

Descripción anatómica de la presencia de perforaciones naturales en la piamadre humana en la médula lumbar

M.A. Reina^{a,*}, A. López García^{b,*} y J.A. de Andrés^{c,**}

Servicios de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor. *Hospital de Móstoles. Madrid. **Hospital General Universitario. Valencia.

Resumen

OBJETIVO. La piamadre siempre ha sido considerada como una membrana altamente permeable respecto a las otras membranas meníngeas. En algunos animales se encontraron perforaciones naturales en la piamadre que justificaban su alta permeabilidad. Sin embargo, en estudios realizados en humanos no se logró demostrar la existencia de tales perforaciones naturales.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la piamadre humana dorsolumbar, buscando perforaciones propias de la piamadre que faciliten la difusión de sustancias hacia la médula cuando son administradas en el espacio subaracnoideo.

MATERIAL Y MÉTODO. Las muestras fueron obtenidas de 4 cadáveres humanos de 70, 72, 77 y 78 años entre 8 y 12 h después de producirse su muerte. Se observaron después de haber sido fijadas en una solución de glutaraldehído tampón fosfato, deshidratación en acetona y posterior eliminación de la acetona por punto crítico, tratamiento con carbono y metalización con oro.

RESULTADOS. La piamadre estaba formada por una delgada lámina celular de superficie lisa, y tejido conectivo por debajo formado principalmente por fibras de colágeno y sustancia amorfa fundamental. Las fibras de colágeno estaban dispuestas en diferentes direcciones.

Sobre toda la superficie de la piamadre se observaron perforaciones naturales distribuidas de forma variable y con formas circulares, elípticas u ovoides. Sus dimensiones eran variables. La mayor cantidad de éstas tenía un diámetro mayor de 10-15 μm y un diámetro menor de 5-8 μm .

Dentro de estos orificios se observó la presencia de fibras con características similares al colágeno, que se correspondían con las situadas normalmente por debajo del plano celular.

CONCLUSIÓN. El espesor total de la piamadre es variable en las diferentes zonas de la médula espinal, dependiendo estas variaciones del espesor celular y del espesor del tejido extracelular ubicado en el espacio subpial.

La existencia de fenestraciones naturales uniformemente distribuidas en las muestras analizadas de la piamadre dorsolumbar humana justifica la alta permeabilidad de esta membrana, permitiendo un rápido paso de las sustancias administradas en el líquido cefalorraquídeo hacia la médula.

Estas fenestraciones naturales son áreas donde la superficie celular está ausente, y usualmente se exponen las fibras colágenas que están por debajo. La piamadre, en general, se consideraba que constituía una lámina celular completa que formaba una barrera entre el sistema nervioso central y el espacio subaracnoideo; sin embargo, la existencia de estas fenestraciones demostraría la inexistencia de dicha barrera, siendo la membrana basal ubicada por debajo de las fibras conectivas la única estructura indemne previa al tejido glial de la médula.

Palabras clave:

Anatomía; meninges, piamadre. Microscopía: microscopía electrónica de barrido. Técnica: anestesia espinal.

Anatomical description of natural perforations present in human lumbar pia mater

Summary

OBJECTIVE. The pia mater has always been considered more permeable than other meningeal membranes. Natural pia mater perforations found in some animals attest to this membrane's permeability. Such perforations, however, have never been demonstrated in human tissue. Our objective was to study human pia mater from the dorsal lumbar region, looking for perforations that facilitate the diffusion of substances to the spinal cord following subarachnoid administration.

MATERIAL AND METHOD. The specimens were removed from four human cadavers aged 70, 72, 77 and 78 years between 8 and 12 hours after death. The specimens were fixed in a phosphate glutaraldehyde buffer solution, followed by desiccation in acetone and critical point elimination of acetone, treatment with carbon and metallization with gold.

RESULTS. The pia mater was composed of a smooth surfaced, thin layer of cells and underlying connective tissue formed mainly of collagen fibers and fundamental amorphous matter. The collagen fibers were oriented in various directions.

^aMédico adjunto. ^bJefe del Servicio de Anestesiología y Reanimación. Hospital General de Móstoles. Madrid. ^cProfesor asociado de Anestesiología. Universidad de Valencia. Coordinador de la Unidad de Dolor.

Correspondencia: Dr. M.A. Reina. Valmojado, 95, 1.º B. 28047 Madrid.

Aceptado para su publicación en septiembre de 1997.

