Figura 4G), fet que dóna suport a la hipòtesi que poden actuar com a cèl·lules presentadores d'antígens.

En estat de màxima reactivitat les cèl·lules de micròglia poden arribar a transformar-se en macròfags, és a dir, cèl·lules especialitzades en la fagocitosi i «neteja» de les restes cel·lulars degenerades (Río Hortega, 1920e).

QUINS SÓN ELS FACTORS QUE INDUEIXEN L'ACTIVACIÓ MICROGLIAL?

Per arribar a comprendre el comportament de la micròglia és de vital importància determinar quins són els factors que en desencadenen l'activació i els diferents tipus de resposta. L'alliberació de factors d'origen neuronal o glial, l'entrada exògena de senyals associada a una ruptura de la barrera hematoencefàlica, combinacions d'ambdues o, simplement, pertorbacions transitòries de la concentració iònica extracel·lular, podrien ser els desencadenants en major o menor grau de l'activació microglial.

Com ja s'ha comentat anteriorment, els canvis en la concentració d'adenosina i d'altres nucleòtids podrien representar un senyal detectable per a les cèl·lules de micròglia. En relació amb aquesta hipòtesi cal tenir present que sempre que es produeix un dany neuronal hi ha una alliberació important de nucleòsids i nucleòtids al medi extracel·lular, especialment d'adenosina (Stone, 1993; Neary *et al.*, 1996), i probablement d'altres senyals encara no determinats (Takami *et al.*, 1992; Liu *et al.*, 1994). Els estudis que des de fa uns anys estem realitzant, que només han estat publicats de forma parcial (Castellano *et al.*, 1989b), indiquen que l'increment dels nivells extracel·lulars de tiamina i els seus fosfoèsters podrien actuar desencadenant l'activació microglial. Les cèl·lules de micròglia intervenen directament en la regulació dels fosfoèsters de tiamina (Castellano, 1987; Castellano *et al.*, 1988), i presenten a la membrana citoplasmàtica els enzims encarregats de la seva hidròlisi (Murabe i Sano, 1981; Castellano *et al.*, 1988, 1989a, b). La injecció de pirofosfat de tiamina (PT) en l'estrat piramidal de la regió CA1 de l'hipocamp de la rata produeix una ràpida activació de les cèl·lules de micròglia en aquesta regió dins les 24 hores

següents. En aquest temps, les cèl·lules de micròglia migren cap a l'estrat de somes, deixen completament despoblats els estrats radiatum i oriens, tornen a la seva localització original a les 48 hores següents i adopten novament una morfologia ramificada normal. Aquests resultats, tot i no ser encara concloents, ens indiquen que l'alliberació de compostos de tiamina d'origen neuronal podria activar la micròglia i promoure la migració.

Altres hipòtesis impliquen els astròcits com els elements cel·lulars que regulen l'activació de les cèl·lules microglials (Benveniste, 1993). Encara que és cert que els astròcits alliberen factors que poden induir o regular la proliferació microglial, la major part d'estudis portats a terme en models de lesió experimental demostren que l'activació astroglial acostuma a ser posterior a l'activació microglial (Dusart, 1991; Marty *et al.*, 1991; Jørgensen *et al.*, 1993). Els nostres estudis, duts a terme mitjançant diferents tipus de lesió, incloent-hi la injecció d'àcid caïníc (Jørgensen *et al.*, 1993), àcid ibotènic (González *et al.*, 1987), isquèmia cerebral (Jørgensen *et al.*, 1993), i lesió per aspiració (Yáñez *et al.*, 1996a, b), indiquen que l'activació astroglial avaluada en termes d'expressió *de novo* de vimentina i increment d'antigenicitat GFAP, acostuma a produir-se amb un retard de 48 hores respecte als primers signes que es manifesten en l'activació de les cèl·lules microglials. Aquests resultats que concorden amb els proposats per altres autors (Giulian i Corpuz, 1993; Giulian *et al.*, 1994), indiquen que probablement és la població microglial la inductora de l'activació astroglial primària, amb independència de si la resposta microglial subsegüent és modulada o no pels astròcits reactius. Estudis realitzats poques hores després d'haver-se efectuat una lesió demostren que les cèl·lules microglials reaccionen de forma quasi immediata (Jensen *et al.*, 1994; Acarín *et al.*,

1996a) sense que s'observin canvis apreciables en la població astroglial.

A causa de la complexitat de les interaccions moleculars que es donen després d'una lesió, és molt probable que l'activació i la reactivitat microglial siguin el resultat de les condicions degeneratives particulars desencadenades localment i del balanç entre els diferents senyals i els factors alliberats (Hopkins i Rothwell, 1995; Rothwell i Hopkins, 1995). Té, per tant, un interès primordial caracteritzar la resposta microglial associada a diferents tipus de lesions i, en cada cas, determinar les circumstàncies que comporten l'activació de les cèl·lules microglials. En aquest context, actualment estem analitzant la reactivitat microglial associada a àrees de degeneració primària i a àrees de degeneració anterògrada i retrògrada secundària en animals postnatsals i adults (Figura 4). Els resultats parcials obtinguts fins al moment indiquen que el patró temporal de reactivitat i proliferació microglial van sempre lligats al tipus de degeneració promoguda i a la susceptibilitat o maduresa de l'àrea cerebral afectada (Acarín *et al.*, 1996a, 1997; Yáñez *et al.*, 1996a). Els factors implicats en l'activació microglial en cadascuna de les àrees són, en aquests moments, el nostre principal objectiu.

LA MICRÒGLIA COM A CÈL·LULES FAGOCÍTIQUES

Després d'una lesió traumàtica o sota altres condicions neurodegeneratives, el teixit nerviós s'observa envaït per una extensa població de macròfags (Figura 5A) que desenvolupen una extensa funció de neteja fagocitant les restes cel·lulars (Adams *et al.*, 1984). La naturalesa d'aquests macròfags és discutida, tot i que generalment s'accepta que poden tenir origen en les pròpies cèl·lules de micròglia reactives o derivar de

l'entrada de monòcits sanguinis (Kaur *et al.*, 1987; Coffey *et al.*, 1990; Milligan *et al.*, 1991) (Figura 2). Recentment, s'ha descrit que les cèl·lules de micròglia ameboide durant l'ontogènia i les cèl·lules de micròglia reactiva després d'una lesió per injecció d'àcid caínic, alliberen factors quimiotàctics com la trombospondina i β -quimioquinas que actuen atraient els macròfags (Chamak *et al.*, 1994, 1995). Tot i els innumerable esforços per trobar marcadors diferencials, encara no hi ha tècniques que permetin distingir selectivament entre macròfags derivats de monòcits infiltrats i macròfags que poguessin derivar de cèl·lules microglials reactives. En diversos estudis s'ha pogut comprovar que en aquelles lesions experimentals que impliquen la ruptura de la barrera hematoencefàlica i el trencament de vasos sanguinis, els macròfags cerebrals (en aquest cas probablement derivats de la sang) realitzen una ràpida i eficient acció de neteja de les zones danyades (Kaur *et al.*, 1987; Milligan *et al.*, 1991; Perry i Gordon, 1991; Finsen *et al.*, 1996).

Tanmateix, en altres tipus de lesions, com en models d'hipòxia-isquèmia en què no es produeix una inflamació del teixit, els elements cel·lulars degenerats poden perdurar durant molt de temps sense ser fagocitats, tot i haver-hi una intensa reactivitat microglial (Finsen *et al.*, 1996). Aquestes observacions podrien qüestionar la intensa capacitat fagocítica que normalment s'atribueix a les cèl·lules microglials. En aquest sentit, alguns estudis indiquen que, en determinades circumstàncies, són els astròcits els qui actuen com a cèl·lules fagocítiques (Vaughn i Pease, 1970; Kusaka *et al.* 1986). Recentment, s'ha pogut comprovar que l'extensa degeneració neuronal promoguda en el còrtex cerebral de *Podarcis* després de la injecció intraperitoneal de 3-acetil-piridina comporta una ràpida acció fagocítica de les restes neuronals, que no és realitzada per les cèl·

lules de micròglia sinó per cèl·lules ependimàries (López-García *et al.*, 1994). També en amfibis s'ha comprovat que l'eliminació d'axons degenerats és realitzada per cèl·lules de l'estirp ependimoastroglial, sense la intervenció de les cèl·lules de micròglia (Turner i Singer, 1975; Steensaas, 1983; Zammit *et al.*, 1993).

