

E. CAJAL
HISTOLOGIA NORMAL
Y TECNICA
MICROGRAFICA

74728

2
74728


100
R

ELEMENTOS
DE
HISTOLOGÍA NORMAL
Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

POR
S. R. CAJAL

2/
714728

OCTAVA EDICIÓN REVISADA, CORREGIDA Y AUMENTADA
CON MÁS DE 500 GRABADOS



MADRID - 1926
TIPOGRAFÍA ARTÍSTICA
CERVANTES N.º 28

27

ELEMENTOS
DE
HISTOLOGÍA NORMAL
Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

LIBRERÍA
DE
INSTRUMENTOS NORMAL
Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

24772

*nl de Lara
Madrid 19/9/26*
R

85381

ELEMENTOS
DE
HISTOLOGÍA NORMAL
Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

POR

S. R. CAJAL ~~1926~~

OCTAVA EDICIÓN REVISADA, CORREGIDA Y AUMENTADA
CON MÁS DE 500 GRABADOS



MADRID - 1926
TIPOGRAFÍA ARTÍSTICA
CERVANTES N.º 28

2532

ELEMENTOS

HISTORIA GENERAL Y DE TÉCNICA MICROGRÁFICA

1927

R. CALAF

ES PROPIEDAD
DERECHOS RESERVADOS

ACADEMIA Y BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA



ACADEMIA Y BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA

PRÓLOGO DE LA PRIMERA EDICIÓN

La presente obrita de HISTOLOGÍA Y TÉCNICA es un resumen, con aquellas reformas exigidas por los progresos de la ciencia, de nuestro MANUAL DE HISTOLOGÍA NORMAL. Hemos creído que un compendio en el cual, dejando a un lado discusiones embarazosas e hipótesis mudables, se presenten condensados tanto los principios de la técnica micrográfica como los hechos demostrados de estructura de células y tejidos, podría prestar a médicos y alumnos positivos beneficios: a éstos, sirviéndoles de guía en los exámenes y trabajos de laboratorio; a aquéllos, cuyas ocupaciones clínicas les hacen recelar de toda obra algo difusa ajena a la patología práctica, recordándoles los datos indispensables para la más fácil interpretación de los fenómenos de fisiología normal y patológica.

En las descripciones de células y tejidos hemos procurado conciliar la concisión con la claridad expositiva, sin renunciar al propósito, que todo escritor naturalista debe tener, de reflejar lo más exactamente posible la fase actual de la ciencia. Sólo hemos descartado aquellos trabajos modernos no sancionados todavía por la experiencia, o aquellas inducciones y teorías que, por su carácter filosófico, entran más bien en la esfera de la Biología general.

De todos los tejidos, el nervioso es el que hemos tratado con más latitud, lo que se justifica por la gran impulsión que

su conocimiento ha recibido en estos últimos lustros, y por la importancia fisiológica de los recientes progresos. Fieles a nuestro sistema, sólo hemos expuesto los descubrimientos ajenos o propios que, habiendo sido confirmados por las autoridades más considerables en Neurología, pueden considerarse como adquisiciones definitivas de la ciencia.

Convencidos de que las descripciones de objetos macroscópicos o microscópicos no pueden ser claras sin ir acompañadas del objeto mismo o de su imagen, hemos intercalado en el texto un gran número de grabados, copiados, en su mayor parte, de nuestras preparaciones originales.

Madrid, 10 de Junio de 1895.

PRÓLOGO DE LA SÉPTIMA EDICIÓN

A ruego de algunos compañeros, deseosos de un libro de Histología algo más extenso que la primera edición de esta obra, hemos introducido en la actual, como en la precedente, aumentos y mejoras de importancia. Los capítulos más ampliados son los correspondientes a la estructura celular, la mitosis, la conjugación de las células sexuales, la textura de las neuronas, de las células musculares y del tejido glandular, etc., etc. Con relación a las ediciones primeras, las nuevas figuras pasan de 90 y las páginas adicionadas exceden de 100.

Hemos procurado también dar una idea, siquiera sea somera, de los trabajos de aventajados histólogos españoles, a fin de rendirles merecido tributo de admiración y estima, y promover, de pasada, la afición a la investigación biológica en nuestro país. A este efecto, algunas figuras y descripciones se han tomado de los trabajos de Terrazas, Tello, Achúcarro, Calleja, P. Ramón, Río-Hortega, Lavilla, Castro, Fañanás, Calandre, Sacristán, Sánchez y Sánchez y otros.

Atentos, sin embargo, a conservar a la obra el carácter de libro elemental, casi todas las adiciones figuran en el texto con caracteres menudos (salvo las descripciones de hechos nuevos de verdadera importancia); por tanto, quien aspire, no a una información detallada del estado actual de la ciencia, sino a

prepararse para los exámenes, se atenderá al texto de letra gruesa, que ha sido poco modificado.

Esperamos que, con las citadas mejoras, la edición actual no será indigna del favor dispensado a las anteriores.

Madrid, 10 de Febrero de 1921.

PRÓLOGO DE LA OCTAVA EDICIÓN

Hubiéramos querido refundir por completo este libro, transformando todos los capítulos y añadiendo al final una sección nueva: la *Histología especial de los órganos*, que sólo fragmentariamente y por exigencias de la brevedad del curso escolar figura diseminada y descosida en diversas partes de las precedentes ediciones; pero los achaques de la edad y ocupaciones abrumadoras de Laboratorio nos lo han estorbado.

Así y todo, han sido ampliados y renovados algunos capítulos, mejor puntualizadas las indicaciones técnicas y acrecentado el número de figuras.

Ocupado estos últimos años en traducir y publicar en revistas extranjeras Memorias y libros de mis discípulos y míos, a fin de que no se pierdan numerosos descubrimientos científicos (algunos de ellos de índole técnica) poco conocidos allende el Pirineo, a causa de la casi total ignorancia del español entre los sabios, hubiera sido para mí tarea abrumadora la de revisar el original y corregir las pruebas de esta 8.^a edición, si uno de mis discípulos más aventajados no se hubiese ofrecido espontánea y generosamente a ello. Aludo al Dr. Tello, a quien se deben también las principales adiciones y mejoras del texto. Gracias le sean dadas por su precioso concurso.

La precipitación con que se ha impreso este libro ha sido causa de que se hayan deslizado erratas y descuidos, en parte

subsanados al final. Tampoco hemos podido decorar el texto, como hubiéramos deseado, con numerosas microfotografías y grabados en color. Queden estas mejoras para la 9.^a edición, que desearíamos fuera cuadro fiel del estado actual de la Histología española. Si acertáramos a asociar a dicha obra la valiosísima actividad de todos los micrógrafos de nuestro país, vería el lector que, si en otras disciplinas científicas seguimos muy a la zaga de los extraños, en Histología normal y en algunas ramas de la Patología ocupamos puesto decoroso al lado de las naciones próceres. Sólo los métodos de investigación de pura solera española pasan de 30. Ellos han permitido a mis discípulos y colaboradores allegar centenares de hechos nuevos, algunos de inestimable valía. Y no cito a los afortunados cultivadores de la histología patria, porque, sobre ser sobrado conocidos, correría el riesgo de olvidar algún nombre digno de loa. Baste saber que la escuela española cuenta hoy con 10 ó 12 representantes, algunos de ellos meritísimos.

A esta brillante pléyade de investigadores toca continuar nuestra modesta labor, añadiendo al escudo de la renaciente ciencia española nuevos y honrosísimos blasones.

Diciembre de 1925.

PARTE PRIMERA

TÉCNICA GENERAL

Los recursos prácticos utilizados por el histólogo para la demostración de las partes elementales del organismo, forman la materia de la *técnica histológica*.

En la *técnica general* es preciso distinguir las siguientes partes: 1.^a, instrumentos de observación y sus accesorios; 2.^a, reactivos; 3.^a, métodos histológicos, y 4.^a, procedimientos de conservación.

A. — INSTRUMENTOS DE OBSERVACIÓN Y SUS ACCESORIOS

CAPÍTULO PRIMERO

MICROSCOPIO

El *microscopio* es un instrumento óptico que, interpuesto entre el ojo y un objeto próximo, nos hace percibir en éste detalles imposibles de observar a simple vista. Alcánzase este resultado aprovechando la propiedad que poseen las lentes convergentes de producir, en determinadas condiciones, imágenes reales o virtuales amplificadas.

Si el instrumento amplificante consta de una sola lente o sistema de lentes, se denomina *microscopio simple*; pero si en él se combinan los poderes amplificantes de dos lentes o sistemas de lentes, toma la designación de *microscopio compuesto*.

MICROSCOPIO SIMPLE

Para mayor claridad expositiva distinguiremos en el microscopio simple: 1.º, el instrumento teórico despojado de todo accesorio; 2.º, el instrumento práctico; es decir, el microscopio simple adicionado de los detalles y disposiciones exigidos por la comodidad y eficacia de la observación.

Microscopio simple esquemático. — Está representado por una lente biconvexa o planoconvexa, dispuesta de tal

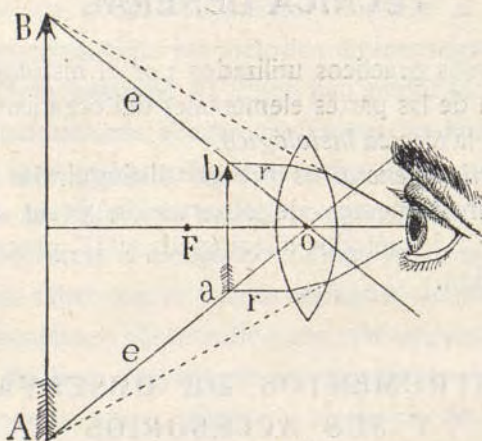


Fig. 1.º — Formación de las imágenes en el microscopio simple.

suerte que suministra una imagen virtual derecha y más grande que el objeto (1).