Throughout the surface of the pia mater, natural circular, elliptical and ovoid perforations were distributed irregularly. Size varied. Most measured over 10 to 15 micrometers in diameter or less than 5 to 8 micrometers.

Inside the openings, fibers similar to collagen fibers could be seen at the point where they would normally be found beneath the cell layer.

CONCLUSION. The total thickness of the pia mater varies in different zones of the spine, as a result of variations in the thickness of the cell layer and in the underlying extracellular layer.

The existence of natural fenestrations in all the analyzed specimens of human dorsal lumbar pia mater accounts for the high permeability of this membrane, which permits substances administered in spinal fluid to reach the spinal cord.

These natural fenestrations are areas where the cell surface is absent, with underlying collagen fibers usually visible. The pia mater is generally believed to be composed of a complete cell layer that forms a barrier between the central nervous system and the subarachnoid space; however, the presence of fenestrations would indicate that such a barrier does not exist, the base membrane being placed under the connective fibers, the only intact structure prior to medullary glial cells.

Key words:

Anatomy: meninges, pia mater. Microscopy: scanning electron microscopy. Technique: spinal anesthesia.

Introducción

La piamadre, la más interna de las meninges, posee una textura delicada altamente vascularizada y adherida a la médula¹ que puede despegarse con relativa facilidad, excepto donde penetra por las hendiduras y acompaña a los vasos sanguíneos durante cortos trayectos dentro de la médula. Cuando administramos anestésicos locales en el espacio subaracnoideo, la médula ejerce un efecto captador llegando a las moléculas administradas hasta ésta después de haber atravesado la piamadre por un mecanismo de difusión a través de un gradiente de concentración. La piamadre siempre ha sido considerada como una membrana altamente permeable respecto a las otras membranas meníngeas. En estudios en ratas y en perros, pudo determinarse la existencia de perforaciones denominadas fenestraciones naturales que justificaban la alta permeabilidad en esta membrana. Estas fenestraciones eran el resultado de la falta de células piales en algunas zonas, con lo cual se limitaban característicos agujeros en la piamadre²⁻³.

Después de haber estudiado previamente la duramadre humana⁴⁻⁷ y habiendo confirmado la existencia de estas perforaciones naturales en gatos, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la piamadre humana dorsolumbar con la misma técnica, buscando zonas naturales que faciliten la difusión de sustancias hacia la médula cuando son administradas en el espacio subaracnoideo.

Material y método

Se utilizaron 4 cadáveres humanos de sexo masculino, de 70, 72, 77 y 78 años, respectivamente, fallecidos por complicaciones de infarto agudo de miocardio sin antecedentes de enfermedades endocrinas, neurológicas o infecciosas, y mantenidos en cámara frigorífica de 8-12 h después de su muerte.

Fueron sometidos a una autopsia, en la que se les practicó laparotomía por vía abdominal y evisceración con posterior laminectomía por vía anterior desde la sexta vértebra torácica hasta la quinta vértebra lumbar. Seguidamente, se realizó una resección de todos los cuerpos vertebrales, una sección de las raíces raquídeas a su salida de los agujeros de conjunción y una extracción de la médula envuelta en sus meninges entre D₇-L₅. La resección y la extracción del material fueron realizadas por uno de los investigadores, utilizando para el análisis el conjunto de médula y piamadre comprendida desde D₁₁ hasta L₄.

Las diferentes muestras se cortaron y a continuación fueron sumergidas en solución de glutaraldehído al 2,5% en tampón fosfato a pH 7,3 ± 0,02 durante 4 h. Las muestras fueron lavadas por inmersión en solución de buffer fosfato, para después iniciar la deshidratación por inmersión en soluciones de concentración creciente de acetona desde el 50 hasta el 100%. La acetona fue eliminada con dióxido de carbono al alcanzar su punto crítico a 31 °C y una presión de 73,8 bar dentro de la cámara de deshidratación de un equipo Balzers CPD 030-Critical Point Dryer (Balzers, Bal Tec AG, Fürstentum, Lichtenstein).

Para facilitar el posterior metalizado, las muestras se trataron con una microcapa de carbono, con un espesor menor de 200 Å. Este tratamiento se hizo en un equipo Balzers MED 010 Mini Deposition System (Balzers, Bal Tec AG, Fürstentum, Lichtenstein), evaporando carbono al pasar una corriente eléctrica a través de un electrodo de grafito dentro de una cámara de vacío sometida a 10⁻⁵ mbar.