EL DESTÍ DELS MACRÒFAGS CEREBRALS

Independentment de quina sigui la seva procedència, hi ha qüestions relacionades amb els macròfags cerebrals encara no resoltes: Quin és el seu destí? Reverteixen en cèl·lules de micròglia ramificada? Degeneren o bé abandonen el teixit nerviós? Fins ara, no s'ha pogut donar una resposta definitiva a aquests interrogants. De fet, les mateixes preguntes es poden plantejar amb relació a la població ameboide present al cervell postnatal. Com ja s'ha comentat anteriorment, només una tercera part d'aquesta població de cèl·lules ameboides es diferencia en cèl·lules de micròglia ramificada sense que quedi clar quin és el destí final de la resta de la població. Atenent observacions recents, no publicades fins ara, hem pogut constatar que hi ha dos períodes en l'escorça cerebral de la rata, corresponents al desenvolupament embrionari (E16-E18) i a la primera setmana postnatal (P5-P7), on es poden observar de forma ocasional la presència d'acumulació de cèl·lules fagocítiques al voltant d'alguns vasos sanguinis, fet que suggereix que aquesta podria ser la via de sortida d'aquestes cèl·lules. En correspondència amb aquestes observacions, en lesions experimentals realitzades a l'escorça cerebral de guatlles adultes mitjançant la focalització d'un làser d'Argó (González *et al.*, 1985; 1988), s'ha pogut comprovar que, després de la intensa fago-

citosi duta a terme al voltant de la lesió primària, els macròfags cerebrals s'acumulen prop d'alguns vasos sanguinis, concretament de vènules post-capil·lars. L'estudi detallat d'aquestes àrees mitjançant microscòpia electrònica demostra un intens trànsit cel·lular a través de l'endoteli vascular (Figura 5B). Inicialment, els macròfags carregats de cossos densos i vacúols fagocítics s'acumulen a l'espai peri-vascular i, a continuació, travessen la làmina basal i entren en contacte directe amb les cèl·lules endotelials. En aquesta localització, els macròfags són englobats pel citoplasma de les cèl·lules endotelials i són transportats fins a la llum del vas. Aquest mecanisme de trànsit cel·lular a través de vènules postcapil·lars (Figura 5C), que té certa homologia amb el que s'ha descrit en altres òrgans, requereix ser corroborat a l'SNC de mamífers. En estudis d'hipòxia-isquèmia realitzats en hipocamp de rata (Jørgensen *et al.*, 1993), no hem pogut observar fins ara imatges similars que indiquin que aquest procés es porti a terme en aquests animals, però hem pogut comprovar, en canvi, amb microscòpia electrònica, la presència de macròfags amb cromatina condensada susceptibles de degeneració (Finsen *et al.*, 1996). De fet, alguns investigadors assenyalen el mecanisme d'apoptosi com una possible via d'eliminació d'aquestes cèl·lules (Reid *et al.*, 1993; Gehrmann i Banati, 1995).

NEUROPROTECCIÓ O CITOTOXICITAT?

A més del possible paper com a cèl·lules fagocítiques, resulta difícil establir clarament quina és la implicació de les cèl·lules microglials en les processos degeneratius i regeneratius de l'SNC. Sobre la base de les dades publicades a la bibliografia, les cèl·lules de micròglia poden tenir un doble paper a fa-

vor o en detriment de la integritat del teixit nerviós (Mallat i Chamak, 1994, Chao *et al.*, 1995; Acarín *et al.*, 1996a). Resulta significatiu que, quan es compara la funció de les cèl·lules de micròglia amb la desenvolupada pels astròcits, es tendeix a presentar les cèl·lules microglials com a elements citotòxics capaços d'induir la mort neuronal, en contraposició amb el paper neuroprotector que desenvolupa l'astròglia. Aquesta funció de neuroprotecció assignada als astròcits es basa en la capacitat que presenten aquestes cèl·lules d'alliberar factors neurotròfics (Müller *et al.*, 1995), mentre que les cèl·lules de micròglia poden secretar glutamat (Piani *et al.*, 1991; Streit, 1993); òxid nítric (Chao *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1993); metabòlits de l'àcid araquidònic (Hartung *et al.*, 1992) incloent-hi leucotriens (Matsuo *et al.*, 1995), prostaglandines (Matsuo *et al.*, 1995) i tromboxans (Giulian i Corpuz, 1993); proteases (Nakijama i Kohsaka, 1993); espècies d'oxigen reactives (Colton i Gilbert, 1993; Giulian i Corpuz, 1993), i altres factors (Piani *et al.*, 1992; Giulian *et al.*, 1993a, b) que, de manera directa o indirecta, poden induir la mort neuronal.

Però també s'ha de tenir present que algunes de les substàncies sintetitzades i alliberades per les cèl·lules de micròglia poden, en funció de la seva concentració, actuar com a factors neurotròfics. S'ha demostrat la capacitat de secreció del factor bàsic de creixement dels fibroblasts (bFGF) per les cèl·lules de micròglia tant en experimentació *in vitro* (Nakajima i Kohsaka, 1993) com *in vivo* després d'una lesió (Frautschy *et al.*, 1991). El tractament amb bFGF incrementa la resistència de les neurones enfront de l'agressió produïda per excitotòxics (Mattson i Rychlick, 1990; Nozaki *et al.*, 1993) i indueix proliferació astrocitària i angi-gènesi (Gómez-Pinilla *et al.*, 1992; Rothwell i Relton, 1993). Després de diversos tipus de lesions, les cèl·lules de micrò-

glia produeixen el factor de creixement transformant (TGF- β) que podria tenir un paper neuro-protector sobre el teixit nerviós, tal com es desprèn d'articles de revisió recents en què s'atribueix a aquesta substància un paper fonamental en la regulació del dany tissular, promovent els processos regeneratius (Rothwell i Relton, 1993; Rothwell i Hopkins, 1995). Estudis *in vitro* demostren també que les cèl·lules de micròglia poden produir neurotrofines com la NT-3, que està implicada en la diferenciació neuronal i actua com un factor de supervivència per a determinades poblacions neuronals (Rodríguez-Tébar *et al.*, 1992; De la Rosa *et al.*, 1994).

Actualment, és difícil concloure si les cèl·lules microgials tenen un paper neuro-protector o neurotòxic i és necessari per tant el disseny de més estudis experimentals que ajudin a desvetllar el paper desenvolupat per aquestes cèl·lules a l'SNC.

AGRAÏMENTS

Gran part de les observacions que s'exposen en aquest treball constitueixen els resultats de les tesis doctorals realitzades per: Laia Acarín i Pérez, Ishar Dalmau i Santamaria, José Miguel Vela Hernández i Angela Yáñez Medina. L'ajuda tècnica prestada per Miguel Angel Martil García ha estat fonamental. Alguns dels resultats que es presenten són fruit de la col·laboració amb l'equip del Dr. Jens Zimmer, de la Universitat d'Odense (Dinamarca), amb el Dr. Carlos López de la Universitat de València, i amb el Dr. Anthony Castro de la Universitat de Loyola a Chicago (EUA). Les subvencions concedides per la Universitat Autònoma de Barcelona, la Direcció General de Recerca (Generalitat de Catalunya), la Fundació "la Caixa" i DGICYT (PB92-0598 i PB95-0662), han finançat aquests projectes.

BIBLIOGRAFIA

- ACARIN, L.; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO; A. J. CASTRO (1996a). «Microglial response to N-methyl-D-aspartate-mediated excitotoxicity in the immature rat brain». *J. Comp. Neurol.*, núm. 367, pàg. 361-374.
- (1997). «Quantitative analysis of microglial reaction to a cortical excitotoxic lesion in the early postnatal brain». *J. Exper. Neurol.* [En premsa]
- ACARIN, L.; B. GONZÁLEZ; A. J. CASTRO; B. CASTELLANO (1996b). «Astroglial and microglial response in the thalamus after an excitotoxic neocortical lesion in the young brain». *Second European Meeting on Glial Cell Function in Health and Disease*. Arcachon, abril, pàg. 22.
- ACARIN, L.; J. M. VELA; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1994). «Demonstration of poly-N-acetyl lactosamine residues in ameboid and ramified microglial cells in rat brain by tomato lectin binding». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 42, pàg. 1033-1041.
- ADAMS, J. H.; J. A. N. CORSELI; L. W. DUCHEN (1984). *Greenfield's neuropathology*. London: Edward Arnold.
- ALTMAN, J. (1969). «Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb». *J. Comp. Neurol.*, núm. 137, pàg. 433-458.
- (1994). «Microglia emerge from the fog». *Trends Neurosci.*, núm. 17, pàg. 47-49.
- ÁLVAREZ-BUYLLA, A.; M. THEELEN; F. NOTTEBOHM (1990). «Proliferation "hot spots" in adult avian ventricular zone reveal radial cell division». *Neuron*, núm. 5, pàg. 101-109.
- ASHWELL, K. (1990). «Microglia and cell death in the developing mouse cerebellum». *Dev. Brain Res.*, núm. 55, pàg. 219-230.
- (1991). «The distribution of microglial and cell death in the fetal rat forebrain». *Dev. Brain Res.*, núm. 58, pàg. 1-12.
- ASOU, H.; K. HAMADA; T. MIYAZAKI; T. SAKOTA; K. HAYASHI; Y. TAKEDA; S. MARRET; B. DELPECH; K. ITOH; K. UYEMURA (1995). «CNS myelinogenesis *in vitro*: time course and pattern of rat oligodendrocyte development». *J. Neurosci. Res.*, núm. 40, pàg. 519-534.
- ASOU, H.; K. HAMADA; K. UYEMURA; T. SAKOTA; K. HAYASHI (1994). «How do oligodendrocytes ensheath and myelinate nerve fibers?». *Brain Res. Bull.*, núm. 35, pàg. 359-365.
- BAAS, D.; C. FRESSINAUD; M. E. ITTEL; A. REEBER; D. DALECON; J. PUYMIRAT; L.-L. SARLIEVE (1994). «Expression of thyroid-hormone receptor isoforms in rat oligodendrocyte cultures. Effect of 3, 5, 3'-trio-

