

**ESTRUCTURAS LAMINARES EN FORMA DE VARILLA EN PERICITOS DE
CAPILARES DE LA MUCOSA DORSAL DE LA LENGUA DEL SAPO
BUFO MARINUS L. (ANURA, BUFONIDAE).**

**STICK-LIKE LAMELLAR STRUCTURES IN PERICYTES OF CAPILLARIES OF
THE TOAD *BUFO MARINUS* L (ANURA, BUFONIDAE) LINGUAL DORSAL
MUCOSA**

M.A. González-Elorriaga¹, G. Canepa^{1,3} y A. Boada-Sucre^{1,2}

1. Centro de Microscopía Electrónica y Postgrado en Zoología Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela; 2. Decanato de Veterinaria, Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. Fax: (58) 212- 6930694. E-mail: mgonzale@electra.ciens.ucv.ve; 3. Centro Estudios Biomédicos y Veterinarios IDECYT, Universidad Simón Rodríguez, Caracas ;

RESUMEN

La microvasculatura de la lengua de anfibios anuros no había sido estudiada hasta ahora. Muestras de la mucosa dorsal de la lengua del sapo *Bufo marinus* fueron procesadas para microscopía electrónica de transmisión. Se analiza la estructura de pericitos que forman la pared de capilares localizados en el tejido conectivo que rodea el extremo proximal de las glándulas linguales túbulo-alveolares. La pared del vaso está formada por un único pericito de gran tamaño envolviendo casi completamente a las células endoteliales que revisten su superficie interna. El pericito aparece como una célula ramificada lateral y ventralmente, completamente cercada por una lámina basal asimétrica. Presenta un núcleo grande, heterocromático, arriñonado, con una escasa cantidad de citoplasma adyacente a las superficies dorsal y ventral del núcleo. La mayor parte del citoplasma celular está distribuido en los dos procesos laterales y en los numerosos procesos terminales; varios de los cuales se contactan con la superficie externa de las células endoteliales subyacentes. El citoplasma perinuclear y de los procesos laterales, contiene mitocondrias, polisomas, microfilamentos además de un conjunto de estructuras laminares, con aspecto de varilla, de hasta 1 µm de longitud, limitadas por membrana, mostrando una organización interna regular formada por láminas electrón densas alternadas con bandas electrón transparentes cruzadas periódicamente por líneas electrón densas muy delgadas. A lo largo de la membrana plasmática del pericito se observan placas de adhesión electrón densas donde convergen filamentos intracelulares y de la matriz extracelular. Algunas varillas se localizaron en la cisterna perinuclear. Las características ultraestructurales observadas sugieren que al menos una de las funciones de este tipo de pericitos, es la de asegurar el soporte mecánico de estos vasos previniendo que su lumen colapse durante la contracción muscular de la lengua.

ABSTRACT

As far as we know the amphibian tongue dorsal mucosa microvasculature has never been studied until now. Samples of the toad *Bufo marinus* tongue dorsal mucosa were processed for transmission electron microscopy. Pericytes of capillaries of the connective tissue beneath the proximal end of the tubulo-alveolar lingual glands were analyzed. This vessel wall is constituted by a single, large pericyte, surrounding, almost completely, the endothelial cells lining its internal surface. The pericyte appears as a laterally and basally branched cell, completely surrounded by an asymmetrical basal lamina. The large, heterochromatic, kidney shaped nucleus, display scarce cytoplasm adjacent to its dorsal and ventral surface. Most of the pericyte cytoplasm appears distributed among the two main or lateral processes and the numerous terminal or secondary processes several of which contact the adventitial surface of subjacent endothelial cells. The perinuclear and lateral processes cytoplasm show mitochondria, polysomes, microfilaments, and several membrane bounded stick-like multilamellar structures up to 1µm long, displaying a regular arrangement of

electron dense lines alternating with electron lucent bands crossed by a repeating pattern of very thin electron dense lines. Pericyte shows adhesion plaques along the plasmalemma attained by intracellular and extracellular matrix filaments. Some of the stick-like lamellar structures were localized in the perinuclear cistern. Ultrastructural characteristics suggest that at least one of this pericyte roles, could be the mechanical support of this capillaries preventing their lumen collapse during the muscular contraction of the tongue.

Palabras clave: capilares, pericitos, estructuras laminares semejantes a varilla, mucosa dorsal, lengua, sapo.

Keywords: capillaries, pericytes, stick-like lamellar structures, dorsal mucosae, tongue, toad.

INTRODUCCION

El lecho microvascular juega un importante papel en la regulación del flujo sanguíneo y en los procesos de intercambio sangre-tejido y debe presentar distintas adaptaciones morfo-funcionales de acuerdo a las exigencias particulares de cada órgano o tejido. Los pericitos son células que rodean al endotelio en los pequeños vasos sanguíneos substituyendo a las fibras musculares lisas que forman la capa media en los vasos de mayor calibre. Se han estudiado los pericitos de una gran variedad de tejidos y órganos (Sims, 1986). Estas células se distinguen por estar completamente rodeadas de una lámina basal que se interrumpe en las zonas en las que el pericito establece aposiciones estrechas con las células endoteliales subyacentes (Forbes y col., 1977; Courtoy y col., 1980; Courtoy y Boyles, 1983). Entre sus características ultraestructurales se han señalado las siguientes: un núcleo grande, discoidal heterocromático y un citoplasma con mitocondrias, aparato de Golgi, polisomas, cisternas de retículo endoplasmático liso y rugoso, escasos lisosomas, filamentos de α -actina vascular, vimentina, desmina, miosina de fibras musculares lisas y caveolas o vesículas plasmalémicas (Courtoy y Boyles, 1983; Hermann y D'Amore, 1985; Joyce y col., 1985a; 1985b; Fujimoto y Singer, 1987; Skalli y col., 1989). Se ha demostrado que los pericitos intervienen en la regulación de la angiogénesis y en la inducción y estabilización de la diferenciación endotelial (Orlidge y D'Amore, 1987; Nicosia y Villaschi, 1999; Hellstrom y col., 2001). Además de los componentes ultraestructurales arriba mencionados, Lafarga y Hervás (1978) encontraron dos tipos de inclusiones nucleares en pericitos hipotalámicos en rata. Los objetivos de este trabajo son: 1) Caracterizar ultraestructuralmente el pericito