Para comprender el mecanismo de esta ampliación es preciso recordar que las lentes convergentes dan, según las condiciones en que se emplean, dos especies de imágenes ampliadas: *virtuales* y *derechas*, cuando el objeto examinado se sitúa entre la lente y el foco principal de ésta; *reales* e *invertidas*, cuando el objeto se coloca más allá del foco principal. Si el objeto coincide con el foco, los rayos emergen paralelos de la lente y no hay imagen.

(1) El alumno debe tener presentes, al estudiar lo que sigue, los principios generales de la óptica, y especialmente las propiedades de las lentes y espejos. Aquí recordaremos tan sólo aquellas nociones de inmediata aplicación a la teoría y práctica del microscopio.

En el microscopio simple, el objeto yace entre la lente y su foco principal. Como puede verse en la figura 1.^a, los rayos incidentes rr , partidos de las extremidades del objeto ab , atraviesan desde luego la lente, aproximándose al eje principal; después se inclinan todavía más en tal sentido, y alcanzan el ojo del observador, quien, en virtud del principio de la proyección o exteriorización de las impresiones retinianas en la última dirección seguida por los rayos luminosos, percibe una imagen virtual colocada en BA , es decir, a la distancia de la visión distinta.

La construcción teórica de la imagen se logra fácilmente trazando primeramente el eje principal y luego los ejes secundarios ee (1), que enlazan los extremos del objeto con el centro de la lente; a seguida, se dibujan los rayos incidentes rr , paralelos al eje principal por los extremos del objeto, que, prolongados a través de la lente, donde se desvían, según las leyes de la refracción, se encontrarían en el foco principal. La imagen virtual AB es proyectada por la retina precisamente en el paraje donde la prolongación hacia el objeto de los ejes secundarios corta la continuación de los rayos incidentes.

La amplificación, o sea la relación entre ab y AB $\left(\frac{AB}{ab}\right)$, se calcula fácilmente por la fórmula $a = \frac{X}{F}$, en la cual a representa el aumento; X , la distancia de la lente a la imagen virtual o distancia de la visión distinta, y F , la longitud focal. Esta fórmula da por supuesto que el objeto está tan cerca del foco principal que ambas distancias, la frontal y la focal, pueden reputarse idénticas. En realidad, dicha fórmula expresa el máximo de aumento de una lente utilizada como microscopio simple; si se abrevia la distancia del objeto a la lente, la amplificación disminuye y la fórmula no es aplicable, pues da valores excesivamente grandes.

De la fórmula del microscopio simple se infiere que cuanto

(1) Recuérdese que se llaman ejes secundarios los rayos luminosos que, por pasar por el centro de la lente, no sufren desviación angular a la emergencia de ésta.

menor sea la distancia focal, mayor será la amplificación, porque el divisor F disminuye, y X , o la distancia de la visión distinta, permanece idéntica (1).

La distancia focal (que en las lentes biconvexas de vidrio corresponde poco más o menos al centro de curvatura) disminuye con el radio de la lente. De dos lentes esféricas, la de mayor potencia será la más pequeña, y como el radio puede achicarse indefinidamente, resulta que el aumento teórico del microscopio simple es indefinido. Con todo, en la práctica rara vez puede pasarse de aumentos de 200 a 300, por la dificultad de tallar lentes suficientemente pequeñas; fuera de que esta amplificación se obtiene mucho más fácilmente con el microscopio compuesto.

Microscopio simple en la práctica (fig. 2.^a). — El microscopio simple, dispuesto para la observación, consta substancialmente de un pie macizo de metal, que soporta una columna vertical. De un lado de ésta arranca una platina o ménsula horizontal perforada, donde se coloca la preparación destinada al examen. En lo alto de la columna se ve un anillo o pinza circular que sirve para sostener las lentes o dobletes, y este mismo anillo está unido a un prisma que se mueve en el espesor de aquélla, a favor de una cremallera. Para iluminar por transparencia, el pie sostiene un espejo cóncavo o plano, susceptible de inclinarse en todos sentidos. De los lados de la platina o de las partes laterales del pie, según los distintos modelos, arrancan unas alas o prolongaciones, cuyo oficio es apoyar las manos durante las maniobras de preparación (fig. 2.^a, *H*).

Los modelos de microscopios simples son muy numerosos. La descripción precedente se aplica, no obstante, a casi todos ellos.

(1) La fórmula citada es suficientemente exacta; pero si se desea mayor precisión, debe preferirse la fórmula de Wundt:

$$A = \left(\frac{V - e}{f} \right) + 1.$$

O sea: aumento (A) igual a la distancia de la visión distinta (V), menos la del ojo a la lente (e), dividida por la distancia focal y añadida de la unidad. Como la distancia de la visión distinta varía bastante (de 16 a 30 cm.), se comprende que la amplificación sea algo diversa para cada observador.

En la figura 2.^a representamos uno de estos instrumentos, contruidos por Reichert.

Cuando el aumento necesario para las maniobras de la disección fina no debe pasar de dos a cuatro veces, puede em-

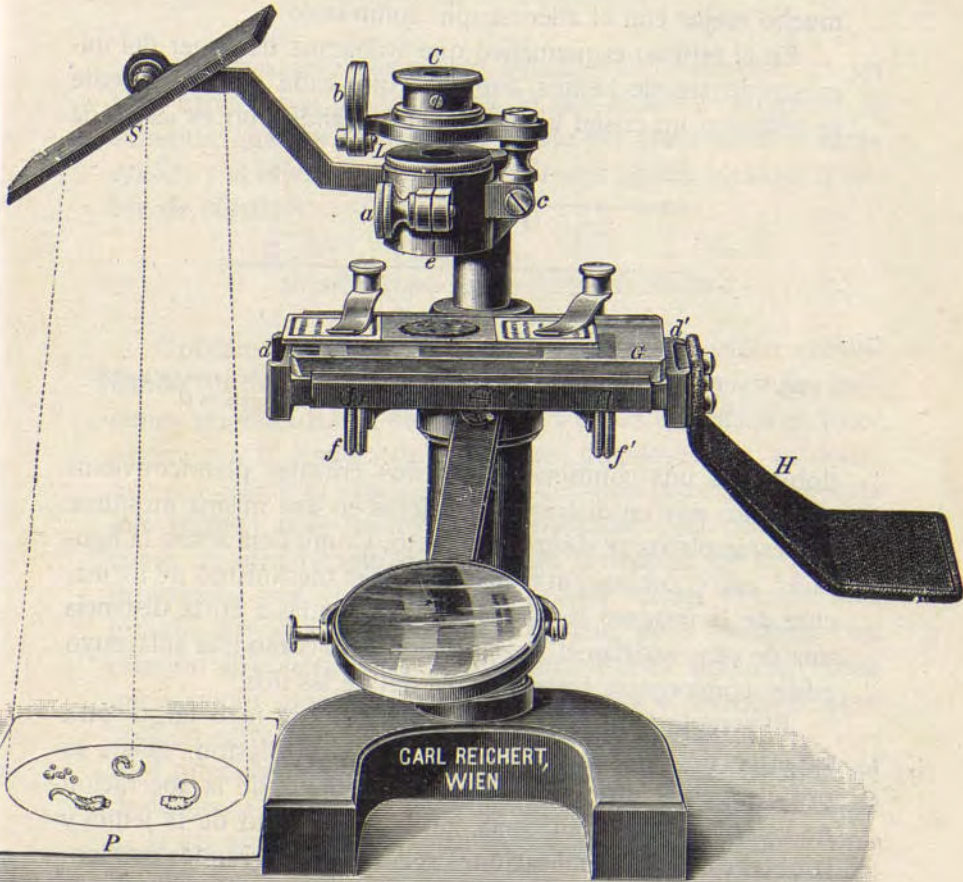


Fig. 2.^a — Microscopio simple de Reichert, armado de la cámara clara de Abbe.

plearse con provecho una simple lente montada sobre un vástago, movable en todas direcciones, a favor de una doble articulación en forma de nuez.

Inútil sería advertir que todos los microscopios simples

poseen un juego de *dobletes* o de lentes de diversa distancia focal y, por consiguiente, de aumento diferente. En general, para el objeto a que se destinan, bastará con que se hallen provistos de tres dobletes, cuyos aumentos sean de 4 a 20 ó 30 diámetros. Las ampliaciones superiores a 30 se logran mucho mejor con el microscopio compuesto.

En el estudio esquemático que acabamos de hacer del microscopio simple hemos supuesto que cada doblete o lente se reduce a un cristal biconvexo. En realidad no es así; cada

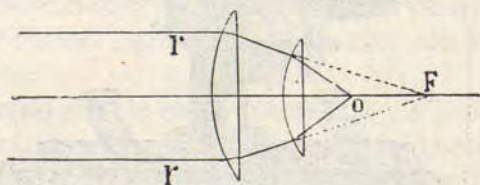


Fig. 3.* — Efecto de la combinación de dos lentes en la marcha de los rayos paralelos; la imagen, que sin la segunda lente se hallaría en *F*, se forma en *O*.

doblete es una combinación de dos cristales planoconvexos separados por un diafragma y sujetos en una misma montura. Las caras planas se dirigen al objeto. Como demuestra la figura 3.^a, esta combinación en nada altera el mecanismo de formación de la imagen; las dos lentes, colocadas a corta distancia una de otra, acortan el foco, funcionando como una sola, cuyo poder convergente fuese la suma del de las dos.