Para que la superficie fuera visible al microscopio electrónico de barrido, las muestras se metalizaron con una microcapa de oro al hacer pasar una corriente de 20 µA a través de un electrodo de oro dentro de una cámara de vaporización de un equipo SCD 004 Balzers Sputter Coater (Balzers, Bal Tec AG, Fürstentum, Lichtenstein) sometidas a 0,1 bar de vacío.

Las muestras fueron examinadas y fotografiadas sobre muestras de 10 × 10 mm en un microscopio tipo JEOL JSM 6400 Scanning Microscope (JEOL Corporation Ltd., Tokyo, Japón).

Resultados

La piamadre se presentó como una membrana conectiva fibrosa íntimamente unida a la superficie de la médula espinal. La superficie pial era lisa, compuesta por una delgada lámina celular, la cual fácilmente se separó durante la preparación.

Entre esta superficie celular y la membrana basal de la médula espinal había una porción pial rellena de tejido conectivo, formada principalmente por fibras de colágeno dispuestas aleatoriamente o en madejas.

La superficie en su conjunto no era totalmente plana, sino con aspecto mamelonar, en la que se observaban pequeñas sobreelevaciones de 10-20 µm. Las células piales eran células planas de aspecto liso a 200 aumentos, pero con un aspecto más rugoso a mayor aumento (fig. 1), y se observaban a partir de 2.000 aumentos microporos de 0,1-0,3 µm (figs. 2 y 3).

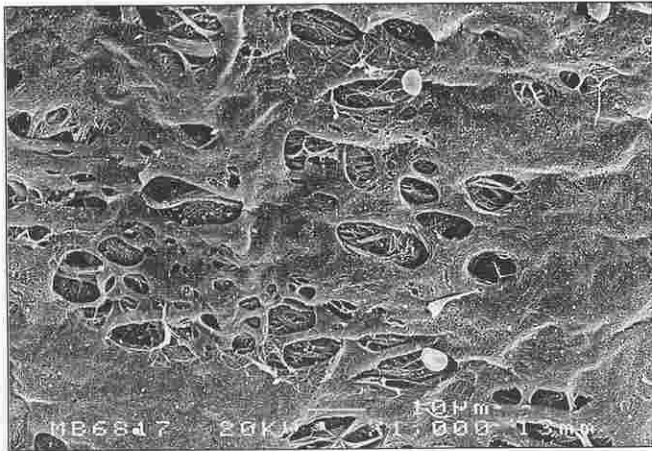


Fig. 1. Piamadre humana. Fenestraciones naturales de diferentes tamaños. Se observan fibras de colágeno dentro de cada una de las fenestraciones. Eritrocitos aislados sobre la muestra procedentes de la manipulación durante su preparación. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: $\times 1.000$. Barra = $10 \mu\text{m}$.

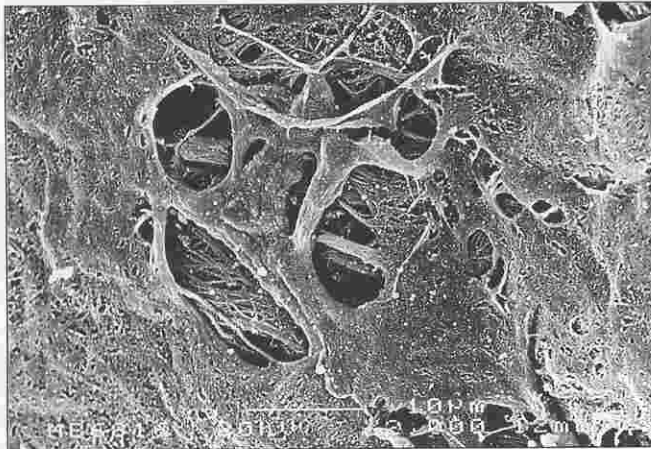


Fig. 2. Piamadre humana. Detalle de un conjunto de fenestraciones naturales a mayor aumento. Se observan células piales separadas entre sí a partir de algunos de sus bordes que adoptan un aspecto más redondeado. A través de las fenestraciones se observan fibras de colágeno orientadas en diferentes direcciones. Microporosidades sobre la superficie pial. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: $\times 2.000$. Barra = $10 \mu\text{m}$.