de ciertos capilares de la mucosa dorsal de la lengua del sapo *Bufo marinus* y 2) Describir la presencia de unas estructuras laminares en forma de varilla, aparentemente revestidas por membrana, encontradas tanto en el citoplasma como en la envoltura nuclear de estos pericitos.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de la mucosa dorsal de la lengua de un sapo *Bufo marinus* de 90 grs., macho adulto, fueron fijadas en el fluido de Karnovsky (1965) a mitad de su concentración original (2.5 % glutaraldehído + 2% paraformaldehído en tampón cacodilato 0.05M pH 7.6) durante 18 horas a 4°C. Luego de lavar toda la noche en tampón cacodilato adicionado con 0.22M de sacarosa a 4°C, las muestras fueron postfijadas por 2 horas y a 22°C en una mezcla a partes iguales de 1.5% de ferrocianuro de K y 1.25% de tetróxido de osmio (Russell y Burguet, 1978). Las muestras se lavaron con agua destilada varias veces y luego se colorearon in toto incubándose en 1% de acetato de uranilo en tampón maleato_NaOH pH 5.2 por toda la noche a 4°C. Al día siguiente se procedió a la deshidratación progresiva empleando una serie de alcoholes de concentración ascendente y se trataron con óxido de propileno antes de ser infiltrados en Epón. Una vez polimerizados los bloques, se realizaron cortes de 1 μ m de espesor que se colorearon con una solución de Azul de toluidina (Richardson y col., 1960) después de ser montados en láminas portaobjetos. Seleccionado el área de estudio, se realizaron cortes ultrafinos de 70-90 nm los cuales fueron montados en rejillas de cobre revestidas de una membrana de colodión, fueron contrastados con 3% de acetato de uranilo y una solución de citrato de plomo (Reynolds, 1963). Las observaciones se

realizaron a 75 kV de voltaje de aceleración en un microscopio electrónico de transmisión Hitachi H 7.100.

RESULTADOS

El corion de la mucosa dorsal que rodea las bases de las glándulas linguales tubulo-alveolares se caracteriza por contener fibroblastos, mastocitos, delgadas fibras musculares estriadas, pequeños paquetes nerviosos y pequeños vasos sanguíneos. Entre los vasos se observaron algunos capilares con características especiales. Se trata de un vaso de 16 μm de diámetro cuya pared aparece constituida por un revestimiento interno formado por 3 células

endoteliales aplanadas rodeadas casi enteramente por un único pericito de gran tamaño completamente cercado por una lámina basal (Fig. 1). El pericito presentó el aspecto de una célula ramificada polarizada en la que se pueden diferenciar tres porciones: 1) el soma o porción central que incluye el núcleo y un escaso citoplasma perinuclear; 2) dos procesos laterales que se extienden hasta cubrir al menos el 50% del revestimiento endotelial del vaso y 3) numerosos procesos terminales que se extienden desde el soma y los procesos laterales en dirección a la superficie adventicial del endotelio y cubren más del 75% del revestimiento endotelial (Fig. 1). La matriz extracelular adyacente a la cara adventicial o externa