El arreglo de dos lentes, una inferior de foco largo, otra superior de foco corto, fué ideado por Wollaston, quien se propuso, entre otras ventajas, la disminución de la aberración de esfericidad (que aumenta con la convexidad de la lente) y la obtención de ampliaciones relativamente grandes con lentes de distancia frontal bastante considerable. Si en la citada combinación la lente de foco más corto se pusiera debajo, el espacio destinado a las maniobras de disección se abreviaría sensiblemente, sin que, por otra parte, ganara nada el poder amplificante.

El fin práctico de dissociar objetos en el campo del microscopio se consigue mejor en la actualidad con los microscopio

pios compuestos estereoscópicos, de que nos ocuparemos en momento oportuno, pues por la percepción perfecta del relieve facilitan las operaciones.

MICROSCOPIO COMPUESTO

El *microscopio compuesto* consiste esencialmente en un tubo provisto en sus extremos de dos lentes de aumento: la superior, que por aproximarse al ojo del observador se llama *ocular*, y la inferior, que por dirigirse al objeto toma el nombre de *objetivo*.

MICROSCOPIO COMPUESTO TEÓRICO

Ópticamente, el microscopio compuesto funciona combinando los dos casos o condiciones en que las lentes dan imágenes amplificadas: el objetivo opera como una máquina fotográfica o a la manera de un aparato de proyección; es decir, que por residir el objeto más allá del foco principal, proyecta una imagen real, invertida y ampliada; y el ocular actúa como un microscopio simple, o sea formando de la imagen proyectada por el objetivo una copia virtual todavía más grande, derecha con relación a aquélla, pero invertida con relación al objeto. Para que el ocular pueda funcionar como microscopio simple, es preciso que reciba la imagen de proyección entre el foco principal y la lente superior.

Conocida la teoría del ocular, pues, como acabamos de decir, no es otra que la del microscopio simple, diremos algo de la del objetivo, órgano fundamental del microscopio compuesto.

Teoría del objetivo. — Cuando el objeto está situado más allá del foco principal de una lente, pero sin llegar al doble de la distancia focal, prodúcese una imagen real invertida, y tanto más ampliada cuanto más cerca del foco principal reside el objeto. Si éste se aleja hasta el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural.

Para construir la imagen (fig. 4.^a) se trazan el eje principal y los ejes secundarios ee ; se tiran luego dos rayos incidentes, paralelos al eje principal rr , los cuales, después de refractarse en la lente, se cortan en el foco principal y al encontrarse con los ejes secundarios ee , dibujan una imagen invertida y real.

La imagen se acrece en tamaño y en distancia de proyección a medida que el objeto se aproxima al foco. Si el objeto

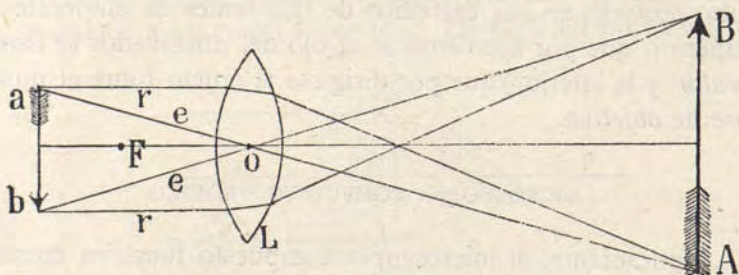


Fig. 4.^a — Marcha de los rayos luminosos en el objetivo. — AB , imagen; F , foco; e , ejes secundarios.

coincide con el foco principal, no hay imagen, porque los rayos emergen de un modo paralelo de la superficie posterior de la lente.

El aumento se calculará con la fórmula que expresa las relaciones existentes entre el foco, la distancia del objetivo y la de la imagen.

Sea i la imagen proyectada, o el objeto, D la distancia de la imagen a la lente, d la de la lente al objeto y A el aumento. Tendremos:

$$A = \frac{i}{o} = \frac{D}{d}.$$

Acción combinada de objetivo y ocular. — Después de lo expuesto, nada más fácil que comprender el mecanismo del aumento del microscopio compuesto, como puede verse en las figuras 5.^a y 6.^a Del objeto ab , proyecta el objetivo (*Obj.*) una imagen real e invertida en $a'b'$, es decir, más allá del foco (F) principal del ocular (*Oc.*). En consecuencia, esta última lente

transforma la imagen real aumentada $b'a'$ en la virtual y todavía más extensa BA . El observador percibe, pues, la imagen en BA , punto donde los ejes secundarios que pasan por el ocular cortan la prolongación de la última dirección tomada

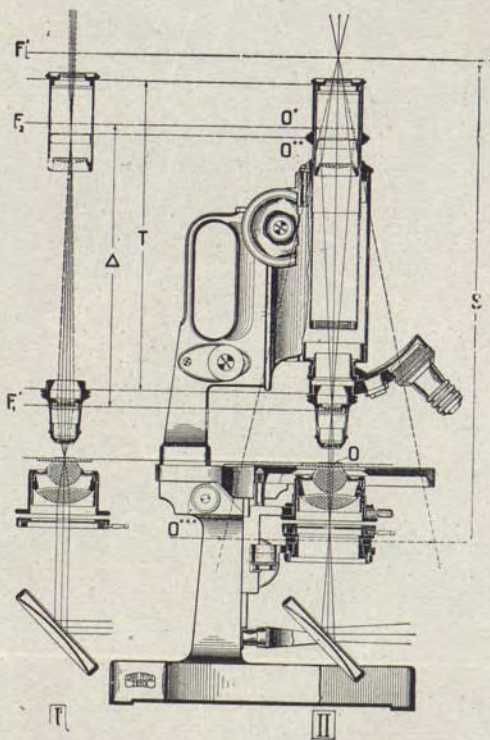


Fig. 5.^a — Esquema de la marcha de los rayos luminosos en el microscopio. — I, esquema que muestra la marcha de los rayos que atraviesan un punto enfocado de la preparación; II, esquema de la marcha de los rayos limitantes del campo; F_1 , plano focal posterior del objetivo; F_2 , plano focal anterior del ocular; F' , plano focal posterior del microscopio entero (Zeiss).

por los emergentes lp y mo , de un lado, y ko y ni , de otro (fig. 6.^a).

El aumento del microscopio compuesto se obtiene multiplicando el del objetivo por el del ocular, como expresa la fórmula siguiente:

$$N = \frac{D}{d} \times \frac{X}{F}$$

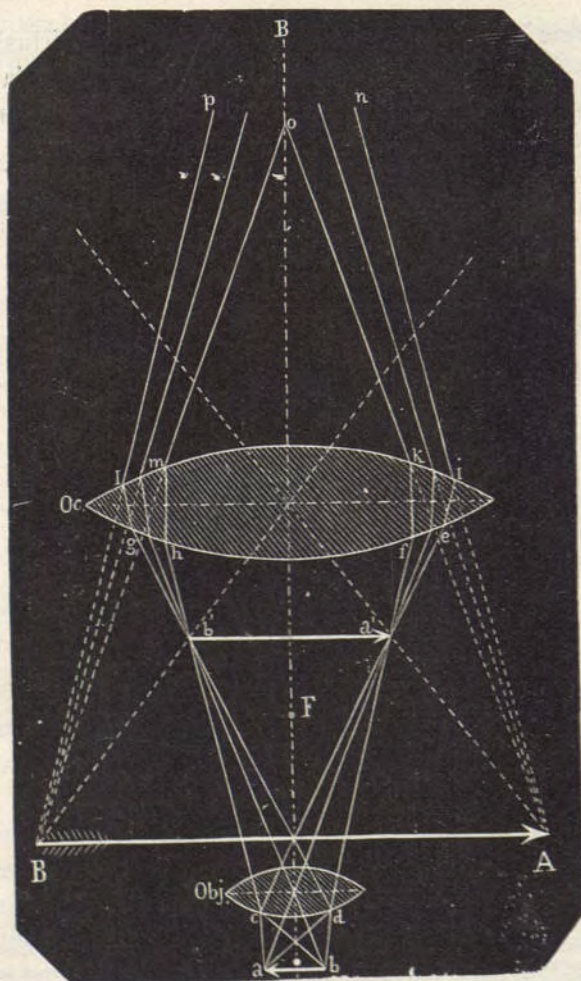


Fig. 6.ª — Marcha de los rayos y formación de la imagen en el microscopio compuesto. *Obj.*, objetivo; *Oc.*, ocular; *ab*, objeto microscópico; *b'a'*, imagen real proyectada por el objetivo; *AB*, imagen virtual engendrada por el ocular.

pero en la observación microscópica, para que la imagen del objetivo se proyecte en el plano focal del ocular es preciso que el objeto esté muy cerca del foco, transformándose en esta otra:

$$N = \frac{L}{F} \times \frac{X}{F};$$

en que L representa la longitud óptica del tubo del microscopio; X , la distancia de la visión distinta (250 mm. generalmente), y FF' , respectivamente, las longitudes focales del objetivo y ocular.

Del examen de esta figura y de la consideración de las fórmulas antes expuestas se infieren fácilmente las siguientes proposiciones:

1.^a La imagen crece conforme disminuye el foco del objetivo.

2.^a La magnitud de la imagen con un mismo objetivo aumenta a medida que disminuye la distancia focal del ocular.

3.^a La amplificación total del microscopio crece con el alejamiento del ocular al objetivo, lo que equivale a decir que cuanto menor sea la distancia entre el objeto y el foco principal del objetivo, más distante y más grande resultará la imagen proyectada que debe amplificar el ocular.

4.^a Teóricamente, todo microscopio podría dar aumentos variables al infinito con sólo aumentar suficientemente la distancia de proyección, lo que se logra aproximando progresivamente el objeto al foco del objetivo; pero en la práctica sólo son aprovechables los aumentos obtenidos con objetivos de foco corto, por cuanto solamente éstos suministran imágenes fuertemente amplificadas a distancias relativamente cortas. Por esta razón se ha dicho, aunque en forma incorrecta, que el aumento está en razón inversa de la distancia focal del objetivo.