- do-L-Thyronine». *Neurosci. Lett.*, núm. 176, pàg. 47-51.
- BACKUS, K. H.; S. BRAUM; F. LOHNER; J. W. DEITMER (1994). «Neuronal responses to purinoceptor agonists in the leech central nervous system». *J. Neurobiol.*, núm. 25, pàg. 1283-1292.
- BARON, M.; A. GALLEGRO (1972). «The relation of the microglia with the pericytes in the cat cerebral cortex». *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, núm. 128, pàg. 42-57.
- BAYER, S. A. (1980). «Development of the hippocampal region in the rat. I. Neurogenesis examined with ^3H -thymidine autoradiography». *J. Comp. Neurol.*, núm. 190, pàg. 87-114.
- BAYER, S. A.; J. ALTMAN (1987). «Directions in neurogenetic gradients and patterns of anatomical connections in the telencephalon». *Prog. Neurobiol.*, núm. 29, pàg. 57-106.
- BENVENISTE, E. N. (1992). «Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action». *Am. J. Physiol.*, núm. 32, pàg. 1-16.
- (1993) «Astrocyte-microglia interactions». A: Murphy, S. *Astrocytes: pharmacology and function*. San Diego: Academic Press Inc.. pàg. 355-382.
- BERTOLOTTO, A.; B. CATERSON; G. CANAVESE; A. MIGHELI; D. SCHIFFER (1993). «Monoclonal antibodies to keratan sulfate immunolocalize ramified microglia in paraffin and cryostat sections of rat brain». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 41, pàg. 481-487.
- BLIZINGER, K.; G. W. KREUTZBERG (1968). «Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells». *Zschr. Zellforsch.*, núm. 85, pàg. 145-157.
- BOYA, J.; J. L. CALVO; A. L. CARBONELL; A. BORREGÓN (1991). «A lectin histochemistry study on the development of rat microglial cells». *J. Anat.*, núm. 175, pàg. 229-236.
- BRUCE, J. H.; A. RAMIREZ; L. LIN; R. P. AGARWAL (1992). «Effects of cyclic AMP and butyrate on cell cycle, DNA, RNA, and purine synthesis of cultured astrocytes». *Neurochem. Res.*, núm. 17, pàg. 315-320.
- CAJAL, S. R. (1916). «El proceder del oro-sublimado para la coloración de la neuroglia». *Trab. Lab. Invest. Biol.*, núm. 14, pàg. 155-162.
- CAMMERMEYER, J. (1970). «The life history of the microglial cell: a light microscopic study». *Neurosci. Res.*, núm. 3, pàg. 43-129.
- CASTELLANO, B. (1987). *Estudio histoquímico de la actividad TPPasa/NDPasa en neuronas y células gliales del sistema nervioso central*. Tesis doctoral. UAB.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ (1991). «¿Es la enfermedad del Alzheimer el resultado de una reacción inmunológica mediada por las células gliales?» A: Acarín, N.; Bermejo, F. *Demencias. Inicio de una década ¿los años del progreso?* Barcelona: Editorial MCR. pàg. 3-16.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ DE MINGO (1995). «Contribuciones científicas de don Pío del Río Hortega a la neurociencia». *Neurología*, núm. 10, pàg. 265-276.
- (1996a). «Las células de microglia: origen, diferenciación y función en el cerebro normal». *Boletín SENC.*, núm. 1, pàg. 2-6.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; L. ACARIN; I. DALMAU; M. A. MARTIL; M. L. PLAZA-PÉREZ; J. M. VELA; A. YÁÑEZ (1996b). «Técnicas inmunocitoquímicas e histoquímicas aplicadas al estudio de las células gliales». A: Peinado, M.A.; Pedrosa, J.A.; Rodrigo, J. *Avances en inmunocitoquímica y técnicas aplicadas*. Universidad de Jaén. pàg. 289-330.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; I. DALMAU; L. ACARIN; J. M. VELA; C. NAVARRO (1990a). «Morphological characterization of microglial cells in gray and white matter of adult human brain». *Eur. J. Neurosci. Suppl.*, núm. 3, pàg. 221.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; I. DALMAU; J. M. VELA (1991b). «Identification and distribution of microglial cells in the cerebral cortex of the lizard: a histochemical study». *J. Comp. Neurol.*, núm. 311, pàg. 434-444.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; B. R. FINSEN; J. ZIMMER (1990b). «Histochemical demonstration of purine nucleoside phosphorylase (PNPase) in microglial and astroglial cells of adult rat brain». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 38, pàg. 1535-1539.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; M. B. JENSEN; E. B. PEDERSEN; B. R. FINSEN; J. ZIMMER (1991a). «A double staining technique for simultaneous demonstration of astrocytes and microglia in brain sections and astroglial cell cultures». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 39, pàg. 561-568.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; G. PALACIOS (1988). «Presence of thiamine pyrophosphatase activity in central and peripheral myelin sheaths of the rat». *Eur. J. Neurosci. Suppl.*, núm. 1, pàg. 145.
- (1989a). «Cytochemical demonstration of TPPase in myelinated fibers in the central and peripheral nervous system of the rat». *Brain Res.*, núm. 492, pàg. 203-210.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; N. TØNDER; J. ZIMMER (1991c). «Identification of microglial cells in organotypic hippocampal slice cultures by nucleoside diphosphatase histochemistry». *Eur. J. Neurosci. Suppl.*, núm. 4, pàg. 99.
- CASTELLANO, B.; B. GONZÁLEZ; J. M. VELA (1989b). «Glial response to intracerebral injection of thiamine pyrophosphate. A preliminar study». *Eur. J. Neurosci. Suppl.*, núm. 2, pàg. 249.
- CASTELLANO, B.; G. PALACIOS; B. GONZÁLEZ (1984). «A comparative study on NDPase and TPPase activities of glial cells in vertebrates and inverte-

- brates». *Trab. Inst. Cajal Invest. Biol.*, núm. 75, pàg. 81.
- COFFEY, P. J.; V. H. PERRY; J. N. P. RAWLINS (1990). «An investigation into the early stages of the inflammatory response following ibotenic acid-induced neuronal degeneration». *Neuroscience*, núm. 35, pàg. 121-132.
- COLTON, C. A.; D. L. GILBERT (1993). «Microglia, an in vivo source of reactive oxygen species in the brain». *Adv. Neurol.*, núm. 59, pàg. 321-326.
- COROTTO, F. S.; J. A. HENEGAR; J. A. MARUNIAK (1993). «Neurogenesis persists in the subependymal layer of the adult mouse brain». *Neurosci. Lett.*, núm. 149, pàg. 111-114.
- CRAS, P.; J. GHEUENS; U. LÜBKE; J. BOONS; M. VANDERMEE-REN; V. H. HEUVERSWIJN; J. J. MARTIN (1990). «A monoclonal antibody raised against alzheimer cortex that specifically recognizes a subpopulation of microglial cells». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 38, pàg. 1201-1207.
- CUADROS, M. A.; C. MARTÍN; P. COLTEY; A. ALMENDROS; J. NAVASCUES (1993). «First appearance, distribution, and origin of macrophages in the early development of the avian central nervous system». *J. Comp. Neurol.*, núm. 330, pàg. 113-129.
- CUADROS, M. A.; A. MOUJAHID; G. MARTÍN-PARTIDO; J. NAVASCUES (1992). «Microglia in the mature and developing quail brain as revealed by a monoclonal antibody recognizing hemopoietic cells». *Neurosci. Lett.*, núm. 148, pàg. 11-14.
- CUADROS, M. A.; A. MOUJAHID; A. QUESADA; J. NAVASCUES (1994). «Development of microglia in the quail optic tectum». *J. Comp. Neurol.*, núm. 348, pàg. 207-224.
- CHAMAK, B.; A. DOBBERTIN; M. MALLAT (1995). «Immunohistochemical detection of thrombospondin in microglia in the developing rat brain». *Neuroscience*, núm. 69, pàg. 177-187.
- CHAMAK, B.; V. MORANDI; M. MALAT (1994). «Brain macrophage stimulate neurite growth factor and regeneration by secreting thrombospondin». *J. Neurosci. Res.*, núm. 38, pàg. 221-233.
- CHAO, C. C.; S. HU; T. W. MOLITOR; E. G. SHASKAN; P. K. PETERSON (1992). «Activated microglia mediate neuronal cell injury via a nitric oxide mechanism». *J. Immunol.*, núm. 149, pàg. 2736-2741.
- CHAO, C. C.; S. HU; P. K. PETERSON (1995). «Glial, cytokines, and neurotoxicity». *Crit. Rev. Neurobiol.*, núm. 9, pàg. 189-205.
- CHRISTJANSON, L. J.; P. J. MIDDLEMISS; M. P. RATHBONE (1993). «Stimulation of astrocyte proliferation by purine and pyrimidine nucleotides and nucleosides». *Glia*, núm. 7, pàg. 176-182.
- CHUGAN, D. C.; N. L. KEDERSHA; L. H. ROME (1991). «Vault immunofluorescence in the brain: new insights regarding the origin of microglia». *J. Neurosci.*, núm. 11, pàg. 256-268.
- DALMAU, I.; B. CASTELLANO; E. B. PEDERSEN; B. FINSEN; J. ZIMMER; B. GONZÁLEZ (1996b). «Reduction of the microglial cell number in rat primary glial cell cultures by exogenous addition of dibutyl cyclic adenosine monophosphate». *J. Neuroimmunol.*, núm. 70, pàg. 123-129.
- DALMAU, I.; B. R. FINSEN; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO; N. TØNDER; J. ZIMMER (1992). «Astroglial and microglial cells in the developing rat hippocampus. A histochemical and immunocytochemical study». *Eur. J. Neurosci. Suppl.*, núm. 5, pàg. 28.
- DALMAU, I.; B. FINSEN; N. TØNDER; J. ZIMMER; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1997). «Development of microglia in the prenatal rat hippocampus». *J. Comp. Neurol.*, núm. 377, pàg. 70-84.
- DALMAU, I.; J. M. VELA; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1996a). «Monocyte entrance in the developing brain is mediated by cell adhesion molecules». *Second European Meeting on Glial Cell Function in Health and Disease*. Arcachon, abril. pàg. 34.
- DE LA ROSA, E. J.; A. ARRIBAS; J. M. FRADE; A. RODRIGUEZ-TÉBAR (1994). «Role of neurotrophins in the control of neural development: neurotrophin-3 promotes both neuron differentiation and survival of cultured chick retinal cells». *Neuroscience*, núm. 58, pàg. 347-352.
- DE GROOT, C. J. A.; W. HUPPES; T. SMINIA; G. KRAAL; C. DIJKSTRA (1992). «Determination of the origin and nature of brain macrophages and microglial cells in mouse central nervous system, using non-radioactive in situ hybridization and immunoperoxidase techniques». *Glia*, núm. 6, pàg. 301-309.
- DICKINSON, W. D.; A. L. MATTIACE; K. KURE; K. HUTCHINS; D. W. LYMAN; F. C. BROSMAN (1991). «Biology of disease. Microglia in human disease, with an emphasis on acquired immune deficiency syndrome». *Lab. Invest.*, núm. 64, pàg. 135-156.
- DUBOIS, J. H.; G. D. HAMMOND-TOOKE; M. L. CUZNER (1985). «Expression of major histocompatibility complex antigens in neonate rat primary mixed glial cultures». *J. Neuroimmunol.*, núm. 9, pàg. 363-377.
- DUSART, I.; S. MARTY; M. PESCHANSKI (1991). «Glial changes following an excitotoxic lesion in the CNS. II. Astrocytes». *Neuroscience*, núm. 45, pàg. 541-549.
- ESIRI, M. M.; J. O. MCGEE (1986). «Monoclonal antibody to macrophages (EBM/11) labels macrophages and microglial cells in human brain». *J. Clin. Pathol.*, núm. 39, pàg. 615-621.
- ERECINSKA, M. (1990). «Metabolism and role of glutamate in mammalian brain». *Prog. Neurobiol.*, núm. 35, pàg. 245-296.
- EYRE, J. A.; A. G. STUART; R. J. FORSYTH; D. HEAVISIDE; K. BARTLETT (1994). «Glucose export from the brain in man. Evidence for a role for astrocytic glucogen as