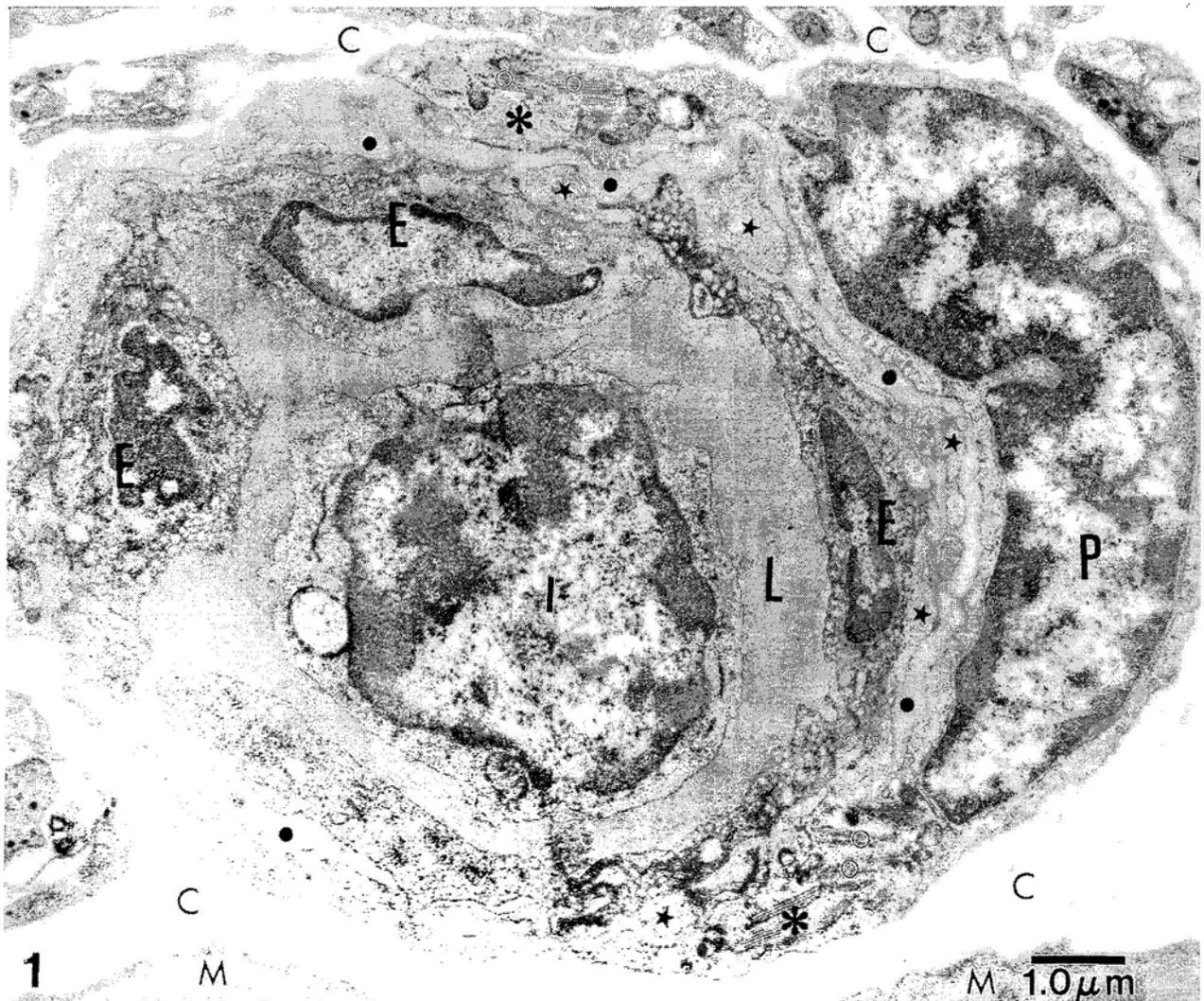


Figura 1. Pared de un capilar de la mucosa dorsal de la lengua del sapo. La lámina basal (círculos negros) que envuelve al pericito (P) es más gruesa en la superficie que enfrenta al endotelio (E). El pericito muestra un soma conteniendo un núcleo grande, indentado, con una periferia dominada por la heterocromatina y un interior amplio de euromatina; dos procesos primarios laterales (asteriscos) conteniendo la mayoría de las formaciones laminares en forma de varilla (círculos blancos) además de numerosos procesos terminales sobre la superficie endotelial (estrellas pequeñas). El lumen del vaso contiene un leucocito semejante a linfocito. Magnificación: 15.000x.

del pericito se organiza como una lámina basal delgada. Esta se extiende bordeando la cara interna o endotelial del pericito, donde adquiere un espesor mayor -aunque variable- y un aspecto entre granular y filamentoso ligeramente electrón denso (Fig. 1). Este material rellena todos los espacios laberínticos que se forman entre el soma o los procesos laterales del pericito con sus procesos terminales y entre éstos y la superficie externa o adventicial del endotelio conectando ambas células (Figs. 1 y 2). El núcleo del pericito es grande ($10 \times 2 \mu\text{m}$), con una banda periférica de heterocromatina discontinua y un centro mayormente ocupado por eucromatina, tiene una superficie bastante lisa con 3-4 pliegues o indentaciones (Fig. 1). El espesor del citoplasma que rodea la cara

externa e interna del núcleo pericito es de 300 nm (Figs. 1, 2 y 3) y en ella se logran distinguir algunos polisomas, delgados paquetes de filamentos los cuales tienden a formar redes que se extienden entre la envoltura nuclear y la membrana plasmática. La membrana plasmática muestra algunas vesículas plasmalémicas de 90 a 100 nm de diámetro, además de zonas o bandas electrón densas donde series regulares de delgados paquetes de filamentos traspasan la membrana plasmática y parecen alcanzar los componentes filamentosos del citoesqueleto (Fig. 5). El citoplasma que forma los procesos laterales alcanza un espesor de hasta $3.5 \mu\text{m}$ y en su interior se observan numerosos polisomas, algunas mitocondrias electrón densas con crestas tubulares, una tupida y fina red filamentososa