Teoría de la formación de la imagen microscópica, según Abbe (1). — Las imágenes obtenidas teóricamente según los principios de la física geométrica, coinciden prácticamente

(1) *Archiv. f. mikros. Anatom.*, Bd. IX, 1873. La teoría de Abbe ha sido confirmada y expuesta por Stephenson: *Expérience à l'appui de la théorie du prof. Abbe sur la vision microscopique*, traducido por van Heurck para su libro *Le microscope*, cuarta edición, 1891. Crisp ha publicado también un buen resumen: «On the influence of Diffraction in microscopique vision». *Journ. Quat. mik. Sci.*, 1878. Se leerá también con provecho el estudio que a este interesante punto consagra Czapski en el *Zeitschr. für wissenschaftliche Mikroskopie*. Bd. VIII, 1891, y otras revistas. En español poseemos, no sólo acerca de los trabajos de Abbe, sino en todo lo referente a la óptica micrográfica, el libro fundamental de Castellarnau, titulado *Teoría general de la formación de la imagen en el microscopio*, publicado bajo los auspicios de la Junta de ampliación de estudios. Madrid, 1911. Consúltese también el libro magistral de Orueta, *Tratado de Microscopia* (1920), acaso el más completo de cuantos han visto la luz en Europa.

con las formadas por los aparatos ópticos, siempre que se trate de objetos luminosos o que se puedan considerar como tales. En este caso, de cada punto luminoso del objeto parte un haz de rayos homocéntricos que van a formar en la imagen una pequeña superficie iluminada de forma relacionada con el diafragma o iris del sistema óptico, rodeada de círculos de difracción que decrecen rapidísimamente en intensidad; pero como dada nuestra agudeza visual corriente, las pequeñísimas superficies iluminadas se nos aparecen cual puntos y no podemos percibir los círculos de difracción por su escasa intensidad, la imagen y el objeto se corresponden punto a punto.

En la observación microscópica, los fenómenos de difracción juegan un papel preponderante, según pusieron de manifiesto los fundamentales trabajos de Abbe. El objeto microscópico, en la inmensa mayoría de los casos, y sobre todos en las ciencias biológicas, es iluminado de través por la superficie del espejo, a la que podemos suponer transportado el manantial luminoso; cada punto del objeto recibe un cono de rayos procedentes de toda la superficie del espejo abarcada por el ángulo de abertura del objetivo correspondiente, que después de cruzarse se abre de nuevo, y concentrado por el objetivo se reunirá en el punto conjugado del plano donde se forma la imagen geométrica; pero estos rayos, procedentes de puntos muy distintos de la superficie iluminada, no son coherentes, y, por consiguiente, no se producirá en la imagen el punto que corresponda al del objeto, siendo completamente imposible la formación de una imagen punto a punto, como en los objetos luminosos.

Pero si la suma de los rayos que partiendo de todos los elementos de la superficie del espejo atraviesan el objeto sin modificación, no puede producir la imagen, veamos ahora lo que ocurrirá con la onda que toma origen en cada uno de estos elementos. Según se representa en la figura 7.^a, tomada del admirable tratado de Castellarnau, los rayos procedentes de un solo punto del espejo P llegan al objeto o_1o_2 , y al tropezar con partes de distinta opacidad, de diferente índice de refracción, etc., se difractan dispersándose en todos los sentidos del

espacio; los rayos de todos los centros de difracción que marchan paralelamente hasta el objetivo, se reúnen en el plano focal posterior ($a'b'p'c'$), produciéndose interferencias, por ser coherentes, puesto que proceden de un solo punto iluminante, y haber sido modificada la fase de vibración al difractarse; como resultado de las interferencias, en aquellos puntos del plano focal en que se encuentren rayos concordantes, en fases idénticas, habrá luz (máximos de segundo orden), donde se reúnan los discordantes, oscuridad; es decir, habremos obtenido como imagen del punto luminoso un espectro de Fraunhofer, los rayos de las porciones luminosas continuarán su camino, separándose, y se cruzarán en el plano de la imagen ($\alpha'_1 O' \alpha'_2$) con los que se originaron en el mismo centro de dispersión y no se han extinguido por las interferencias del plano focal, dando lugar a nuevas interferencias, por las mismas razones que acabamos de indicar. No se habrá producido, pues, una imagen punto a punto, ya que a puntos luminosos del objeto pueden corresponder sombras en la imagen; pero existirá en el plano de ésta una distribución de la luz que guardará una relación íntima con el espectro de Fraunhofer.

Cualquier otro punto de la superficie iluminante P_1 producirá un nuevo espectro de difracción en el plano focal posterior del objetivo y una nueva distribución luminosa en el plano de la imagen, pero no interferirán los espectros y distribuciones luminosas en los distintos puntos, por no ser coherentes, pero se sumarán sus iluminaciones respectivas aumentando la claridad en relación con el número de elementos iluminadores, y de esta suma formará el ocular una imagen virtual a la distancia de la visión distinta, que será la imagen microscópica.

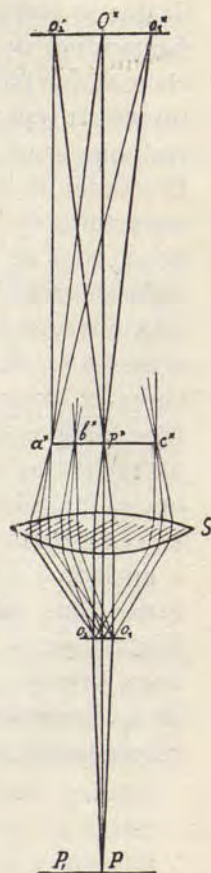


Fig. 7.ª

La distribución del espectro de difracción guarda una íntima relación con la estructura microscópica que le ha dado origen, y siempre que en la formación de la imagen se den entrada a todos los máximos de luz del espectro, podemos admitir que se corresponde con el objeto; en cambio, cuando por limitaciones de la combinación óptica empleada sólo aprovechamos una parte de los máximos perceptibles, la imagen ya no será la reproducción de aquel objeto, sino de otro, ideal o real, que produzca como espectro total el parcial que se utiliza. El estudio de la relación entre los espectros de difracción y las estructuras de los objetos examinados se ha hecho por medio de rayados de líneas paralelas sobre plaquitas de vidrio, con número variable de rayas en milímetro. Si se coloca uno de estos rayados en la platina del microscopio, se le ilumina con estrecho haz de rayos y después de enfocado se quita el ocular, veremos, mirando hacia el interior del tubo, una serie de circulitos luminosos; uno, el más brillante de todos, formado por los rayos que no han sufrido modificación alguna al atravesar el objeto (pincel dióptrico) máximo de primer orden, está situado en el centro de la línea que une todos los máximos; los demás, a un lado y otro del central, son los máximos de segundo orden, que van disminuyendo, extinguiendo en intensidad a medida que se alejan del centro, hasta dejar de ser visibles. La línea formada por los máximos es perpendicular a la dirección de las líneas del rayado, y la separación de los máximos está regulada por la fórmula

$$\text{sen } V = \frac{\lambda}{\delta},$$

en que V es el ángulo formado por el rayo difractado con el que sigue la dirección sin modificación alguna; λ , longitud de onda, y δ , la separación entre los puntos medios de los espacios claros del rayado. (Véase adición E del tratado de Castelnau, citado anteriormente.)

Según esta fórmula, el seno del ángulo de difracción, o sea la separación entre los máximos, irá creciendo en igualdad de longitud de onda a medida que disminuye la distancia entre los

espacios claros del rayado o recíprocamente aumenta el número de rayas en milímetro, hasta que δ sea igual a la longitud de onda de la luz empleada; pues entonces el seno valdrá 1 y el ángulo 90° , siendo imposible que penetre en el objetivo ningún máximo de segundo orden en las observaciones a seco. Siendo constante el rayado, la separación crecerá con la longitud de onda.

Abbe, en sus experimentos, utilizaba, entre otros, un micrómetro provisto de dos series de rayas: anchas en número de 71 por milímetro; finas en cantidad de 142 por milímetro. Examinado este retículo (fig. 8.^a, B) sin ocular, preséntanse en consonancia con lo expuesto, además de dos pinceles dióptricos, incoloros y centrales, dos líneas de máximos de difracción; de las cuales, la una, formada por cuatro de éstos, corresponde a las líneas finas, y la otra, constituida por un número doble, proviene de las rayas anchas. Examinando el preparado con el ocular, descúbranse claramente las estrías (fig. 8.^a, A).

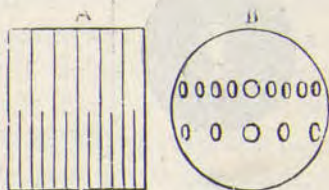


Fig. 8.^a — A, micrómetro objetivo con dos series de rayas; B, espectros de difracción que aparecen al examinar dicho micrómetro con un objetivo y sin ocular.

Esta primera observación atestigua ya que los espectros de difracción originados por rayas finas (puesto que se desvían mucho más del pincel central que los producidos por rayas anchas), exigen, si han de ser recogidos y aprovechados, objetivos de gran ángulo de abertura. Compréndese bien por qué los objetivos de poca abertura, cualquiera que sea su poder amplificante, son incapaces de mostrar las estrías y detalles demasiado próximos.