Sobre toda la superficie de la piamadre estudiada, hemos podido observar perforaciones o fenestraciones naturales distribuidas con una densidad variable. Estas fenestraciones tenían formas circulares, elípticas u ovoides. Sus dimensiones eran variables. La mayor cantidad de éstas tenía un diámetro mayor de $10\text{-}15 \mu\text{m}$ y un diámetro menor de $5\text{-}8 \mu\text{m}$, pero también había fenestraciones de $2 \mu\text{m}$ de diámetro y en menor proporción de hasta $50 \mu\text{m}$ de diámetro (fig. 1).

No observamos líneas de desgarro que nos hicieran suponer que las muestras hubiesen estado sometidas a fuerzas de tracción. Los bordes eran siempre curvos y algunas fenestraciones presentaban un ligero aumento del espesor en los bordes de las células piales que las limitaban. En algunas

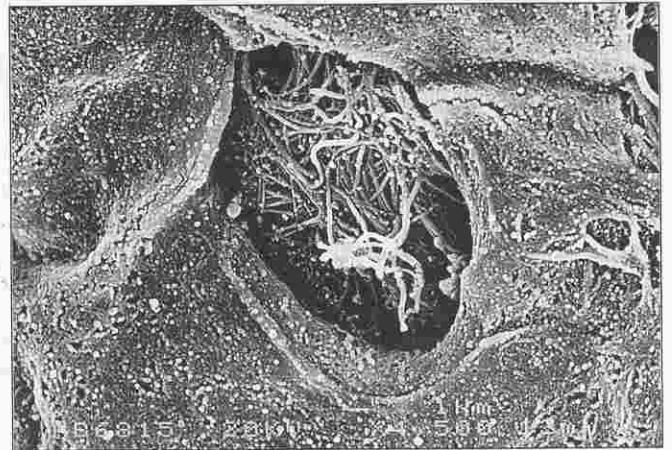


Fig. 3. Piamadre humana. Detalle de una fenestración natural a mayor aumento. Fibras de colágeno orientadas en diferentes direcciones. Microporosidades sobre la superficie pial. Microscopía electrónica de barrido. Aumento: $\times 4.500$. Barra = $1 \mu\text{m}$.

zonas había tantas perforaciones naturales sobre la superficie pial que la separación entre estas fenestraciones ocupada por células piales era de $2\text{-}3 \mu\text{m}$.

Cuando observamos simultáneamente fenestraciones cercanas apenas separadas por $20\text{-}30 \mu\text{m}$, encontramos que las fibras de colágeno tenían un diámetro que oscilaba entre $0,1$ y $0,2 \mu\text{m}$, subyacían por debajo y tenían diferentes direcciones, que en muchos casos se entrecruzaban. Como dato estimativo de la cantidad de fenestraciones encontradas, pudimos contar 242 perforaciones en un área rectangular fotografiada de $350 \times 500 \mu\text{m}$.

La unión entre las diferentes células piales sobre la superficie era perfecta, por lo que resultaba casi imposible identificar la zona de unión entre dos células contiguas. Una célula pial aislada resulta muy difícil de distinguir.

Discusión

Histológicamente, la piamadre está formada por una extensa cantidad de células planas, células piales, que están separadas del tejido neural medular por una cantidad variable de tejido conectivo, principalmente fibras de naturaleza colágena.

Este conjunto de fibras que se encuentra por debajo del plano celular fue descrito antiguamente con diferentes nombres. La generación de anatomistas previa a los años cuarenta lo consideró como un espacio pequeño, fluido, estrecho que rodeaba al sistema nervioso central otorgándole denominaciones como: espacio perineural, pericapilar, perivascular o subpial. Este término original implicaba un espacio libre vacío disponible al flujo de fluidos. Pero el espacio subpial como tal no existe ya que no puede desplazarse un fluido a través de él. Este espacio no está libre, sino ocupado por abundantes fibras colágenas y sustancia amorfa fundamental. Al observarlo por microscopía electrónica de barrido también se puede interpretar erróneamente como un

espacio vacío porque toda la sustancia amorfa fundamental ubicada entre las fibras fue eliminada por la acetona durante la preparación de las muestras.

El espesor total de la piamadre es variable en las diferentes zonas de la médula espinal. Estas variaciones de espesor se producen tanto a expensas del espesor celular como en relación al espesor del tejido extracelular ubicado en el espacio subpial.

Antiguamente, las células piales se interpretaron como fibroblastos, pero en estudios posteriores (Morse y Low)² se describió que las células piales no poseen un retículo endoplásmico elaborado característico de los fibroblastos, no alcanzando el nivel de diferenciación de éstos.