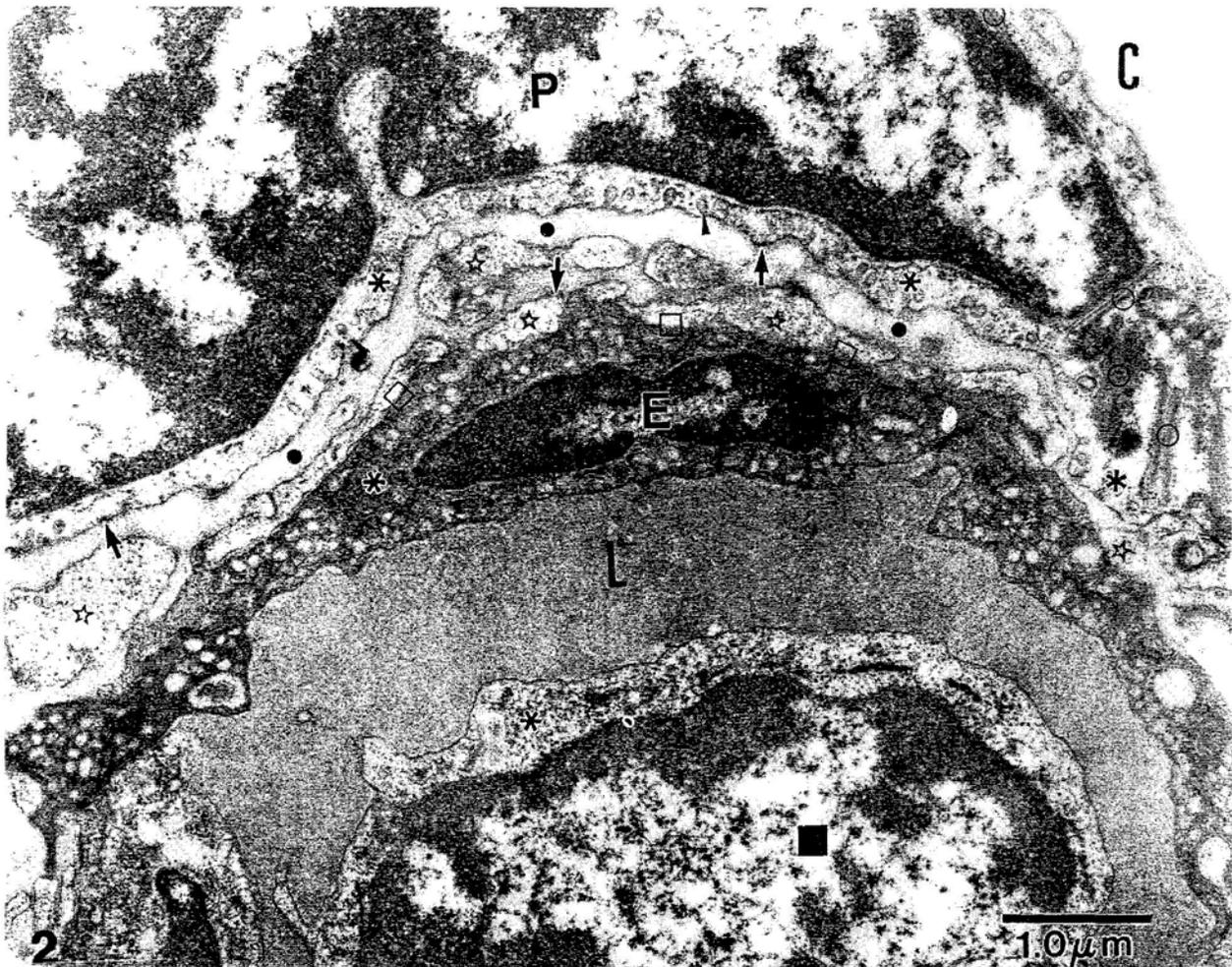


Figura 2. Micrografía electrónica a mayor aumento tomada en la región interna o «suelo» del pericito de la Fig. 1. El escaso citoplasma infranuclear del soma pericítico contiene polisomas (asterisco), vesículas plasmalémicas (cabezas de flecha) y algunas placas de adhesión periféricas (flechas). La lámina basal con aspecto filamentososo (círculos negros) sirve como un pegamento que une el soma del pericito con sus procesos secundarios (estrellas) y a éstos con el endotelio, quedando interrumpida sólo en los puntos en los que se establecen contactos entre la membrana plasmática de los procesos pericíticos y la membrana plasmática de la superficie adventicial de la célula endotelial (recuadro blanco). La célula endotelial (E) subyacente al pericito tiene un núcleo notablemente más pequeño que el del pericito y un citoplasma electrón denso con numerosos polisomas (asterisco). -Magnificación: 25.000x.

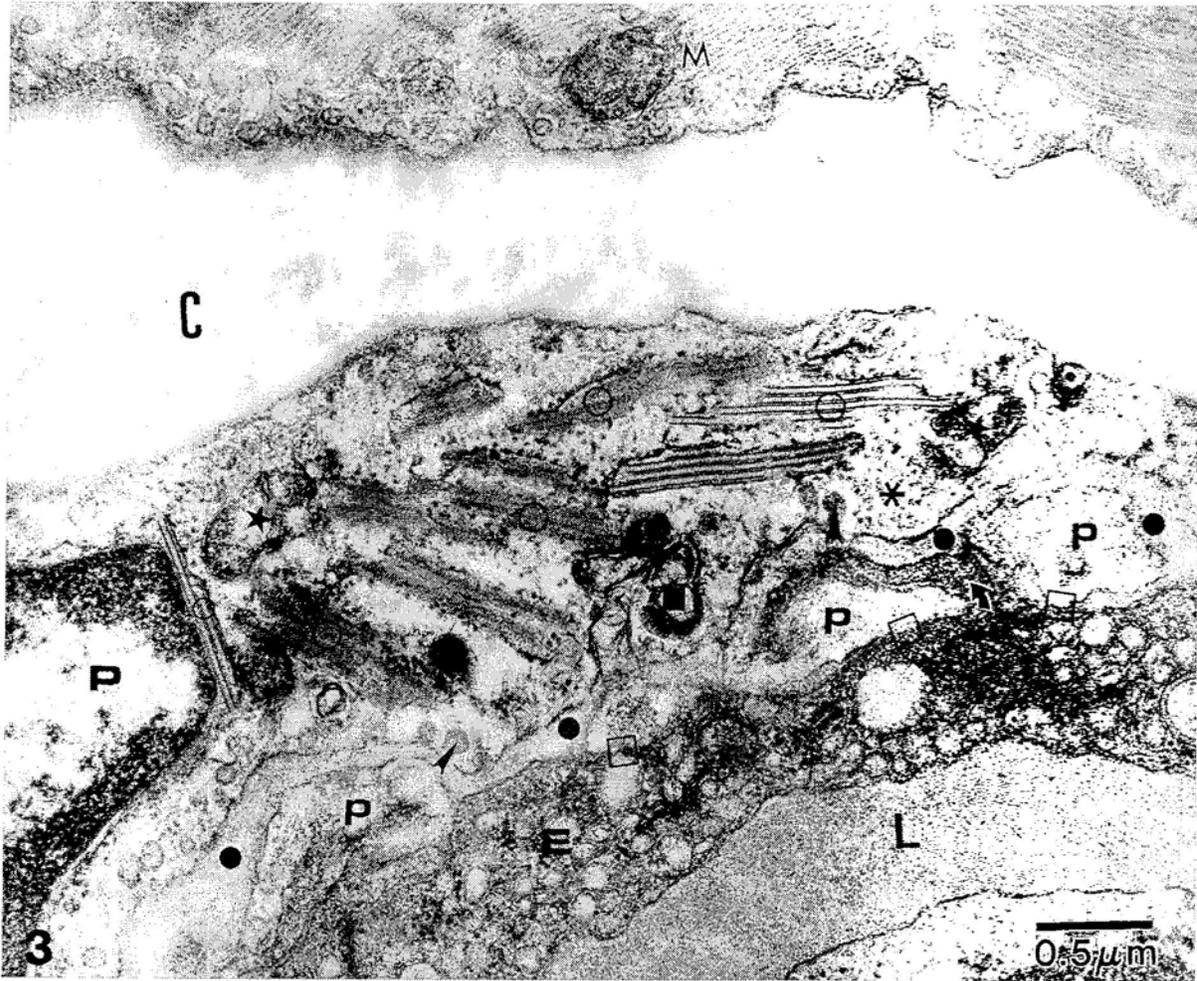


Figura 3. Vista a mayor aumento del proceso lateral del lado derecho del pericito de la Fig. 2. El citoplasma contiene numerosas vesículas plasmalémicas especialmente en la membrana plasmática que mira hacia el endotelio (cabezas de flecha) además de formaciones laminares en forma de varilla cortadas longitudinal y tangencialmente (círculos claros), mitocondrias (estrella), vacuolas autofágicas (recuadro negro), polisomas (asterisco) y filamentos (flecha). Un proceso terminal del pericito (p) conteniendo una red filamentososa es englobado casi completamente por un proceso de la célula endotelial (flecha curva). La lámina basal se interrumpe en los sitios en los que la célula pericitica y la endotelial se contactan (recuadro blanco). Una varilla formada por una unidad trilaminar aparece estrechamente adosada al borde lateral del núcleo del pericito (círculo claro). E= endotelio. Magnificación: 42.500x.