Los experimentos siguientes son altamente demostrativos de la doctrina de Abbe:

Primer experimento (fig. 9.^a). — Colócase en la platina el retículo mencionado; y encima del objetivo un diafragma lineal, con el que se logra eliminar los máximos de difracción, dejando exclusivamente el pincel dióptrico. En estas condiciones, examinando con ocular, no hay imagen de rayos; el campo

MICROSCOPIO COMPUESTO EN LA PRÁCTICA

El modelo de microscopio construido por la mayor parte de los fabricantes con destino a los trabajos serios de histología encierra diversas disposiciones y mejoras que vamos brevemente a reseñar. Conviene, desde luego, que distingamos en el microscopio compuesto la *parte mecánica* y la *parte óptica*.

Parte mecánica. — Comprende el pie, la columna, la platina, la pinza y el tubo principal (fig. 13 y siguiente).

El *pie* es el bloque de metal que sirve de sustentáculo al aparato; su forma suele ser de herradura con la abertura hacia adelante; su peso y solidez son notables, a fin de dar estabilidad al conjunto y consentir, sin pérdida de equilibrio, la inclinación horizontal del tubo.

La *columna* es, ora simple, ora doble, y en los modelos regulares puede doblarse en ángulo recto, a beneficio de una charnela. Por abajo fijase la columna en la porción posterior del pie, y por arriba soporta el tubo del tornillo micrométrico y la platina.

La *platina* es una ménsula horizontal de vidrio o de metal, donde, a beneficio de unas pinzas, se fijan las preparaciones microscópicas. En el centro existe una perforación donde asoma el concentrador de la luz o el diafragma cilíndrico, y sirve para dar paso a los rayos emanados del espejo. En los modelos de lujo, la platina suele ser giratoria y aun movable en dos sentidos perpendiculares, lo que permite un recorrido casi automático de la preparación (figuras 14 y 15).

La *columna* es un cilindro que arranca de la parte posterior de la platina y soporta la pinza o tubo corto, provista de hendiduras donde se desliza el tubo principal del microscopio. En dicha columna se hallan los mecanismos que permiten el descenso rápido o lento del tubo y, por consiguiente, el del objetivo. El *movimiento rápido* se verifica en los modelos económicos por simple deslizamiento del tubo en su pinza; pero en los más cómodos se realiza a beneficio de un piñón y cremallera (fig. 13). El *movimiento lento*, indispensable al minucioso

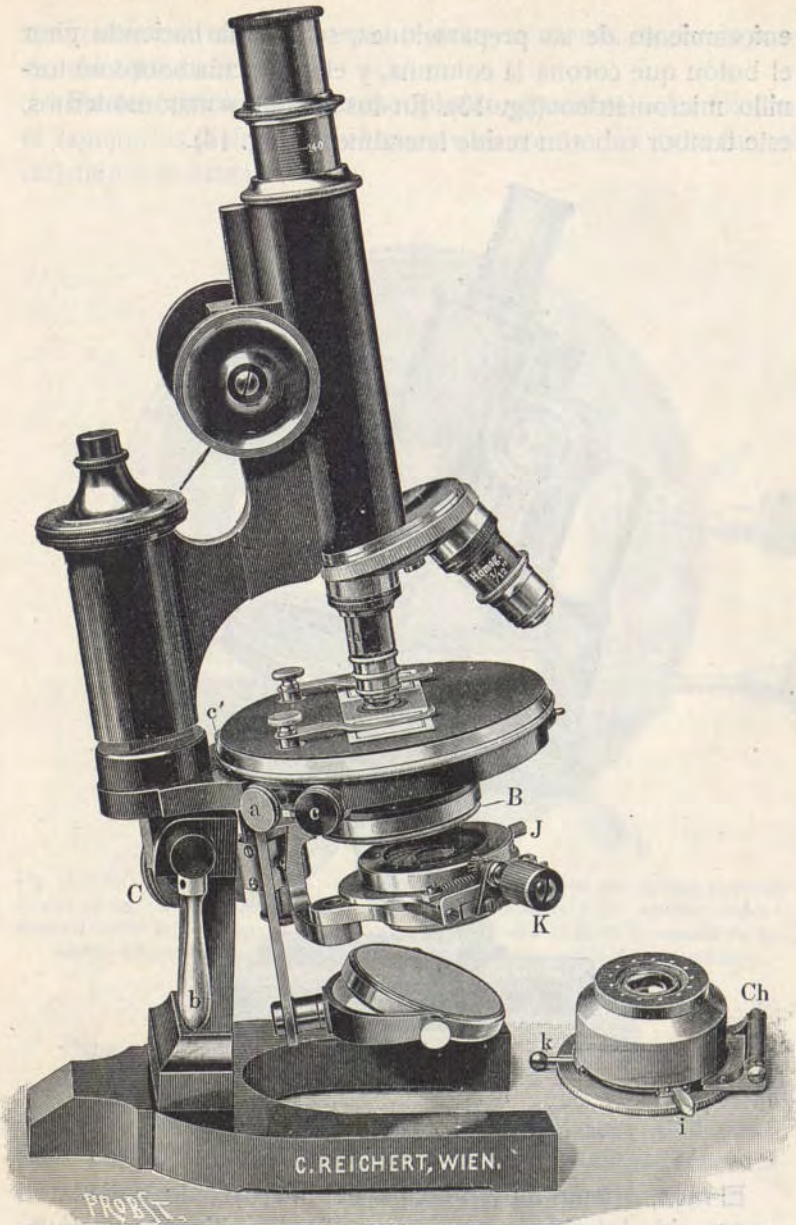


Fig. 13. — Microscopio compuesto, de Reichert; modelo de lujo, con cremallera para el descenso rápido del tubo; aparato iluminador Abbe, platina giratoria, diafragma Iris, revolver portaobjetivo, etc.

enfocamiento de las preparaciones, se efectúa haciendo girar el botón que corona la columna, y el cual actúa sobre un tornillo micrométrico (fig. 13). En los modelos más modernos, este tambor o botón reside lateralmente (fig. 14).

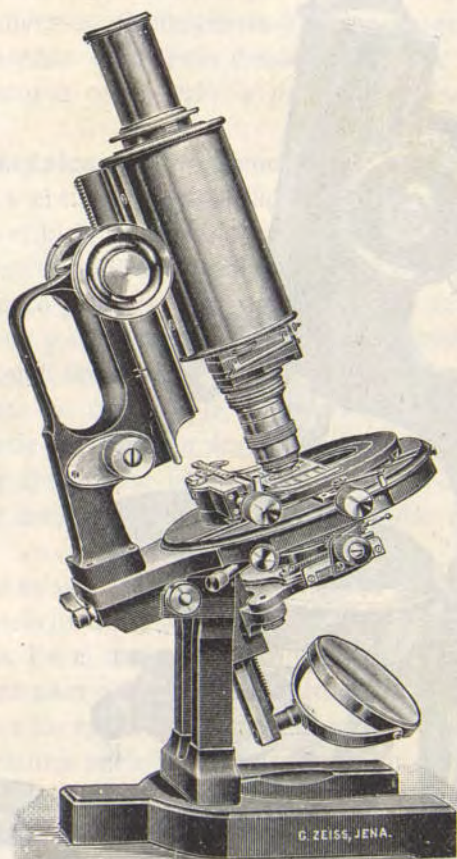


Fig. 14. — Gran modelo de microscopio con tornillo micrométrico lateral y platina graduada con movimientos en dos direcciones.

El *tubo*, órgano muy principal del microscopio, es de latón ennegrecido interiormente, y consta de dos cilindros enchufados, de los cuales el interior puede sacarse para alargar la extensión total del tubo. En el extremo superior entra, por simple

deslizamiento, el ocular; en el inferior se monta, mediante rosca, el objetivo.

Parte óptica del microscopio compuesto. — La forman el espejo, los diafragmas, el aparato concentrador de la luz, el objetivo y el ocular.

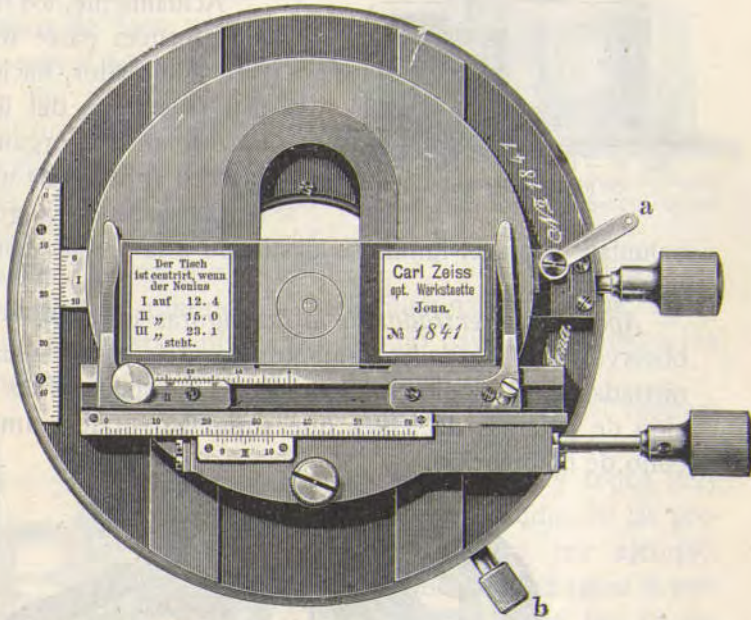


Fig. 15. — Gran platina móvil. El movimiento de la preparación en dos sentidos perpendiculares se logra a favor de cremalleras. Dos *nonius*, uno lateral y otro anterior, miden el desplazamiento del preparado y pueden servir para encontrar el punto interesante de éste cuando, después de un primer examen, se toma nota de la posición del portaobjetos.

Espejo. — Es generalmente doble, poseyendo en una cara un vidrio azogado plano, y en la otra otro cóncavo. Por virtud de su modo de articulación a la columna, el espejo puede moverse en todas direcciones, lo que permite iluminar la preparación, ya directa, ya oblicuamente (figuras 13 y 14).