- a reservoir of glucose for neural metabolism». *Brain Res.*, núm. 635, pàg. 349-352.
- FEDEROFF, S.; A. VERNADAKIS (1986a). *Astrocytes. Development, morphology, and regional specialization of astrocytes*. Vol. 1. Orlando: Academic Press.
- (1986b). *Astrocytes. Biochemistry, physiology, and pharmacology of astrocytes*. Vol. 2. Orlando: Academic Press.
- (1986c). *Astrocytes. Cell Biology and pathology of astrocytes*. Vol. 3. Orlando: Academic Press.
- FERRER, I.; E. BERNET; E. SORIANO; J. A. DEL RÍO; M. FONSECA (1990). «Naturally occurring cell death in the cerebral cortex of the rat and removal of dead cells by transitory phagocytes». *Neuroscience*, pàg. 39, núm. 451-458.
- FERRER, I.; F. MARTÍN; J. REIRIZ; E. PEREZNAVARRO; J. ALBERCH; A. MACAYA; A. M. PLANAS (1995). «Both apoptosis and necrosis occur following intrastriatal administration of excitotoxins». *Acta Neuropathol.*, núm. 90, pàg. 504-510.
- FERRER, I.; A. TORTOSA; A. MACAYA; A. SIERRA; D. MORENO; F. MUNELL; R. BLANCO; W. SQUIER (1994). «Evidence of nuclear DNA fragmentation following hypoxia-ischemia in the infant rat brain, and transient forebrain ischemia in the adult gerbil». *Brain Pathol.*, núm. 4, pàg. 115-122.
- FINSEN, B. R.; M. B. JØRGENSEN; N. H. DIEMER; J. ZIMMER (1993b). «Microglial MHC antigen expression after ischemic and kainic acid lesions of the adult rat hippocampus». *Glia*, núm. 7, pàg. 41-49.
- FINSEN, B.; E. LEHRMANN; B. CASTELLANO; R. KIEFER; J. ZIMMER (1996). «The role of microglial cells and brain macrophages in transient global cerebral ischemia». A: Ling, E. A.; Tan, C. K. *Topical Issues in Microglial Research*. Elsevier. pàg. 297-328.
- FINSEN, B. R.; T. SØRENSEN; B. CASTELLANO; E. B. PEDERSEN; J. ZIMMER (1991). «Leukocyte infiltration and glial reactions in xenografts of mouse brain tissue undergoing rejection in the adult rat brain. A light and electron microscopical immunocytochemical study». *J. Neuroimmunol.*, núm. 32, pàg. 159-183.
- FINSEN, B. R.; N. TONDER; G. F. XAVIER, J. C. SØRENSEN, J. ZIMMER (1993a). «Induction of microglial immunomolecules by anterogradely degenerating mossy fibres in the rat hippocampal formation». *J. Chem. Neuroanat.*, núm. 6, pàg. 267-275.
- FRASER, D. D.; L. A. MUDRICKDONNON; B. A. (1994). «Astrocytic GABA receptors». *Glia*, núm. 11, pàg. 83-93.
- FRAUTSCHY, S. A.; P. A. WALICKE; A. BAIRD (1991). «Localization of basic fibroblast growth factor and its mRNA after CNS injury». *Brain Res.*, núm. 553, pàg. 291-299.
- FREI, K.; S. BODMER; C. SCHWERDEL; A. FONTANA (1986). «Astrocyte-derived interleukin 3 as a growth factor for microglia cells and peritoneal macrophages». *J. Immunol.*, núm. 137, pàg. 3521-3527.
- FREI, K.; U. V. MALIPIERO; T. P. LEIST; R. M. ZINKERNAGEL; M. E. SCHWAB; A. FONTANA (1989). «On the cellular source and function of interleukin 6 produced in the central nervous system in viral diseases». *Eur. J. Immunol.*, núm. 19, pàg. 689-694.
- FREI, K.; C. SIEPL; P. GROSCURTH; S. BRODMER; C. SCHWERDEL; A. FONTANA (1987). «Antigen presentation and tumor cytotoxicity by interferon-gamma-treated microglial cells». *Eur. J. Immunol.*, núm. 17, pàg. 1271-1278.
- FUJIMOTO, E.; A. MIKI; H. MIZOGUTI (1989). «Histochemical study of the differentiation of microglial cells in the developing human cerebral hemispheres». *J. Anat.*, núm. 166, pàg. 253-264.
- GANTER, S.; H. NORTHOFF; D. MÄNNEL; P. J. GEBICKE-HARTER (1992). «Growth control of cultured microglia». *J. Neurosci. Res.*, núm. 33, pàg. 218-230.
- GAVRIELI, Y.; Y. SHERMAN; S. A. BEN-SASSON (1992). «Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation». *J. Cell. Biol.*, núm. 119, pàg. 493-501.
- GEBICKE-HARTER, P. J.; K. APPEL; G. D. TAYLOR; A. SCHOBERT; I. N. RICH; H. NORTHOFF; M. BERGER (1994). «Rat microglial interleukin-3». *J. Neuroimmunol.*, núm. 50, pàg. 203-214.
- GEHRMANN, J.; R. B. BANATI (1995). «Microglial turnover in the injured CNS: activated microglia undergo delayed DNA fragmentation following peripheral nerve injury». *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, núm. 54, pàg. 680-688.
- GEHRMANN, J.; G. W. KREUTZBERG (1991). «Characterization of two new monoclonal antibodies directed against rat microglia». *J. Comp. Neurol.*, núm. 313, pàg. 409-430.
- GEHRMANN, J.; Y. MATSUMOTO; G. W. KREUTZBERG (1995). «Microglia: intrinsic immuneffector cell of the brain». *Brain Res. Rev.*, núm. 20, pàg. 269-287.
- GIULIAN, D. (1990). «Microglia and tissue damage in the central nervous system». *Differentiation and functions of glial cells*, pàg. 379-389.
- GIULIAN, D.; T. J. BAKER (1985). «Peptides released by amoeboid microglia regulate astroglial proliferation». *J. Cell Biol.*, núm. 101, pàg. 2411-2415.
- GIULIAN, D.; T. J. BAKER (1989). «Characterization of amoeboid microglia isolated from developing mammalian brain». *J. Neurosci.*, núm. 6, pàg. 2163-2178.
- GIULIAN, D.; T. J. BAKER; L.-C. N. SHIH; L. LACHMAN (1986). «Interleukin 1 of the central nervous system is produced by amoeboid microglia». *J. Exp. Med.*, núm. 164, pàg. 594-604.
- GIULIAN, D.; M. CORPUZ (1993). «Microglial secretion products and their impact on the nervous system». *Adv. Neurol.*, núm. 59, pàg. 315-320.
- GIULIAN, D.; M. CORPUZ; S. CHAPMAN; M. MANSOURI; C. ROBERTSON (1993b). «Reactive mononuclear phago-