y un conjunto de formaciones en forma de varilla, con una organización interna multilaminar y aparentemente revestidas de membrana. La unidad básica de cada varilla tiene un espesor de 30 nm, una longitud entre 120 nm y 1 μm y aparece formada por dos líneas o bandas electrón densas separadas por una banda más ancha de menor densidad electrónica, que tentativamente hemos denominado "banda clara principal" (Figs. 3 y 4). Las varillas pueden estar formadas por una sola unidad, completamente rodeada por una membrana (Fig. 4) o por hasta 5 unidades organizadas en bandas paralelas (Figs. 3 y 4). En este último caso, aparece una "nueva" banda de baja densidad electrónica, más delgada que la principal, entre las dos líneas electrón densas pertenecientes a dos unidades dis-

tintas superpuestas o adyacentes y todo el conjunto aparece envuelto por una membrana que separa la varilla del resto del citoplasma (Fig. 4). La membrana plasmática de los procesos laterales también muestra numerosas vesículas plasmalémicas y bandas electrón densas gruesas que recuerdan las placas de adhesión de los hemidesmosomas de las células epiteliales en cuya superficie externa parecen concentrarse filamentos de la lámina basal mientras que en su cara citoplasmática convergen filamentos citoesqueléticos (Fig. 4). Algunas de las formaciones en varilla constituidas por 2-3 largas unidades se localizaron entre las membranas externa e interna que forman la envoltura nuclear. Los componentes de cada unidad parecen originarse en contacto con o adyacente a, la cromatina nuclear

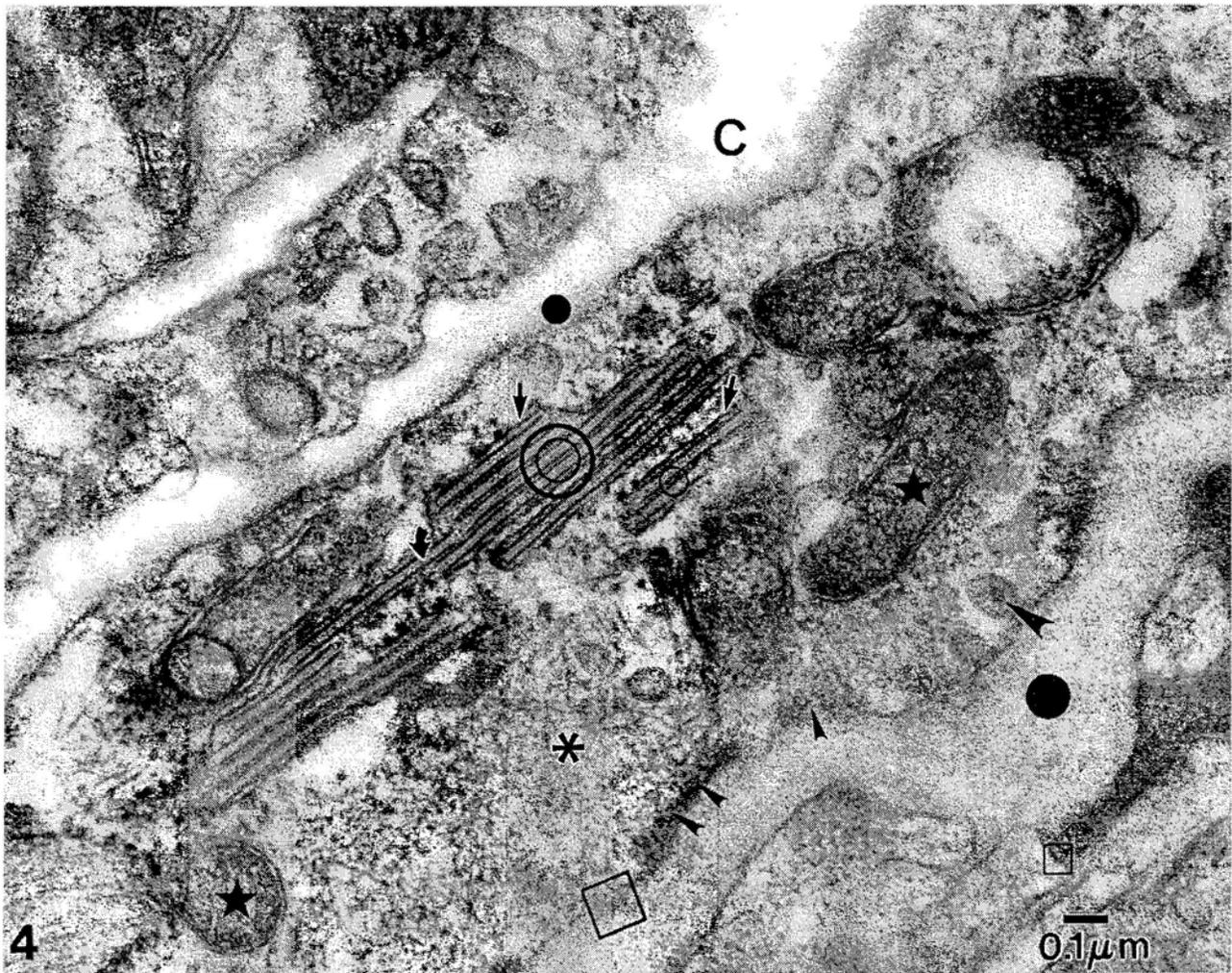


Figura 4. Micrografía electrónica a mayor aumento tomada en el proceso lateral del lado izquierdo del pericito de la fig. 2. El espesor de la lámina basal (círculos negros) es mayor en la superficie endotelial que en la adventicial. El citoplasma del pericito muestra un grupo de mitocondrias (estrellas) con matriz electrón densa y crestas dispuestas en forma irregular, rodeando un conjunto de estructuras laminares en forma de varilla (dobles círculos claros), envueltas en una unidad de membrana (flecha corta recta) y cuya organización interna estratificada recuerda a la de la mielina. Las varillas tienen diferentes longitudes y pueden encontrarse en conjuntos de hasta 4 unidades trilaminares. Cada unidad está representada por dos líneas rectas electrón densas separadas por una banda ancha de menor densidad electrónica (flecha curva). Los conjuntos formados por dos o más unidades muestran una estrecha banda adicional de menor densidad electrónica (círculo simple) entre las dos líneas electrón densas periféricas. El citoesqueleto aparece con una red de filamentos entrecruzados (asterisco) que alcanzan las placas de adhesión periféricas (cabezas de flecha pequeños) en los sitios donde no se encuentran vesículas plasmalémicas (cabezas de flecha grandes). Algunas zonas muestran continuidad entre filamentos intracelulares, varillas laminares y componentes filamentosos de la lámina basal (recuadros grandes). En la región inferior derecha de la micrografía se observa un contacto entre un proceso pericitico y un proceso de célula endotelial (recuadro pequeño). Magnificación: 75.000x.