Diafragmas. — Hace algunos años, casi todos los modelos de microscopio ofrecían, debajo de la platina y en su centro, un tubo móvil, donde se colocaban los diafragmas destinados a

regular la intensidad de la iluminación. La forma de los diafragmas solía ser cilíndrica, terminada en un disco taladrado (fig. 16).

En otros modelos, los diafragmas estaban representados por un disco giratorio horizontal, con agujeros de diverso diámetro, correspondientes al centro de la platina.

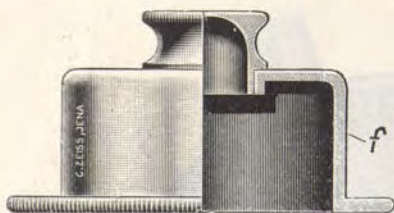


Fig. 16. — Diafragma cilindro, propio de los pequeños modelos.

Actualmente, los diafragmas forman parte del aparato iluminador, haciéndose uso preferente del llamado *diafragma iris*, órgano que, merced al juego de una manecilla, permite angostar a voluntad el pincel luminoso destinado a la preparación (figura 17).

Aparato concentrador de la luz (figuras 18 y 19). — En las observaciones a grandes aumentos no suele bastar la luz suministrada por el espejo cóncavo, siendo indispensable la aplicación de sistemas de lentes que aumentan poderosamente el cono de iluminación.

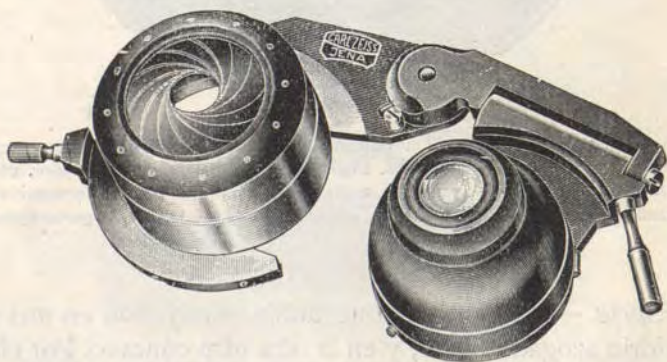


Fig. 17. — Condensador móvil fuera de eje con diafragma Iris.

Entre los concentradores conocidos, el más usado actualmente es el del profesor Abbe (fig. 19). Consiste este aparato sustancialmente en dos o tres lentes de gran abertura, sujetas en una misma montura, y las que, a la manera de un ojetivo foto-

gráfico de foco muy corto, proyectan en el centro de la platina, y precisamente en el espesor de la preparación, una imagen real muy brillante de la luz usada para la iluminación (la llama de una lámpara, por ejemplo). Con diafragmas moderadamente anchos, la claridad es tan grande que permite trabajar cómodamente, aun con los objetivos de foco más corto y de mayor potencia amplificante. Por delante de las lentes dicho concentrador lleva un anillo giratorio donde se instala el diafragma del tipo *Iris* (fig. 11); un piñón y una cremallera permiten ladear este diafragma, a fin de obtener la iluminación oblicua. Finalmente, en la parte inferior del aparato hay una prolongación prismática, donde va fijo el espejo reflector.

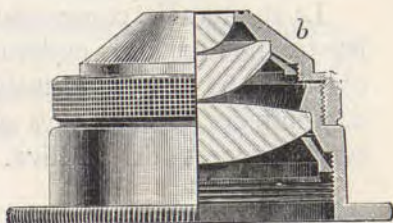


Fig. 18. — Condensador luminoso ordinario, peculiar de los medianos modelos de microscopio.

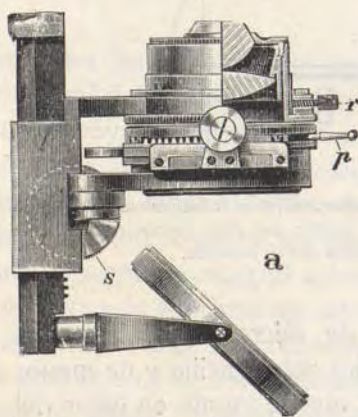


Fig. 19. — Corte del concentrador Abbe.

Pueden sacarse del concentrador Abbe efectos de iluminación muy varios y todos muy útiles en el estudio de las preparaciones. Así, por ejemplo, operando sin diafragma la preparación aparece tan difusamente iluminada que no revela sino las partes coloreadas (la cromatina de los núcleos, los microbios teñidos con anilinas, etcétera); pero si la preparación se examina con angosta abertura, no sólo mengua la luz, sino que se perciben rigurosamente

los contornos de las partes poco o nada teñidas, o cuyo índice de refracción apenas discrepa del medio conservador (contornos celulares, rayas de diatómeas, dobles contornos de tubitos, pestañas, vibrátiles, etc.).

El concentrador de Abbe ordinariamente usado carece de la corrección cromática; pero existe un modelo, recomendable en microfotografía, perfectamente acromatizado. Los constructores ingleses Powel y Lealand venden también excelentes concentradores acromáticos.

La abertura del concentrador ordinario permite usar los objetivos apocromáticos poderosos (1,30 y 1,40); no obstante, el objetivo 1,63 de Zeiss (actualmente muy poco usado) exige un concentrador especial, cuya abertura guarda correspondencia con la poderosa del objetivo.

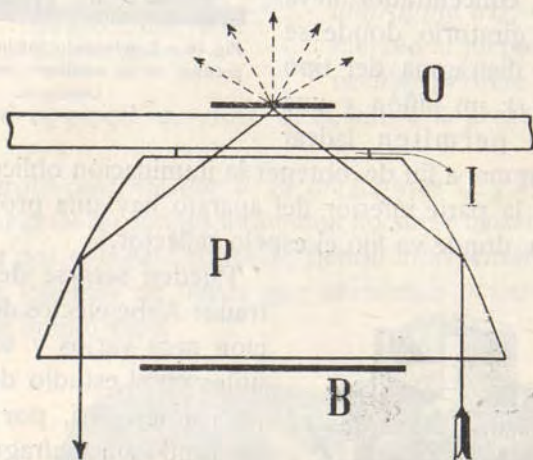


Fig. 20. — Condensador parabólico. Marcha de los rayos luminosos en la iluminación de fondo oscuro; B, disco opaco; P, condensador; I, capa de aire que debe descartarse mediante el aceite de cedro; O, portaobjetos con su laminilla.

Para los pequeños modelos de microscopio, las casas construyen también un concentrador más sencillo y de menor ángulo, provisto de diafragma Iris, que se monta en lugar del diafragma cilíndrico.

Concentradores de luz para fondo oscuro. — En estos últimos años se ha imaginado, para la percepción de microbios vivos y de particularidades estructurales en las células no fijadas ni teñidas, ciertos aparatos concentradores, dispuestos de tal suerte que el poderoso haz luminoso recolectado por el

espejo, después de cruzar las lentes del aparato y de iluminar la preparación, sufra en la superficie de ésta (cara superior del cubreobjetos) una reflexión total; de esta suerte, los rayos incidentes retornan al espejo, y los objetos heridos por ellos destacan como puntos blancos sobre fondo negro.

Se conocen hoy varios concentradores de esta especie, construídos por Leitz, Reichert, etc. Uno de los mejores es el fabricado por Zeiss e imaginado por Siedentopf, y que consiste en un paraboloides macizo de cristal, con el cual se reemplazan

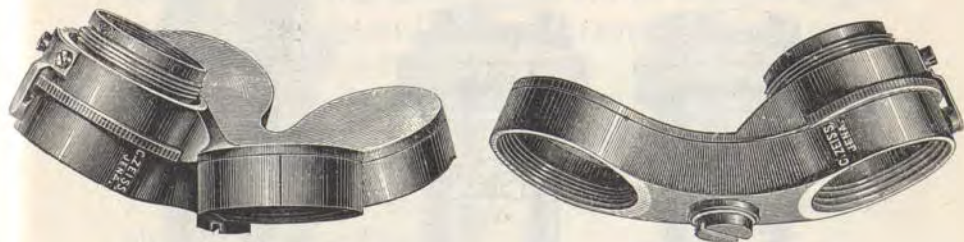


Fig. 21. — Tipos de revólver portaobjetivos.

las lentes del concentrador ordinario (fig. 20). La curva superior-lateral del paraboloides está calculada de tal suerte que todos los rayos incidentes de abertura numérica superior a 1,1 sufren en ella la reflexión total, convergiendo en el preparado, en cuya cara superior retroceden (al llegar al aire), en virtud de otra reflexión total, no sin haber iluminado el objeto, que se hace perceptible merced a los rayos de luz difusa que emite. Los rayos de abertura menor son eliminados mediante el diafragma central *B*. Naturalmente, el examen de la preparación se efectúa en este caso solamente con objetivos a seco. También se puede conseguir la iluminación en fondo negro con objetivos de inmersión, en que se ha ennegrecido el centro de la lente superior, en la iluminación corriente, de poca abertura, o mejor aun como hace Leitz se interceptan con diafragmas en embudo los rayos de abertura superior a 1,1 en la iluminación con condensadores parabólicos. Aneja a estos aparatos va, por lo común, una lámpara eléctrica especial de gran potencia.

Merced a los concentradores de fondo negro, se hacen perceptibles las figuras kariokinéticas de las células vivas, diversas granulaciones difíciles de percibir en los preparados comunes, y, en fin, microbios inaccesibles a nuestra retina con los concentradores ordinarios.

Objetivos. — Son los objetivos los órganos más importantes del microscopio; la bondad de éste depende enteramente de la buena construcción de aquéllos.