- cytes release neurotoxins after ischemic and traumatic injury to the central nervous system». *J. Neurosci. Res.*, núm. 36, pàg. 681-693.
- GIULIAN, D.; B. JOHNSON; J. F. KREBS; J. K. GEORGE; M. TAPSCOTT (1991). «Microglial mitogens are produced in the developing and injured mammalian brain». *J. Cell Biol.*, núm. 112, pàg. 323-333.
- GIULIAN, D.; J. LI; X. LI; J. GEORGE; P. A. RUTECKI (1994). «The impact of microglia-derived cytokines upon gliosis in the CNS». *Dev. Neurosci.*, núm. 16, pàg. 128-136.
- GIULIAN, D.; K. VACA (1993). «Inflammatory glia mediate delayed neuronal damage after ischemia in the central nervous system». *Stroke Suppl.*, núm. 24, pàg. 184-190.
- GIULIAN, D.; K. VACA; M. CORPUZ (1993a). «Brain glia release factors with opposing actions upon neuronal survival». *J. Neurosci.*, núm. 13, pàg. 29-37.
- GIULIAN, D.; D. G. YOUNG; J. WOODWARD; D. C. BROWN; L. B. LACHMAN (1988). «Interleukin-1 is an astroglial growth factor in the developing brain». *J. Neurosci.*, núm. 8, pàg. 709-714.
- GOLD, R.; M. SCHMIED; G. GIEGERICH; H. BREITSCHÖPE; H. P. HARTUNG; K. V. TOYKA; H. LASSMANN (1994). «Differentiation between cellular apoptosis and necrosis by the combined use of in situ tailing and nick translation techniques». *Lab. Invest.*, núm. 71, pàg. 219-225.
- GOMEZ-PINILLA, F.; J. W.-K. LEE; C. COTMAN (1992). «Basic FGF in adult brain: cellular distribution and response to entorhinal lesion and fimbria-fornix transection». *J. Neurosci.*, núm. 12, pàg. 345-355.
- GONZÁLEZ, B.; B. CASTELLANO; G. PALACIOS (1987). «Early response of microglial cells to excitotoxic lesions». *Cell Biol. Rev.*, núm. 2, pàg. 213.
- (1988). «Reactividad astrocitaria tras una lesión cerebral producida con rayo láser. Astrocyte reactivity after laser brain injury». *Histología Médica*, núm. 4, pàg. 173-182.
- GONZÁLEZ, B.; B. CASTELLANO; G. PALACIOS; J. GARCÍA (1985). «Migration and elimination of brain macrophages during recovery. An electron microscopy study». *Neurosci. Lett. Suppl.*, núm. 22, pàg. S525.
- GONZÁLEZ DE MINGO, B.; I. DALMAU; B. CASTELLANO (1995). «Origen y reactividad de las células de microglía». *Revista de Neurología*, núm. 23, pàg. 606.
- GRAEBER, M. B.; K. BISE; P. MEHRAEIN (1993). «Synaptic stripping in the human facial nucleus». *Acta Neuropathol.*, núm. 86, pàg. 179-181.
- (1994). «CR3/43, a marker for activated human microglia: application to diagnostic neuropathology». *Neuropath. Appl. Neurobiol.*, núm. 20, pàg. 406-408.
- GRAEBER, B. M.; J. W. STREIT (1990). «Microglia: immune network in the CNS». *Brain Pathol.*, núm. 1, pàg. 2-5.
- GRAEBER, M. B.; W. J. STREIT; G. W. KREUTZBERG (1989). «Identity of ED2-positive perivascular cells in rat brain». *J. Neurosci. Res.*, núm. 22, pàg. 103-106.
- HAO, C.; A. RICHARDSON; S. FEDOROFF (1991). «Macrophage-like cells originate from neuroepithelium in culture: Characterization and properties of the macrophage-like cells». *Int. J. Dev. Neurosci.*, núm. 9, pàg. 1-14.
- HARTUNG, H.-P.; S. JUNG; G. STOLL; J. ZIELASEK; B. SCHMIDT; J. J. ARCHELOS; K. V. TOYKA (1992). «Inflammatory mediators in demyelinating disorders of the CNS and PNS». *J. Neuroimmunol.*, núm. 49, pàg. 197-210.
- HAYES, G.M.; M. N. WOODROOFE; M. L. CUZNER (1987). «Microglia are the major cell type expressing MHC class II in human white matter». *J. Neurol. Sci.*, núm. 80, pàg. 25-37.
- HERTZ, L. (1981). «Functional interactions between astrocytes and neurons». A: Fedoroff, S. *Glial and neuronal cell biology*. New York: Liss. pàg. 45-58.
- HICKEY, W.F. (1996). «Passage of activated leukocytes through the blood brain barrier». *Cytokines in the brain: neuropathological aspects*. Saint-Jean-de-Luz, abril.
- HICKEY, W.F.; H. KIMURA (1988). «Perivascular microglial cells on the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo». *Science*, núm. 239, pàg. 290-292.
- HINDLEY, S.; M. A. R. HERMAN; M. P. RATHBONE (1994). «Stimulation of reactive astrogliosis in vivo by extracellular adenosine diphosphate or an adenosine A2 receptor agonist». *J. Neurosci. Res.*, núm. 38, pàg. 399-406.
- HOPKINS, S. J.; N. J. ROTHWELL (1995). «Cytokines and the nervous system I: expression and recognition». *Trends in Neurosci.*, núm. 18, pàg. 83-88.
- HUME, D. A.; V. H. PERRY; S. GORDON (1983). «Immunohistochemical localization of a macrophage-specific antigen in developing mouse retina: phagocytosis of dying neurons and differentiation of microglial cells to form a regular array in the plexiform layers». *J. Cell Biol.*, núm. 97, pàg. 253-257.
- IBRAHIM, M. Z. M. (1975). «Glycogen and its related enzymes of metabolism in the central nervous system». *Adv. Anat. Cell Biol.*, núm. 52, pàg. 3-89.
- IBRAHIM, M. Z. M.; I. KHREIS; D. S. KOSHAYAN (1974). «The histochemical identification of microglia». *J. Neurol. Sci.*, núm. 22, pàg. 211-233.
- IMAMOTO, K.; C. P. LEBLOND (1978). «Radioautographic investigation of gliogenesis in the corpus callosum of young rats. II. Origin of microglial cells». *J. Comp. Neurol.*, núm. 180, pàg. 139-163.
- INNOCENTI, G. M.; S. CLARKE; H. KOPPEL (1983b). «Transitory macrophages in the white matter of the developing visual cortex. II. Development and relations with axonal pathways». *Dev. Brain Res.*, núm. 11, pàg. 55-66.

- INNOCENTI, G. M.; H. KOPPEL; S. CLARKE (1983a). «Transitory macrophages in the white matter of the developing visual cortex. I. Light and electron microscopic characteristics and distribution». *Brain Res.*, núm. 11, pàg. 39-53.
- JACOBSON, M. (1991). «The germinal cell, histogenesis and lineages of nerve cells». A: Jacobson, M. *Developmental Neurobiology*. New York: Plenum Press. pàg. 41-93.
- JENSEN, M. B.; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO; J. ZIMMER (1994). «Microglial and astroglial reactions to anterograde axonal degeneration: a histochemical and immunocytochemical study of the adult rat fascia dentata after entorhinal perforant path lesions». *Exp. Brain Res.*, núm. 98, pàg. 245-260.
- JORDAN, F. L.; W. E. THOMAS (1988). «Brain macrophages: questions of origin and interrelationship». *Brain Res.*, núm. 472, pàg. 165-178.
- JØRGENSEN, M. B.; B. R. FINSEN; M. B. JENSEN; B. CASTELLANO; N. H. DIEMER; J. ZIMMER (1993). «Microglial and astroglial reactions to ischemic and kainic acid-induced lesions of the adult rat hippocampus». *Exp. Neurol.*, núm. 119, pàg. 1-19.
- JUURLINK, B. H. J.; L. HERTZ (1985). «Plasticity of astrocytes in primary cultures: an experimental tool and a reason for methodological caution». *Develop. Neurosci.*, núm. 7, pàg. 263-277.
- KANEKO, T.; R. SHIGEMOTO; N. MIZUNO (1988). «Metabolism of glutamate and ammonia in astrocytes: an immunocytochemical study». *Brain Res.*, núm. 457, pàg. 160-164.
- KAUR, C.; E. A. LING (1992). «Activation and re-expression of surface antigen in microglia following an epidural application of kainic acid in the rat brain». *J. Anat.*, núm. 180, pàg. 333-342.
- KAUR, C.; A. LING; W. C. WONG (1987). «Origin and fate of neural macrophages in a stab wound of the brain of the young rat». *J. Anat.*, núm. 154, pàg. 215-227.
- KELLY, P. M.; E. BLISS; J. A. MORTON; J. BURNS; J. O. MCGEE (1988). «Monoclonal antibody EBM/11: high cellular specificity for human macrophages». *J. Clin. Pathol.*, núm. 41, pàg. 510-515.
- KELLY, J. S.; F. DICK (1978). «GABA of glial cells of the peripheral and central nervous system». A: Schoffeniels, E.; Frank, G.; Hertz, L.; Tower, D.B. *Dynamic properties of glial cells*. Oxford: Pergamon Press. pàg. 183-192.
- KITAMURA, T.; T. MIYAKE; S. FUJITA (1984). «Genesis of resting microglia in the gray matter of mouse hippocampus». *J. Comp. Neurol.*, núm. 226, pàg. 421-433.
- KIMELBERG, H. K.; R. S. BOURKE (1982). «Anion transport in the nervous system». A: Lajtha, A. *Handbook of Neurochemistry*. New York: Plenum. pàg. 31-67.
- KREUTZBERG, G. W.; K. D. BARRON (1978a). «5'-Nucleotide of microglial cells in the facial nucleus during axonal reaction». *J. Neurocytol.*, núm. 7, pàg. 601-610.
- KREUTZBERG, G. W.; K. D. BARRON; P. SCHUBERT (1978b). «Cytochemical localization of 5'-nucleotidase in glial plasma membranes». *Brain Res.*, núm. 158, pàg. 247-257.
- KREUTZBERG, G. W.; A. K. ENGEL; M. B. GRAEBER; W. TELZLAFF; L. TÓTH (1988). «Structural plasticity in lesioned motoneurons». A: Flohr, H. *Post-Lesion Neural Plasticity*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. pàg. 57-64.
- KUSAKA, H.; A. HIRANO; M. B. BORNSTEIN; G. R. V. MOORE; C. S. RAINE (1986). «Transformation of cells of astrocyte lineage into macrophage-like cells in organotypic cultures of mouse spinal cord tissue». *J. Neurol. Sci.*, núm. 72, pàg. 77-89.
- LANDIS, D. M. D. (1994). «The early reactions of non-neuronal cells to brain injury». *Annu. Rev. Neurosci.*, núm. 17, pàg. 133-151.
- LANGLEY, O. K.; M. S. GHANDOUR; G. VINCENDON; G. GONBOS (1980). «Carbonic anhydrase: an ultrastructural study in rat cerebellum». *Histochem. J.*, núm. 12, pàg. 473-483.
- LASSMANN, H.; F. ZIMPRICH; K. VASS; W. F. HICKEY (1991). «Microglial cells are a component of the perivascular glia limitans». *J. Neurosci. Res.*, núm. 28, pàg. 236-243.
- LAWSON, L. J.; V. H. PERRY; P. DRI; S. GORDON (1990). «Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain». *Neuroscience*, núm. 39, pàg. 151-170.
- LAWSON, L.; V. H. PERRY; S. GORDON (1992). «Turnover of resident microglia in the normal adult mouse brain». *Neuroscience*, núm. 48, pàg. 405-415.
- LE PRINCE, G.; C. FAGES; B. ROLLAND; J. NÚÑEZ; M. TARDY (1991). «DBcAMP effect on the expression of GFAP and of its encoding mRNA in astroglial primary cultures». *Glia*, núm. 4, pàg. 322-326.
- LEHRMANN, E.; R. KIEFER; B. FINSEN; N. H. DIEMER; J. ZIMMER; H-P. HARTUNG (1995). «Cytokines in cerebral ischemia: expression of transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1) mRNA in the post-ischemic adult rat hippocampus». *Exp. Neurol.*, núm. 131, pàg. 114-123.
- LING, E. A. (1977). «Light and electron microscopic demonstration of some lysosomal enzymes in the amoeboid microglia in neonatal rat brain». *J. Anat.*, núm. 123, pàg. 637-648.
- (1979). «Transformation of monocytes into amoeboid microglia and into microglia of newborn rats, as shown by labelling monocytes by carbon particles». *J. Anat.*, núm. 128, pàg. 847-858.
- (1981). «The origin and nature of microglia». A: Federoff, S.; Hertz, L. *Advances in Cellular Neurobiology*. New York: Academic Press. pàg. 33-82.