y con gran aumento se puede apreciar una serie de puentes o líneas electrón densas que cruzan perpendicular y periódicamente, la banda ancha electrón transparente principal de cada unidad (Fig. 5). Algunas imágenes permiten observar claramente que la red filamentosa citoesqueletal se extiende entre las estructuras en forma de varilla y las placas de adhesión electrón densas periféricas (Figs. 3, 4 y 5). El citoplasma de los procesos terminales carece de las estructuras en forma de

varilla y de todos los organelos encontrados en los procesos laterales. Aparentemente tienen una red filamentosa citoesqueletal, placas de adhesión periféricas electrón densas y un relativamente escaso número de vesículas plasmalémicas. En una gran proporción la superficie endotelial de estos procesos forma aposiciones más o menos estrechas con la membrana plasmática de la superficie adventicial de las células endoteliales subyacentes (Figs. 2 al 4). Algunas células endoteliales forman delgadas exten-

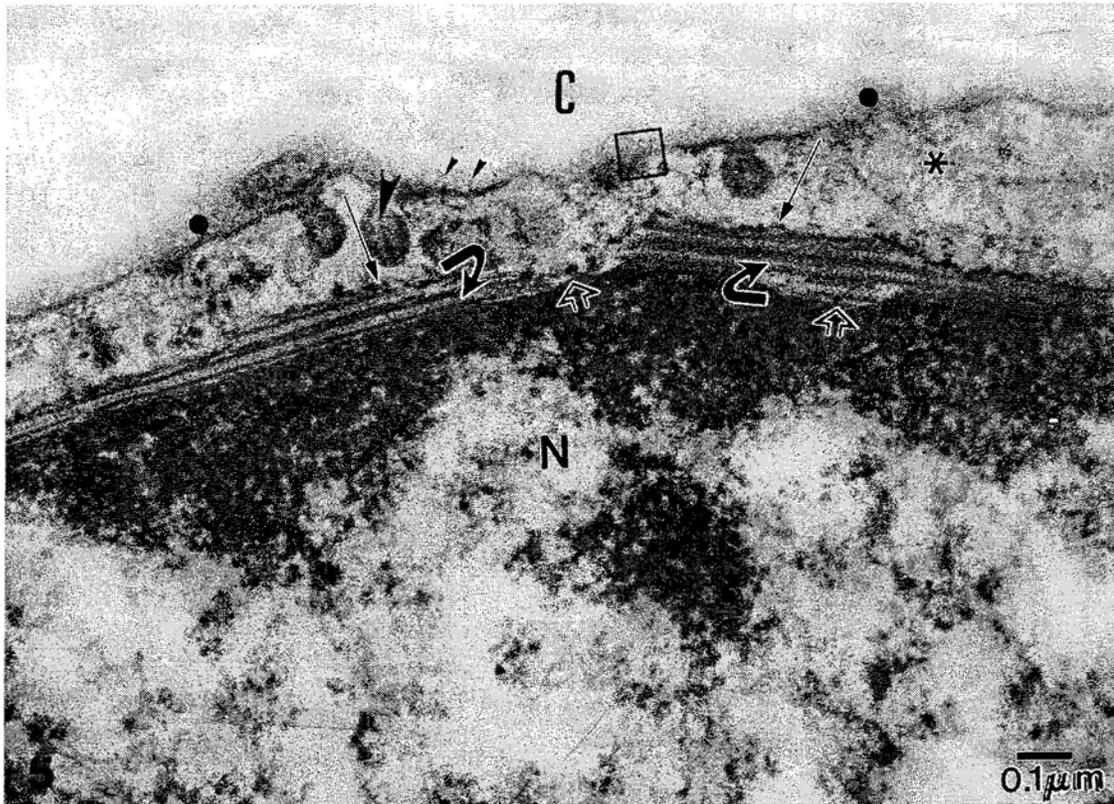


Figura 5. Detalle a gran aumento del citoplasma que rodea la superficie externa del núcleo del pericito de la Fig. 2. La lámina basal externa adosada a la membrana plasmática muestra algunas vesículas plasmalémicas además de placas de adhesión atravesadas por filamentos que parecen extenderse entre la lámina basal y el citoplasma (recuadro). Dos pares de varillas laminares se localizan en la cisterna perinuclear. La formación situada a la derecha tiene una tercera unidad más pequeña que parece estarse formando sobre una invaginación de la hoja interna de la envoltura nuclear y de la heterocromatina subyacente (flecha gruesa recta). Ambas formaciones aparecen superficialmente limitadas por la unidad de membrana de la hoja externa de la envoltura nuclear (flechas largas). Cada varilla o unidad muestra una fina estriación transversal periódica en la banda central de menor electrón densidad (flecha curva). Magnificación: 96.000x.

siones citoplasmáticas que atraviesan la lámina basal intersticial y alcanzan la superficie de procesos terminales periciticos próximos con los que pueden establecer algunas interdigitaciones y uniones con estrechas aposiciones entre las membranas plasmáticas de ambas células donde los componentes de la lámina basal que sirve de adhesivo entre ambas parecen reducirse hasta desaparecer (Figs. 2 y 4).

DISCUSION

Las más recientes revisiones acerca de los pericitos (Sims, 1986; Tilton, 1991; Moses y col., 1995; Nicosia y Villaschi, 1999; Allt y Lawrenson, 2001) mencionan la multiplicidad de funciones que estas células realizan: 1) Célula precursora de fibra muscular lisa vascular y de fibroblastos; 2) Síntesis

de componentes de la lámina basal vascular; 3) Fagocitosis; 4) Regulación de la angiogénesis; 5) Modulación de la permeabilidad vascular; 6) Presentación de antígenos; 7) Contractibilidad y 8) Soporte mecánico.