El estudio previo en la piamadre de gatos usando la misma técnica microscópica nos permitió familiarizarnos con las características de las fenestraciones buscadas, que coincidieron en forma y tamaño con las fotografiadas por los otros autores²⁻³. Son áreas de tamaño variable, donde la superficie celular está ausente y usualmente se exponen las fibras piales conectivas que están por debajo.

La piamadre, en general, se consideraba que constituía una lámina celular completa que formaba una barrera entre el sistema nervioso central y el espacio subaracnoideo; sin embargo, la existencia de estas fenestraciones demostraría la inexistencia de dicha barrera.

Bromage, en su libro *Analgesia epidural*⁸, hizo referencia a las fenestraciones naturales de la piamadre al mencionar primero los trabajos de Morse y Low² (1972) y más tarde los estudios de Cloyd y Low³ (1974). Sin embargo, estos estudios habían sido realizados en ratas y perros, respectivamente, y no en el hombre. Estas fenestraciones en la piamadre fueron confirmadas más tarde por Krahn⁹ (1982) en gatos y conejos en la entrada de los vasos que penetran hacia la médula. Cuando se hicieron estudios en humanos, Nicholas y Weller¹⁰ (1988) no lograron identificar dichas fenestraciones. Estos autores advirtieron que sus muestras de piamadre habían sido extraídas a nivel torácico y no a nivel lumbar.

Concluimos que en la piamadre humana a nivel lumbar existen fenestraciones naturales similares a las encontradas previamente en animales. A nivel anatómico, este hallazgo justificaría la alta permeabilidad de esta membrana, permi-

tiendo un rápido paso de las sustancias administradas en el líquido cefalorraquídeo hacia la médula, dada la inexistencia de barrera celular pial y en donde la membrana basal es la única estructura indemne previa al tejido glial de la médula.

Agradecimiento

A los Dres. Luis Cortés Lambea, María José Mestre de Juan, Constantino Varona Crespo, José Fortes Alen y Concepción Villanueva Sánchez, del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General de Móstoles, Madrid; al técnico Alfredo Fernández Larios, del Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad Complutense de Madrid; a los técnicos especialistas en anatomía patológica Gloria Isidora León Bellón y María Encarnación del Campo Vaca, del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Móstoles, Madrid, a la Profa. Emilse Colman Lerner, Licenciada en Ciencias Químicas, y a Blanca San José Montano, del Servicio de Biblioteca del Hospital de Móstoles.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bridenbaugh PO, Greene NM. Bloqueo nervioso intradural (subaracnoideo). En: Cousins MJ, Bridenbaugh PO, editores. Bloqueos nerviosos en anestesia clínica y tratamiento del dolor. Barcelona: Ediciones Doyma, 1991; 246-247.
2. Morse DE, Low FN. The fine structure of the pia mater of the rat. *Am J Anat* 1972; 133: 349-368.
3. Cloyd MW, Low FN. Scanning electron microscopy of the subarachnoid space in the dog. I: spinal cord levels. *J Comp Neurol* 1974; 153: 325-368.
4. Reina MA, López A, Dittmann M, De Andrés JA. Análisis de la superficie externa e interna de la duramadre humana mediante microscopía electrónica de barrido. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 1996; 43: 130-134.
5. Reina MA, López A, Dittmann M, De Andrés JA. Análisis estructural del espesor de la duramadre humana mediante microscopía electrónica de barrido. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 1996; 43: 135-137.
6. Reina MA, Dittmann M, López A, Van Zundert A. New perspectives in the microscopic structure of human dura mater in the dorso-lumbar region. *Reg Anesth* 1997; 22: 161-166.
7. Reina MA, López A, De Andrés JA, Dittmann M, Cascales M, Del Caño MC et al. Estudio en cadáveres mediante microscopía electrónica de barrido de la lesión dural producida por la aguja de Whitacre y Quincke. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 1997; 44: 56-61.
8. Bromage PR. Anatomía. En: Bromage PR, editor. *Analgesia epidural*. Barcelona: Salvat, 1985; 16.
9. Krahn V. The pia mater at the site of the entry of blood vessels into the central nervous system. *Anat Embryol* 1982; 164: 257-263.
10. Nicholas DS, Weller RO. The fine anatomy of the human spinal meninges. A light and scanning electron microscopy study. *J Neurosurg* 1988; 69: 276-282.