- LING, E. A.; C. KAUR; W. C. WONG (1982). «Light and electron microscopic demonstration of non-specific esterase in amoeboid microglial cells in the corpus callosum in postnatal rats: a cytochemical link to monocytes». *J. Anat.*, núm. 135, pàg. 385-394.
- (1991). «Expression of major histocompatibility complex and leukocyte common antigens in amoeboid microglia in postnatal rats». *J. Anat.*, núm. 177, pàg. 117-126.
- LING, A. E.; C. KAUR; Y. T. YICK; C. W. WONG (1990). «Immunochemical localization of CR3 complement receptors with OX-42 in amoeboid microglia in postnatal rats». *Anat. Embryol.*, núm. 182, pàg. 481-486.
- LING, E. A.; D. PENNEY; C. P. LEBLOND (1980). «Use of carbon labeling to demonstrate the role of blood monocytes as precursors of the "amoeboid cells" present in the corpus callosum of postnatal rats». *J. Comp. Neurol.*, núm. 193, pàg. 631-657.
- LING, E. A.; W. C. WONG (1993). «The origin and nature of ramified and amoeboid microglia: a historical review and current contents». *Glia*, núm. 7, pàg. 9-18.
- LIU, Y.; H. KATA; N. NAKATA; K. KOGURE (1992). «Protection of rat hippocampus against ischemic neuronal damage by pretreatment with sublethal ischemia». *Brain Res.*, núm. 586, pàg. 121-124.
- LÓPEZ-GARCÍA, C. (1993). «Postnatal neurogenesis and regeneration in the lizard cerebral cortex» A: Cuello, A.C. *Neuronal cell death and repair*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. pàg. 237-246.
- LÓPEZ-GARCÍA, C.; J. NACHER; B. CASTELLANO; J. A. LUIS DE LA IGLESIA; A. MOLOWNY (1994). «Transitory disappearance of microglia during the regeneration of the lizard». *Glia*, núm. 12, pàg. 52-61.
- LUDWIN, K. S. (1979). «The perineuronal satellite oligodendrocyte». *Acta Neuropathol.*, núm. 47, pàg. 49-53.
- MALLAT, M.; B. CHAMAK (1994). «Brain macrophages: neurotoxic or neurotrophic effector cells?». *J. Leukoc. Biol.*, núm. 56, pàg. 416-422.
- MALLAT, M.; R. HOULGATTE; P. BRACHET; A. PROCHIANTZ (1989). «Lipopolysaccharide-stimulated rat brain macrophages release NGF *in vitro*». *Dev. Biol.*, núm. 133, pàg. 309-311.
- MANNOJI, H.; H. YEGER; L. E. BECKER (1986). «A specific histochemical marker (lectin Ricinus communis agglutinin-I) for normal microglia and its application to routine histopathology». *Acta Neuropathol.*, núm. 71, pàg. 341-343.
- MARTY, S.; I. DUSART; M. PESCHANSKI (1991). «Glial changes following an excitotoxic lesion in the CNS. I. Microglia/macrophages». *Neuroscience*, núm. 45, pàg. 529-539.
- MATSUMOTO, Y.; K. OHMORI; M. FUJIWARA (1992). «Immune regulation by brain cells in the central nervous system: microglia but not astrocytes present myelin basic protein to encephalitogenic T cells under *in vivo*-mimicking conditions». *Immunology*, núm. 76, pàg. 209-216.
- MATSUMOTO, Y.; K. WATABE; F. IKUTA (1985). «Immunohistochemical study on neuroglia identified by the monoclonal antibody against a macrophage differentiation antigen (Mac-1)». *J. Neuroimmunol.*, núm. 9, pàg. 379-389.
- MATSUO, M.; Y. HAMASAKI; F. FUJIYAMA; S. MIYAZAKI (1995). «Eicosanoids are produced by microglia, not but astrocytes, in rat glial cell cultures». *Brain Res.*, núm. 685, pàg. 201-204.
- MATTSON, M. P.; B. RYCHLIK (1990). «Glial cells protect hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced degeneration: involvement of fibroblast growth factor». *Int. J. Dev. Neurosci.*, núm. 8, pàg. 399-415.
- McMILLIAN, M. K.; L. THAI; J.-S. HONG; J. P. O'CALLAGHAN; K. R. PENNYPACKER (1994). «Brain injury in a dish: a model for reactive gliosis». *Trends Neurosci.*, núm. 17, pàg. 138-142.
- MERRILL, J. E. (1992). «Tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 and related cytokines in brain development: normal and pathological». *Dev. Neurosci.*, núm. 14, pàg. 1-10.
- MILES, J. M.; S. M. CHOU (1988). «A new immunoperoxidase marker for microglia in paraffin section». *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, núm. 4, pàg. 579-587.
- MILLIGAN, C. E.; P. LEVITT; T. J. CUNNINGHAM (1991). «Brain macrophages and microglia respond differently to lesions of the developing and adult visual system». *J. Comp. Neurol.*, núm. 314, pàg. 136-146.
- MORGAN, T. E.; N. R. NICHOLS; G. M. PASINETTI; C. E. FINCH (1993). «TGF-beta 1 mRNA increases in macrophage/microglial cells of the hippocampus in response to deafferentation and kainic acid-induced neurodegeneration». *Exp. Neurol.*, núm. 120, pàg. 291-301.
- MORI, S.; C. P. LEBLOND (1969). «Identification of microglia in light and electron microscopy». *J. Comp. Neurol.*, núm. 135, pàg. 57-80.
- MORIOKA, T.; A. N. KALEHUA; W. J. STREIT (1992). «Progressive expression of immunomolecules on microglial cells in rat hippocampus following transient forebrain ischaemia». *Acta Neuropathol.*, núm. 83, pàg. 149-157.
- MÜLLER, H. W.; U. JUNGHANS; J. KAPPLER (1995). «Astroglial neurotrophic and neurite-promoting factors». *Pharmac. Ther.*, núm. 65, pàg. 1-18.
- MUÑOZ, D. G.; T. HA; R. J. UITTI (1988). «Neurite extension on dibutylryl cyclic AMP-stimulated astrocytes». *Exp. Neurol.*, núm. 101, pàg. 374-384.
- MURABE, Y.; Y. SANO (1981). «Thiaminepyrophosphatase