Basándonos en el aspecto ultraestructural que muestra el pericito de estos vasos capilares de la mucosa dorsal subglandular en la lengua del sapo, pensamos que la función dominante de este pericito no debe ser la contracción de la pared vascular. Sin embargo, para confirmarlo sería necesario realizar técnicas inmunocitoquímicas con anticuerpos contra proteínas contráctiles marcadoras de fibras musculares lisas vasculares (Herman y D'Amore, 1985; Joyce y col., 1985 a y b). De las diferencias que se han señalado entre las fibras musculares lisas vasculares y los pericitos, una de ellas es la presencia de isoactina no muscular localizada a

lo largo de las fibras de stress (Orlidge y D'Amore, 1987). Ciertas características ultraestructurales de este pericito tales como: 1) El espesor asimétrico y aspecto filamentoso de la matriz extracelular o lámina basal; 2) La red de microfibrillos en el interior de todo el citoplasma; 3) La presencia de placas de adhesión electrón densas en la membrana plasmática que sirven de anclaje tanto para filamentos intracelulares como extracelulares; 4) Las estrechas aposiciones e interdigitaciones entre los numerosos procesos terminales periciticos y los procesos de las células endoteliales, sugieren que una de las principales funciones de este pericito debe ser la de soportar mecánicamente la pared de este tipo de capilares. Por otro lado, el gran número de procesos terminales periciticos, los cuales abarcan más del 75% de la superficie adventicial del endotelio subyacente, y la frecuencia y extensión de las aposiciones y contactos pericito-endoteliales, pudieran además facilitar interacciones de tipo yuxtacrino entre ambos tipos celulares mediadas por contactos físicos, lo que eventualmente conduce a la inhibición de la migración y proliferación de las células endoteliales (Orlidge y D'Amore, 1987; Nicosia y Villaschi, 1995).

Recientemente se ha demostrado que la membrana de las vesículas de la membrana plasmática o caveolae de los pericitos contienen proteínas de membrana asociadas a vesículas (VAMP's) que son importantes para el tráfico entre organelos intracitoplasmáticos revestidos por membrana y para los procesos de secreción constitutiva (Feng y col., 2001). No se conoce exactamente que proporción y que componentes de la matriz extracelular son sintetizados por los pericitos. Sin embargo, macromoléculas tales como colágeno IV, fibronectina, laminina, entactina y glicosaminoglicanos carboxilados como el ácido hialurónico y sulfatados como el heparan sulfato, han sido identificados en la matriz extracelular que ocupa el intersticio pericito-endotelial (Cohen y col., 1980; Courtoy y Boyles, 1983; Ferrara y col., 1992). Se piensa que las interacciones entre pericitos y células endoteliales regulan el crecimiento de los pequeños vasos. Se ha demostrado que los pericitos inhiben la proliferación de células endoteliales *in vitro*, inhibición que depende de contactos célula-célula (Orlidge y D'Amore, 1986 y 1987). Recientemente se ha logrado diferenciar dos tipos de cadherinas

(N-cadherina y VE-cadherina) en los contactos célula-célula de las células endoteliales en los pequeños vasos sanguíneos. La VE-cadherina promueve las interacciones homotípicas entre células endoteliales mientras que la N-cadherina es responsable del anclaje de las células endoteliales a otros tipos celulares que suelen encontrarse rodeándolas y que también expresan N-cadherinas tales como las fibras musculares lisas vasculares y los pericitos (Navarro y col., 1998). Se ha demostrado que algunas VE-cadherinas son glicoproteínas (Geyer y col., 1999) y que éstas pueden ser sintetizadas y secretadas por pericitos (Stram y col., 1987).

Revisando la literatura referente a los pericitos hemos encontrado solamente una referencia que describe el hallazgo de dos tipos de inclusiones intranucleares: granulares y laminares, en pericitos del hipotálamo de rata (Lafarga y Hervás, 1978). Las inclusiones laminares intranucleares son parecidas a las que nosotros describimos en este trabajo en cuanto a su patrón de bandas electrón lúcidas y electrón densas, pero se diferencian no solo por su localización en el centro del núcleo, sino también por su tamaño notablemente menor y por su forma circular, semejante al de una fibra nerviosa mielínica (Lafarga y Hervás, 1978). Estructuras laminares similares a éstas con distintas denominaciones, se han descrito también en algunas células en división rápida tanto *in vitro* como *in vivo*, pero más frecuentemente en células neoplásticas o infectadas por virus que en células normales (Gahdially, 1997). Sin embargo, todas las estructuras laminares descritas hasta ahora, sean citoplasmáticas o nucleares, se caracterizan por tener una trayectoria fuertemente ondulada que no fue observada en nuestro material. Nosotros pensamos que las estructuras laminares en forma de varilla aquí descritas son estructuras proteicas que deben tener una función mecánica de soporte de la pared vascular ya que además de su aspecto rígido y su orientación preferencial en relación al eje longitudinal del vaso, ellas están conectadas al sistema de filamentos del citoesqueleto y a través de éste, a las placas de adhesión de la membrana plasmática. Es probable que estas estructuras eviten el colapso de la pared del capilar durante la intensa contracción de la musculatura lingual al producirse la protracción de la lengua en estos anfibios anuros y/o durante la contracción de las fibras

musculares estriadas alrededor de los sacos glandulares los cuales se sabe son los responsables de la propulsión del moco almacenado en estas glándulas hasta la superficie dorsal de la lengua para facilitar la captura de la presa (Gans y Gorniak, 1982; González Elorriaga y Quijada, 1988).

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Sra. Beatriz Bello por su extraordinaria ayuda técnica en la preparación de las muestras y al Sr. Elio Salas por la calidad de su trabajo fotográfico.