Figuras 22 y 23. — Aspecto exterior de los objetivos comunes de Zeiss.

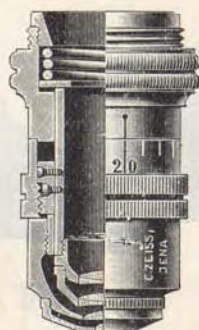


Fig. 24. — Corte vertical de un objetivo apocromático de corrección.

En los modelos económicos, el objetivo se monta atornillado al cabo inferior del tubo del microscopio; pero es más cómodo montarlo en el *revólver portaobjetivo* (fig. 21), pieza que, mediante un movimiento giratorio, permite utilizar sucesivamente varios objetivos de diversa amplificación (figs. 22 a 24).

Antiguamente constaban los objetivos de una sola lente, cuya distancia focal variaba según los aumentos que se querían obtener. Pero desde Carlos Chevalier (1833), los objetivos se construyen de varias lentes, con la doble mira de corregir la aberración cromática y de aumentar la distancia frontal; alcánzase así también la ventaja de hacer más fácil la construcción del objetivo, pues se reparte en varias lentes de foco relativamente largo, y, por tanto, fáciles de tallar, la corvadura exagerada de la lente única de foco cortísimo.

En los objetivos que hoy se usan, las diversas lentes constituyen un sistema inseparable, mantenido en una montura de latón de forma cónica, atornillable en el cabo inferior del tubo del microscopio. Cada objetivo contiene ordinariamente tres lentes: la *inferior* o *frontal*, de foco muy corto; la *media*, de foco más largo, y la *superior*, todavía menos convergente. Casi siempre la lente media está acromatizada y la inferior se corrige con la superior; pues en ésta domina el *flint* (materia muy dispersiva) y en aquélla el *crown* (cristal poco dispersivo). Esta combinación de tres lentes no reza con los objetivos de gran potencia, ni con los más débiles; pues aquéllos constan de cuatro lentes (fig. 24) y éstos de una sola.

Varietades de objetivos. — Atendiendo a las condiciones de su empleo y al mecanismo de su construcción, los objetivos se clasifican en: 1.º, objetivos a seco u ordinarios; 2.º, objetivos de corrección; 3.º, objetivos de inmersión, y 4.º, objetivos apocromáticos.

Objetivos ordinarios o a seco. — Son los que, cuando funcionan, tienen la lente inferior o frontal separada de la preparación por una capa de aire.

Para aumentos medianos son tales objetivos excelentes. Los hay de varios números, según su distancia focal y poder amplificante. Distínguense entre sí, ya por letras (Zeiss), ya por números (Reichert, Leitz). Actualmente va adquiriendo boga una nomenclatura más racional, porque está fundada en la distancia focal de abertura numérica. Así se designa uno de sus apocromáticos, 1,30, 2 mm., lo que quiere decir que el obtivo en cuestión posee 1,30 de abertura numérica y 2 mm. de distancia focal; indicaciones que permiten juzgar del poder resolutivo y del aumento.

Objetivos de corrección. — Amici y Ross, independientemente uno de otro, descubrieron que la imagen suministrada por los objetivos a seco es buena solamente cuando la preparación está cubierta por una laminilla de cierto espesor; en cuanto este espesor varía, las imágenes aparecen más o menos confusas.

Semejante efecto dimana, como puede verse en la figura 25, de que los rayos incidentes más oblicuos (*Aa*) de un objeto *O*,

situado en el espesor de un preparado, se desvían mucho más a su llegada al aire que aquellos cuya dirección es menos inclinada (eE). La desviación de los rayos oblicuos es tanto mayor cuanto más espeso es el cubreobjeto. El ojo del observador, viendo el objeto en la prolongación de los rayos emergentes, no lo referirá a un solo plano, sino a varios, perturbándose al superponerse las diferentes imágenes del punto examinado.

Se evita este defecto de dos modos: o usando solamente

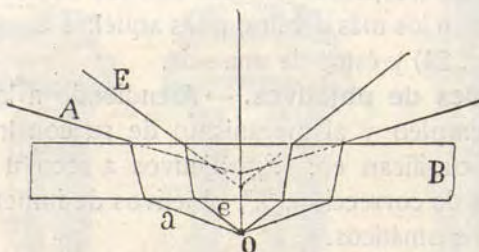


Fig. 25. — Influencia del espesor de la lámina cubreobjetos (B) en la marcha de los rayos luminosos emanados de un punto O de la preparación.

cubreobjetos para cuyo espesor esté corregido el objetivo, o utilizando ciertos objetivos *llamados de corrección* (fig. 24), en los cuales las lentes superiores pueden, a beneficio de un anillo y una tuerca, separarse en más o menos cantidad de la lente frontal. Cuanto más espeso sea el cubreobjeto, más deben aproximarse a la frontal las lentes superiores; de este modo los rayos periféricos, que son los más desviados, se refractarán más que los otros y la imagen de todos se dibujará en un mismo punto.

Objetivos de inmersión. — Así se designan los objetivos entre cuyo lente frontal y la preparación se interpone un líquido, que en los *objetivos de inmersión ordinarios* es el agua destilada, pero que en los llamados de *inmersión homogénea* es una substancia de índice de refracción análogo al del *crown* (1,515), o sea el aceite de cedro, más o menos espesado por evaporación.

Como ya demostró Amici hace muchos años, los objetivos

de inmersión son, a igualdad de aumento, mucho más luminosos que los ordinarios, porque el líquido interpuesto modera la desviación que los rayos periféricos o más oblicuos experimentan al emerger de la preparación, permitiendo que sean recogidos por la lente frontal. Poseen además estos objetivos una distancia frontal mayor que los objetivos a seco, lo que permite enfocar con mayor latitud y desahogo.

Las figuras 26 y 27 muestran claramente las ventajas de la inmersión. Los rayos incidentes (fig. 26), llegados del punto *a*

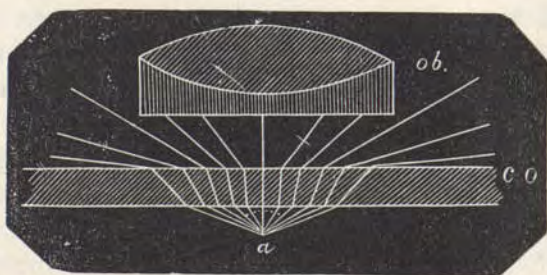


Fig. 26. — Marcha de los rayos luminosos emanados de un punto en los objetivos a seco; *o b*, objetivo; *c o*, cubreobjeto.

de la preparación, al abordar la capa de aire se desvían tan fuertemente que no pueden ser recogidos por el objetivo; los que alcanzan el aire bajo un ángulo superior al ángulo límite del cristal al aire, sufrirán la reflexión total; mas si se interpone (fig. 27) un líquido de igual índice que el *crown*, la desviación desaparece, porque la preparación, la lente frontal y el espacio separatorio, quedan convertidos en un medio casi del todo homogéneo.

Objetivos apocromáticos. — Los objetivos ordinarios, ya funcionen en seco, ya a inmersión, están acromatizados solamente para dos rayos del espectro: el rojo y el azul; lo que se logra, como es sabido, combinando cristales de *crown* (cristal poco dispersivo) con lentes de *flint* (muy dispersivo).

Empero, los cálculos del profesor Abbe, de Jena, en colaboración con las casas Schott y Zeiss, le condujeron a emplear

vidrios más ventajosos que los antiguos *crown* y *flint* para la corrección cromática de los lentes. Los objetivos construídos con estos cristales han recibido la denominación de *apocromáticos*; en ellos coinciden en un punto del eje tres rayos del espectro, por donde resulta casi absolutamente eliminado el espectro llamado secundario de los objetivos comunes. La imagen es más pura y luminosa, y los colores de los objetos se muestran con gran fidelidad.

Otra ventaja consiste en que la aberración de esfericidad,

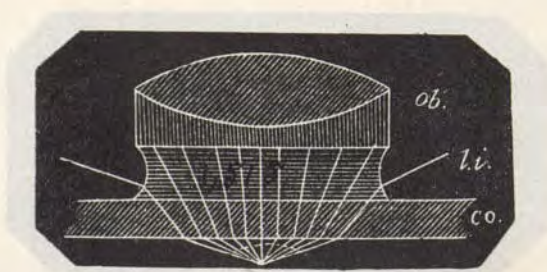


Fig. 27. — Marcha de los rayos emanados de la preparación en un objetivo de inmersión homogénea. *ob.*, objetivo; *co.*, cubreobjeto. *li.*, líquido de inmersión. (Tomadas de Ellenberger).

que en los objetivos ordinarios se corrige para un solo color (intermedio del amarillo y verde), en los apocromáticos está corregida para dos ondulaciones distintas del espectro.

Como más adelante tendremos ocasión de notar, los objetivos apocromáticos son excelentes para la microfotografía, ya que, merced a la coincidencia focal de tres colores (rojo, verde y violado), la imagen actínica o fotográfica corresponde al mismo plano que la luminosa.

Objetivos de gran ángulo. — Los experimentos de Abbe han puesto fuera de duda que el poder resolutivo del microscopio es función del ángulo de abertura del objetivo (véase más adelante el concepto de abertura). De aquí la necesidad de construir objetivos en donde todos los factores concurren al aprovechamiento de los rayos más desviados emergidos de la preparación, entre los cuales figuran los espectros de difracción

producidos por las finas rayas y demás pormenores del objetivo examinado.