- activity in the plasma membrana of microglia». *Histochemistry*, núm. 71, pàg. 45-52.
- (1982a). «Morphological studies on neuroglia. V. Microglial cells in the cerebral cortex in rat, with special reference of their possible involvement in synaptic function». *Cell Tissue Res.*, núm. 223, pàg. 493-506.
- (1982b). «Morphological studies on neuroglia. VI. Postnatal development of microglial cells». *Cell Tissue Res.*, núm. 225, pàg. 469-485.
- MURPHY, S.; M. L. SIMMONS; L. AGULLÓ; A. GARCÍA; D. L. FEINSTEIN; E. GALEA; D. J. REIS; D. MINCOLOMB; J. P. SCHWARTZ (1993). «Synthesis of nitric oxide in CNS glial cells». *Trends Neurosci.*, núm. 16, pàg. 323-328.
- NAKAJIMA, K.; S. KOHSAKA (1993). «Characterization of brain microglia and the biological significance in the central nervous system». *Adv. Neurol.*, núm. 60, pàg. 734-743.
- NEARY, J. T.; M. P. RATHBONE; F. CATTABENI; M. P. ABBRACCHIO; G. BURNSTOCK (1996). «Trophic actions of extracellular nucleotides and nucleosides on glial and neuronal cells». *Trends Neurosci.*, núm. 19, pàg. 13-18.
- NOZAKI, K.; S. P. FINKLESTEIN; M. F. BEAL (1993). «Basic fibroblast growth factor protects against hypoxia-ischemia and NMDA neurotoxicity in neonatal rats». *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, núm. 13, pàg. 221-228.
- OEHMICHEN, M. (1982). «Functional properties of microglia». A: Smith, W.T.; Cavanagh, J.B. *Recent advances in neuropathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone. pàg. 83-107.
- PALAY, S. L.; V. CHAN-PALAY (1974). *Cerebellar cortex. Cytology and organization*. Berlin: Springer-Verlag.
- PASANTES-MORALES, H.; R. A. MURRAY; L. LILJA; J. MORAN (1994). «Regulatory volume decrease in cultured astrocytes. I. Potassium activated and chloride-activated permeability». *Am. J. Physiol.*, núm. 266, pàg. C165-C171.
- PAULUS, W.; W. ROGENDORF; T. KIRCHNER (1992). «Ki-M1P as a marker for microglia and brain macrophages in routinely processed human tissues». *Acta Neuropathol.*, núm. 84, pàg. 538-544.
- PERRY, V. H.; S. GORDON (1987). «Modulation of CD4 antigen on macrophages and microglia in rat brain». *J. Exp. Med.*, núm. 166, pàg. 1138-1143.
- (1991). «Macrophages and the nervous system». *Int. Rev. Citol.*, núm. 125, pàg. 203-244.
- PERRY, H. V.; A. D. HUME; S. GORDON (1985). «Immunohistochemical localization of macrophages and microglia in the adult and developing mouse brain». *Neuroscience*, núm. 15, pàg. 313-326.
- PERRY, V. H.; L. J. LAWSON (1992). «Macrophages in the central nervous system». A: Lewis, C. E.; McGee, J. O'D. *The natural immune system. The macrophage*. Oxford: Oxford University Press. pàg. 391-413.
- PETERS, A.; S. L. PALAY; H. DE F. WEBSTER (1991). «The neuroglial cells». A: Peters, A.; Palay, S.L.; Webster, H. de F. *The fine structure of the nervous system. Neurons and their supporting cells*. New York: Oxford University Press. pàg. 273-311.
- PIANI, D.; D. B. CONSTAM; K. FREI; A. FONTANA (1994). «Macrophages in the brain: friends or enemies?». *News Physiol. Sci.*, núm. 9, pàg. 80-84.
- PIANI, D.; K. FREI; K. Q. DO; M. CUENOD; A. FONTANA (1991). «Murine brain macrophages induce NMDA receptor mediated neurotoxicity *in vitro* by secreting glutamate». *Neurosci. Lett.*, núm. 133, pàg. 159-162.
- PIANI, D.; M. SPRANGER; K. FREI; A. SCHAFFNER; A. FONTANA (1992). «Macrophage-induced cytotoxicity of N-methyl-D-aspartate receptor positive neurons involves excitatory amino acids rather than reactive oxygen intermediates and cytokines». *Eur. J. Immunol.*, núm. 22, pàg. 2429-2436.
- PLAZA-PERAZ, M. L.; M. MONZON-MAYOR; B. GONZÁLEZ; M. M. ROMERO; J. ARBELO; B. CASTELLANO (1996). «Diversity of microglial cells in the embryonic and adult brain of *Gallotia galloti* as demonstrated by tomato lectin binding». *Second European Meeting on Glial Cell Function in Health and Disease*. Arcachon, abril. pàg. 73.
- POLAK, M. (1965). «Morphological and functional characteristics of the central and peripheral neuroglia (light microscopical observations)». A: De Robertis, E.D.P., Carrea, R. *Biology of Neuroglia. Progres in Brain Research*. Amsterdam: Elsevier. pàg. 12-34.
- REID, D. M.; V. H. PERRY; P. B. ANDERSSON; S. GORDON (1993). «Mitosis and apoptosis of microglia *in vivo* induced by an anti-CD3 antibody which crosses the blood-brain barrier». *Neuroscience*, núm. 56, pàg. 529-533.
- RICHARDSON, A.; J. NEUHAUS; S. FEDOROFF (1994). «Microglia progenitor cells and development of microglia». *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, núm. 20, pàg. 183-185.
- RIGHI, M.; L. MORI; G. DE LIBERO; M. SIRONI; A. BIONDI; A. MANTOVANI; S.D. DONINI; P. RICCIARDI-CASTAGNOLI (1989). «Monokine production by microglial cell clones». *Eur. J. Immunol.*, núm. 19, pàg. 1443-1448.
- RINAMAN, L.; C. E. MILLIGAN; P. LEVITT (1991). «Persistence of fluoro-gold following degeneration of labeled motoneurons is due to phagocytosis by microglia and macrophages». *Neuroscience*, núm. 44, pàg. 765-776.
- RIO HORTEGA, P. (1918). «Noticia de un nuevo y fácil método para la coloración de la neuroglia y del tejido conjuntivo». *Trab. Lab. Invest. Biol.*, núm. 15, pàg. 367-378.
- (1920a). «Estudios sobre la neuroglia. La microglia y su transformación en células en bastoncito y

- cuerpos granuloadiposos». *Trab. Lab. Invest. Biol.*, núm. 18, pàg. 37-83.
- (1920b). «El tercer elemento de los centros nerviosos. I.- La microglía en estado normal». *Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, núm. 8, pàg. 68-82.
- (1920c). «El tercer elemento de los centros nerviosos. II.- Intervención de la microglía en procesos patológicos». *Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, núm. 8, pàg. 91-103.
- (1920d). «El tercer elemento de los centros nerviosos. III.- Naturaleza probable de la microglía». *Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, núm. 8, pàg. 109-120.
- (1920e). «El tercer elemento de los centros nerviosos. Poder fagocitario y movilidad de la microglía». *Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, núm. 8, pàg. 154-166.
- (1921a). «El tercer elemento de los centros nerviosos. Histogénesis y evolución normal; éxodo y distribución regional de la microglía». *Mem. de la Real Soc. Esp. de Hist. Nat.*, núm. 11, pàg. 213-268.
- (1921b). «La glía de escasas radiaciones». *Bol. Real. Soc. Esp. Hist. Nat.*, núm. 21, pàg. 63-92.
- (1924). «Lo que debe entenderse por tercer elemento de los centros nerviosos». *Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, núm. 11, pàg. 33-35.
- (1925). «Papel de la microglía en la formación de los cuerpos amiláceos del tejido nervioso». *Bol. de la Soc. Esp. de Hist. Nat.*, núm. 27, pàg. 127-139.
- (1932). «Microglía». A: Penfield, W. *Cytology and Cellular Pathology*. Nueva York: PB. Hoeber Inc.. Vol II, pàg. 483-534.
- RÍO HORTEGA, P.; W. PENFIELD (1927). «Cerebral Cicatrix. The reaction of neuroglia and microglia to brain wounds». *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, núm. 5, pàg. 278-303.
- RODRÍGUEZ-TÉBAR, A.; G. DECHANT; R. GOTZ; Y. A. BARDE (1992). «Binding of Neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor». *EMBO J.*, núm. 11, pàg. 917-922.
- ROTHWELL, N. J.; HOPKINS, S. J. (1995). «Cytokines and the nervous system II: actions and mechanism of action». *Trends in Neurosci.*, núm. 18, pàg. 130-136.
- ROTHWELL, N. J.; J. K. RELTON (1993). «Involvement of cytokines in acute neurodegeneration in the CNS». *Neurosci. Biobehav. Rev.*, núm. 17, pàg. 217-227.
- RYDBERG, E. (1932). «Cerebral injury in newborn children consequent on birth trauma, with an injury into the normal and pathological anatomy of the neuroglia». *Acta Path. Micro. Scand. Suppl.*, núm. 10, pàg. 1-247.
- SAWADA, M.; N. KONDO; A. SUZUMURA; T. MARUNOUCHI (1989). «Production of tumour necrosis factor-alpha by microglia and astrocytes in culture». *Brain Res.*, núm. 491, pàg. 394-397.
- SAWADA, M.; A. SUZUMURA; T. MARUNOUCHI (1992). «TNF alpha induces IL-6 production by astrocytes but not by microglia». *Brain Res.*, núm. 583, pàg. 296-299.
- SCHMIDLEY, J. W. (1990). «Free radicals in central nervous system ischemia». *Stroke*, núm. 21, pàg. 1086-1089.
- SCHNITZER, J. (1989). «Enzyme-histochemical demonstration of microglial cells in the adult and postnatal rabbit retina». *J. Comp. Neurol.*, núm. 282, pàg. 249-263.
- SCHOEN, S. W.; M. B. GRAEBER; G. W. KREUTZBERG (1992). «5'-Nucleotidase immunoreactivity of perineuronal microglia responding to rat facial nerve axotomy». *Glia*, núm. 6, pàg. 314-317.
- SERESS, L. (1985). «Postnatal neurogenesis in the rat hypothalamus». *Brain Res.*, núm. 354, pàg. 156-160.
- SJÖSTRAND, J. (1966) «Changes of nucleoside phosphatase activity in the hypoglossal nucleus during nerve regeneration». *Acta Physiol. Scand.*, núm. 67, pàg. 219-228.
- SØRENSEN, J. C.; I. DALMAU; J. ZIMMER; B. FINSEN (1996). «Microglial reactions to tracer identified thalamic neurons after frontal motocortex lesions in adult rats». *Exp. Brain Res.* [En premsa]
- SPRINGER, T. A. (1990). «Adhesion receptors of the immune system». *Nature (London)*, núm. 346, pàg. 425-434.
- (1994). «Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm». *Cell*, núm. 76, pàg. 301-314.
- STONE, T. W. (1993). «Adenosine in the nervous system». *Science*, núm. 261, pàg. 236-237.
- STEENSAAS, L. J. (1983). «Regeneration in the spinal cord of the newt *Nottophthalmus (Triturus) pyrrögaster*». A: Kao, C.C.; Bunge, R.P.; Reier, P.J. *Spinal Cord Reconstruction*. New York: Raven Press. pàg. 121-149.
- STREIT, W. J. (1993). «Microglial-neuronal interactions». *J. Chem. Neuroanat.*, núm. 6, pàg. 261-266.
- STREIT, W. J.; G. W. KREUTZBERG (1987). «Lectin binding by resting and reactive microglia». *J. Neurocytol.*, núm. 16, pàg. 249-260.
- STURROCK, R. R. (1978). «A developmental study of epilexus cells and supraependymal cells and their possible relationship to microglia». *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, núm. 4, pàg. 307-322.
- SUZUKI, H.; H. FRANZ; T. YAMAMOTO; Y. IWAZAKI; H. KONNO (1988). «Identification of the normal microglial population in human and rodent nervous tissue using lectin-histochemistry». *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, núm. 14, pàg. 221-227.
- SUZUMURA, A.; S. G. MEZITIS; N. K. GONATAS; D. H. SILBERBERG (1987). «MHC antigen expression on bulk isolated macrophage-microglia from newborn mouse brain induction of Ia antigen expression by gamma-interferon». *J. Neuroimmunol.*, núm. 15, pàg. 263-278.