LITERATURA CITADA

- ALLT, G. Y LAWRENSEN, J.C.
2001. Pericytes: cell biology and pathology. *Cells Tiss. Organ.*, 169: 1-11.
- COHEN, M.P., FRANK, R.N. Y KHALIFA, A.A.
1980. Collagen production by cultured retinal capillary pericytes. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 19: 90-94.
- COURTOY, P. Y BOYLES, J.
1983. Fibronectin in the microvasculature: localization in the pericyte-endothelial interstitium. *J. Ultrastruct. Res.*, 83: 258-273.
- COURTOY, P., KANWAR, Y., HYNES, R., Y FARQUHAR, M.G.
1980. Fibronectin localization in the rat glomerulus. *J. Cell Biol.*, 87: 691-696.
- FENG, D., FLAUMENHAFT, R., BANDEIRA-MELO, C., WELLER, P. Y DVORAK, A.
2001. Ultrastructural localization of vesicle-associated membrane protein(s) to specialized membrane structures in human pericytes, vascular smooth muscle cells, endothelial cells, neutrophils, and eosinophils. *J. Histochem. Cytochem.*, 49: 293-304.
- FERRARA N., HOUCK, K., JAKEMAN L., Y LEUNG D.
1992. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor. *Endocr. Rev.*, 13: 18-32.
- FORBES, M.S., RENNELS, M.L. Y NELSON, E.
1977. Ultrastructure of pericytes in mouse heart. *Amer. J. Anat.*, 149: 47-70.
- FUJIMOTO, T. Y SINGER, S.J.
1987. Immunocytochemical studies of desmin and vimentin in pericapillary cells of chicken. *J. Histochem. Cytochem.*, 35: 1105-1115.
- GHADIALLY, F.N.
1997. *Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix*. 4th ed. Vol. 1. Butterworth-Heinemann, Boston, p. 489.
- GANS, C. Y GORNIK, G.C.
1982. Functional morphology of the lingual protrusion in marine toads (*Bufo marinus*). *Am. J. Anat.*, 163: 355-362.
- GEYER, H.; GEYER, R.; ODENTHAL-SCHNITTLER, M. Y SCHNITTLER, H.J.
1999. Characterization of human vascular endothelial cadherin glycans. *Glycobiology*, 9: 915-925.
- GONZALEZ-ELORRIAGA, M.A. Y QUIJADA, G.
1988. Análisis histológico de la lengua del sapo *Bufo marinus* L. *Acta Cient. Venez.*, 39: 355-362.
- HELLSTROM, M., GERHARDT, H., KALEN, M., LI, X., ERIKSSON, U., WOLBURG, H. Y BETSHOLTZ, C.
2001. Lack of pericytes leads to endothelial hyperplasia and abnormal vascular morphogenesis. *J. Cell Biol.*, 153: 543-553.
- HERMAN, I.M. Y D'AMORE, P.A.
1985. Microvascular pericytes contain muscle and non-muscle actins. *J. Cell Biol.*, 101: 43-52.
- JOYCE, N.C., HAIRE, M.F. Y PALADE, G.E.
1985a. Contractile proteins in pericytes. Immunoperoxidase localization of tropomyosin. *J. Cell Biol.*, 100: 1379-186.
- JOYCE, N.C., HAIRE, M.F. Y PALADE, G.E.
1985b. Contractile proteins in pericytes. II. Immunocytochemical evidence for the presence of two isomyosins in graded concentrations. *J. Cell Biol.*, 100: 1387-1395.
- KARNOVSKY, M. J.
1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 27: 137 A.
- LAFARGA, M. Y HERVAS, J.P.
1978. Intranuclear inclusions in pericytes of the hypothalamus of the rat. *Cell Tiss. Res.*, 193: 315-322.
- MOSES, M.A., KLAGSBRUN, M., Y SHING, Y.
1995. The role of growth factors in vascular cell development and differentiation. *Int. Rev. Cytol.*, 161: 1-48.
- NAVARRO, P., RUCOL, Y DEJANA, E.
1998. Differential localization of VE- and N-cadherins in human endothelial cells: VE-cadherin competes with N-cadherin for junctional localization. *J. Cell Biol.*, 140: 1475-1484.
- NICOSIA, R.F. Y VILLASCHI, S.
1995. Rat aortic smooth muscle cells become pericytes during angiogenesis in vitro. *Lab. Invest.*, 73: 658-666.
- NICOSIA, R.F. Y VILLASCHI, S.
1999. Autoregulation of angiogenesis by cells of the vessel wall. *Int. Rev. Cytol.*, 185: 1-43.

ORLIDGE, A. Y D'AMORE, P.

1986. Cell specific effects of glycosaminoglycans on the attachment and proliferation of vascular wall components. *Microvasc. Res.*, 31:41-53.

ORLIDGE, A. Y D'AMORE, P.

1987. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.*, 105: 1455-1462.

REYNOLDS, E.S.

1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17: 208-212.

RICHARDSON, K.C., JARRET, L. Y FINK, E.M.

1960. Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain Technol.*, 35: 313-323.

RUSSELL, L.D. Y BURGNET, S.

1978. Ultrastructure of Leydig cell as revealed by secondary tissue treatment with a ferrocyanide-osmium mixture. *Tissue Cell*, 9: 99-112.

SKALLI O., PELTE M.F., PECLLET M.C., GABBIANI G.,

GUGLIOTTA, P., BUSSOLATI G., RAVAZZOLA M., Y ORCI L.

1989. α -Smooth muscle actin, a differentiation marker of smooth muscle cells, is present in microfilamentous bundles of pericytes. *J. Histochem. Cytochem.*, 37: 315-321.

SIMS, D.E.

1986. The pericyte - A review. *Tissue Cell* 18: 153-174.

SIMS, D.E. Y WESTFALL, J.A.

1983. Analysis of relationships between pericytes and gas exchange capillaries in neonatal and mature bovine lungs. *Microvasc. Res.*, 25: 333-342.

STRAMM, L.E., LI, W., AGUIRRE, G.D. Y ROCKEY, J.H.

1987. Glycosaminoglycan synthesis and secretion by bovine retinal capillary pericytes in culture. *Exp. Eye Res.*, 44: 17-28.

TILTON, R.G.

1991. Capillary pericytes: Perspectives and Future Trends. *J. Electron Microsc.*, 19:327-344.

TILTON, R.G., KILO, C. Y WILLIAMSON, J.R.

1979. Pericyte-endothelial relationships in cardiac and skeletal muscle capillaries. *Microvasc. Res.*, 18: 325-335.