- TAKAMI, K.; M. IWANE; Y. KIYOTA; M. MIYAMOTO; R. TSUKUDA; S. SHIOSAKA (1992). «Increase of basic fibroblast growth factor immunoreactivity and its mRNA level in rat brain following transient forebrain ischemia». *Exp. Brain Res.*, núm. 90, pàg. 1-10.
- THOMAS, W. E. (1992). «Brain macrophages: evaluation of microglia and their functions». *Brain Res. Rev.* núm. 17, pàg. 61-74.
- TURNER, J. E.; M. SINGER (1975). «The ultrastructure of Wallerian degeneration in the severed optic nerve of the newt». *Anat. Rec.*, núm. 181, pàg. 267-286.
- TILLOTSON, M. L.; J. G. WOOD (1989). «Phosphotyrosine antibodies specifically label amoeboid microglia in vitro and ramified microglia in vivo». *Glia*, núm. 2, pàg. 412-419.
- TSENG, C. Y.; E. A. LING; W. C. WONG (1983). «Light and electrons microscopic and cytochemical identification of amoeboid microglial cells in the brain of prenatal rats». *J. Anat.*, núm. 136, pàg. 837-849.
- VAN DAM, A. M.; M. BROUNS; S. LOUISE; F. BERKENBOSCH (1992). «Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness?». *Brain Res.*, núm. 588, pàg. 291-296.
- VAUGHN, J. E.; D. C. PEASE (1970). «Electron microscopic studies of wallerian degeneration in rat optic nerves. II. Astrocytes, oligodendrocytes and adventitial cells». *J. Comp. Neurol.*, núm. 140, pàg. 207-226.
- VAUGHN, J. E.; A. PETERS (1968). «A third neuroglial cell type. An electron microscopic study». *J. Comp. Neurol.*, núm. 133, pàg. 269-288.
- VELA, J. M.; I. DALMAU; L. ACARIN; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1995b). «Microglial cell reaction in the gray and white matter in spinal cords from jimpy mice. An enzyme histochemical study at the light and electron microscope level». *Brain Res.*, núm. 694, pàg. 287-298.
- VELA, J. M.; I. DALMAU; B. CASTELLANO; B. GONZÁLEZ (1989). Identificación histoenzimática de microglía en el telencéfalo de anfibios, aves y reptiles. *Cell Biol. Rev.*, núm. 1, pàg. 14-15.
- (1995a). «Morphology and distribution of microglial cells in the young and adult mouse cerebellum». *J. Comp. Neurol.*, núm. 361, pàg. 602-616.
- VELA, J. M.; I. DALMAU; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1996). «The microglial reaction in spinal cords of jimpy mice is related to apoptotic oligodendrocytes». *Brain Res.*, núm. 712, pàg. 134-142.
- VELASCO, A.; E. CAMINOS; E. VECINO; J. M. LARA; J. AIJON (1995). «Microglia in normal and regenerating visual pathways of the tench (*Tinca tinca* L., 1758; Teleost): a study with tomato lectin». *Brain Res.*, núm. 705, pàg. 315-324.
- VERMES, I.; C. HAANEN (1994). «Apoptosis and programmed cell death in health and disease». *Adv. Clin. Chem.*, núm. 31, pàg. 177-246.
- VORBRODT, A. W.; H. M. WISNIEWSKI (1982). «Plasma-lemma-bound nucleoside diphosphatase as a cytochemical marker of central system (CNS) mesodermal cells». *J. Histochem. Cytochem.*, núm. 30, pàg. 418-424.
- WALTZ, W.; G. GIMPL; C. OHLEMEYER; H. KETTENMAN (1994). «Extracellular ATP-induced currents in astrocytes: involvement of a cation channel». *J. Neurosci. Res.*, núm. 38, pàg. 12-18.
- WALTZ, W.; S. ILSCHNER; C. OHLEMEYER; R. BANATI; H. KETTENMAN (1993). «Extracellular ATP activates a cation conductance and a K⁺ conductance in cultured microglial cells from mouse brain». *J. Neurosci.*, núm. 13, pàg. 4403-4411.
- WIESSNER, C.; J. GEHRMANN; D. LINDHOLM; R. TOPPER; G. W. KREUTZBERG; K. A. HOSSMANN (1993). «Expression of transforming growth factor-beta-1 and interleukin-1-beta messenger RNA in rat brain following transient forebrain ischemia». *Acta Neuropathol.*, núm. 86, pàg. 439-446.
- WILLIAMS, A. E.; W. F. BLAKEMORE (1990). «Monocyte-mediated entry of pathogens into the central nervous system». *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, núm. 16, pàg. 377-392.
- WILLIAMS, G. T.; C. A. SMITH; N. J. MCCARHY; E. A. GRIMES (1992). «Apoptosis: final control in cell biology». *Trends Cell Biol.*, núm. 2, pàg. 263-267.
- WOOD, P.; R. P. BUNGE (1984). «The biology of the oligodendrocyte». A: Norton, W. T. *Oligodendroglia*, New York: Plenum Press. pàg. 1-46.
- WOODROOFE, M. N.; G. S. SARNA; M. WADHWA; G. M. HAYES; A. J. LOUGHLIN; A. TINKER; M. L. CUZNER (1991). «Detection of interleukin-1 and interleukin-6 in adult rat brain, following mechanical injury, by in vivo microdialysis: evidence of a role for microglia in cytokine production». *J. Neuroimmunol.*, núm. 33, pàg. 227-236.
- WU, C. H.; C. Y. WEN; J. Y. SHIEH; E. A. LING (1992). «A quantitative and morphometric study of the transformation of amoeboid microglia into ramified microglia in the developing corpus callosum in rats». *J. Anat.*, núm. 181, pàg. 4423-430.
- (1993). «A quantitative study of the differentiation of microglial cells in the developing cerebral cortex in rats». *J. Anat.*, núm. 182, pàg. 403-413.
- YABUCHI, K.; M. MINAMI; S. KATSUMATA; M. SATOH (1993). «In situ hybridization study of interleukin-1 beta mRNA induced by kainic acid in the rat brain». *Mol. Brain Res.*, núm. 20, pàg. 153-161.
- YAÑEZ, A.; L. ACARIN; B. GONZÁLEZ; B. CASTELLANO (1996a). «Microglial response and MHC II expression in the thalamus following a neocortical aspiration lesion in the adult rat brain». *Second European*

- Meeting on Glial Cell Function in Health and Disease.*
Arcachon, abril. pàg. 91.
- (1996b). «Microglial response and MHC II expression in the thalamus following a neocortical aspiration lesion in the adult rat brain». *Eur. J. Neurosci.* [Enviat]
- YAO, J.; J. E. KERI; R. E. TAFFS; C. A. COLTON (1992). «Characterization of interleukin-1 production by microglia in culture». *Brain Res.*, núm. 591, pàg. 88-93.
- YOUNG, A; M. B. BROMBERG; J. B. PENNEY (1981). «Decreased glutamate uptake in subcortical areas deafferentated by sensorimotor cortical ablation in the cat». *J. Neurosci.*, núm. 1, pàg. 241-249.
- ZAMMIT, P. S.; J. D. W. CLARKE; J. P. GOLDING; I. A. GOODBRAND; D. A. TONGE (1993). «Macrophage response during axonal regeneration in the axolotl central and peripheral nervous system». *Neuroscience*, núm. 54, pàg. 781-789.
- ZIELASEK, J.; M. TAUSCHER; K. V. TOYKA; P. HARTUNG (1992). «Production of nitrite by neonatal microglial cells/brain macrophages». *Cell Immunol.*, núm. 141, pàg. 111-120.