Bajo este aspecto puede considerarse el objetivo 1,63 de abertura numérica construido por Zeiss, con arreglo a los cálculos de Abbe, como el último esfuerzo de la óptica moderna. Es de inmersión, pero no en el aceite de cedro, sino en un líquido de índice más alto aún (1,65): el *monobromuro de naftalina*. La lente frontal es de *flint*, cuyo índice llega a 1,72. Su poder resolvente es notable y superior a todo lo que hasta hoy habiase logrado, como atestiguan los experimentos microfotográficos de van Heurck. Mas, desgraciadamente (y esto limita mucho su uso), el conveniente aprovechamiento de su total ángulo de abertura numérica, exige el empleo de un concentrador luminoso especial, cuya lente superior es de *flint* muy refringente, así como el uso de portaobjetos y cubreobjetos tallados en un *flint* de 1,72 de índice. Además, con él no pueden examinarse las preparaciones ordinarias, siendo preciso usar como vehículo conservador el mismo monobromuro de naftalina. Por todas estas limitaciones, este objetivo se utiliza hoy casi exclusivamente en el estudio de las diatómeas.

PROPIEDADES DE LOS OBJETIVOS. — OCULARES.

Poder definidor del objetivo. — Es la cualidad que tienen los objetivos bien corregidos de las aberraciones cromática y de esfericidad, de traducir con limpieza y corrección el contorno de los objetos microscópicos.

Como es sabido, la *aberración de esfericidad* se explica por los físicos, considerando que toda lente está formada de una serie de prismas cuyas facetas poseen una inclinación tanto mayor cuanto más próximos se hallan a la periferia (1). Los rayos incidentes que atraviesan las regiones centrales de la lente (correspondientes a prismas de caras poco inclinadas) se desviarán mucho menos que los que crucen las regiones

(1) Véase la teoría del prisma en los *Tratados de Óptica*.

periféricas, formándose, en consecuencia, y en distintos puntos del eje principal, una serie de focos del mismo objeto.

La aberración de esfericidad se corrige en los objetivos de dos modos: mediante diafragmas que eliminan los rayos marginales, o combinando las lentes de tal suerte que la aberración de esfericidad de las unas se oponga a la de las otras.

La *aberración cromática* de las lentes es consecuencia de la propiedad que tienen los prismas de descomponer la luz blanca en sus siete colores elementales (la lente es un conjunto de prismas). La desigual refrangibilidad de los rayos del espectro (los violados se inclinan más y constituyen foco delante de los amarillos y rojos) da lugar a que las imágenes reales producidas por las lentes aparezcan faltas de limpieza y con los contornos irisados.

La aberración cromática o de refrangibilidad se corrige, como ya expusimos, reuniendo una lente convergente de *crown-glas* (silicato de potasa y cal) con otra divergente de *flint-glas* (silicato de plomo y potasa). El *crown* y el *flint* tienen un índice de refracción semejante, pero un poder dispersivo diferente. Se concibe, pues, que si emparejamos una lente convergente del cristal poco dispersivo (*crown*) con otra divergente (pero menos divergente que la otra convergente) del cristal muy dispersivo (*flint*), la luz, descompuesta al pasar por la primera lente, se recompondrá en la segunda, sin que desaparezca del todo la convergencia.

Todo objetivo debe estar corregido, por lo menos, para dos rayos del espectro (rojo y verde claro); en los apocromáticos la coincidencia focal se extiende a tres colores.

Poder penetrante. — El poder de penetración o profundidad focal es la propiedad que ciertos objetivos poseen de presentar perfectamente detallados, en una misma posición del enfoque, varios planos del espesor de una preparación.

La fuerza de penetración de un objetivo está en razón inversa de la abertura numérica, como ha demostrado Abbe, quien ha establecido la fórmula $\frac{1}{a}$, es decir, que la unidad de penetración se divide por la abertura numérica (a). Así, cuanto

menos aumente y resuelva un objetivo, mayor será su profundidad focal.

Ángulo de abertura. — Es uno de los factores más importantes de la eficiencia del objetivo, porque, como veremos luego, de la amplitud de este ángulo depende el poder de resolución.

El *ángulo de abertura* de un objetivo es el formado por los rayos extremos de un objeto que concurren a formar la imagen. Es preciso distinguir dos aberturas: la *geométrica* y la *numérica*.

La *geométrica* corresponde a la definición indicada, y puede fácilmente medirse por varios procedimientos, entre otros por el siguiente, debido a Amici: Se comienza por quitar del microscopio el espejo, el concentrador y el ocular; se baja luego el objetivo hasta insinuar su lente frontal en el agujero de la platina; en seguida se colocan en la mesa, a los lados del pie del microscopio, dos papeles o dos objetos brillantes que se irán separando hasta que sus imágenes comiencen a desaparecer dentro del objetivo. Ahora no hay sino tomar en un papel la distancia de separación de los objetos y la altura del objetivo, y trazar un ángulo que reúna dichas tres partes; este ángulo será la abertura geométrica. Poséelo de modo exclusivo los objetivos a seco, y rara vez pasa de 80° .

La determinación del ángulo de abertura puede hacerse también por otros medios, tales como la tabla de Stephenson y el apertómetro de Abbe.

La *abertura numérica* es un concepto introducido modernamente en la óptica por Abbe; puede expresarse diciendo que es la capacidad que tiene un objetivo de utilizar, para la formación de la imagen, un número más o menos considerable de los rayos luminosos que recibe.

Se recordará que al tratar de los objetivos de inmersión, hemos dicho que en éstos actuaban dos especies de rayos luminosos: los que serían recibidos del objetivo, aunque éste trabajase en seco, dada la amplitud de su ángulo de abertura, y aquellos más oblicuos que ingresan en la lente frontal merced a la influencia del líquido de inmersión. Estos dos contingen-

tes luminosos entran en la abertura numérica en la relación que marca la fórmula siguiente, establecida por Abbe:

$$a = n \text{ sen } u;$$

es decir, la abertura numérica (a) es igual al índice de refracción del líquido de inmersión (n), multiplicado por la mitad del seno del ángulo de abertura ($\text{sen } u$).

En general, y para un sistema cualquiera, la abertura geométrica estará en razón inversa de la distancia focal; así, de dos lentes de igual superficie, pero de las que una tenga la distancia focal de 4 y la otra de 2 mm., esta última será la de mayor abertura geométrica.

La abertura geométrica crece, a igualdad de ángulo, con el índice de refracción del líquido; por tanto, de dos objetivos de foco idéntico, el que funcione por inmersión en el aceite de cedro poseerá mayor abertura numérica que el que trabaje en el agua.

Poder de resolver. — Es la cualidad poseída por los objetivos de presentar finas rayas, contrastes ligeros de índice de refracción y detalles delicados de estructura de los objetos microscópicos.

No es lo mismo *aumentar que resolver*, el aumento depende de la brevedad focal del objetivo, y se determina por la fórmula más atrás citada; pero la resolución, si bien exige como una de sus condiciones la cortedad de la distancia focal, resulta muy principalmente de la cuantía de la abertura numérica. Se concibe bien, por tanto, que los esfuerzos de los ópticos tiendan a producir objetivos en los cuales, ora aprovechando cristales de alto índice, ora el gran poder refrigente de ciertos líquidos de inmersión, se consigan aberturas numéricas extraordinariamente desarrolladas. Ya dijimos más atrás que en esta vía el último paso habíalo dado Zeiss con la construcción de su objetivo de abertura numérica 1,63, a inmersión en el monobromuro de naftalina. La aplicación de un líquido de inmersión de índice más poderoso, tal como el yoduro de metilo (1,743), o los medios arsenicales, podrían acrecer todavía

la abertura numérica y, en consecuencia, el poder resolutivo del microscopio. La fórmula siguiente, debida a Abbe, expresa la relación entre el poder resolvente (R), la abertura numérica ($n \text{ sen } u$) y la longitud de onda:

$$R = \frac{n \text{ sen } u}{\lambda}$$

El poder resolvente de un objetivo aumenta en la luz monocromática, y particularmente en la representada por las ondulaciones más breves del espectro (azul, violado, ultravioletado).

El valor del detalle rendido por un objetivo dado puede hallarse por la fórmula siguiente de Abbe, derivada de la anterior:

$$\delta = \frac{\lambda}{2\alpha}$$

en la cual δ expresa el detalle mínimo a resolver o la menor distancia visible entre dos rayas; λ , la longitud de onda, y 2α el doble de la abertura numérica (1).

Así, para los rayos violados cuya longitud de onda es de $0,4861 \mu$, δ será igual a $\frac{0,4861 \mu}{2\alpha}$, mientras que para los rayos verdes (raya E), δ será igual a $\frac{0,5260 \mu}{2\alpha}$.

Se ve, pues, que δ , o el más pequeño detalle perceptible (2), será más diminuto iluminando la preparación con la luz azul o violada, que con la amarilla o amarillo-verdosa (luz que domina en la blanca).

Averiguado el valor de δ será fácil encontrar el número de veces que está contenido en un milímetro, y, por consiguiente,

(1) Esto se entiende para iluminación oblicua; en la iluminación central la fórmula es:

$$\delta = \frac{\lambda}{\alpha}$$

(2) Al hablar del *menor detalle perceptible* se alude a una imagen retiniana de dimensiones tales que, a la distancia de la visión distinta (25 centímetros), sus contornos abarquen aproximadamente un ángulo de tres minutos e impresionen, por lo menos, dos elementos visuales o conos sensibles.

el número de rayas que dicho objetivo resolvería en la extensión del milímetro.

La fórmula Abbe marca la dirección de los posibles progresos en la capacidad resolvente del microscopio. Si δ , o el detalle a resolver es igual a $\frac{\lambda}{2a}$, está claro, como ha probado Czapski (1), que no hay sino dos caminos para disminuir la dimensión de δ : o aumentar el divisor $2a$ (abertura numérica) o disminuir en lo posible el dividendo λ , utilizando las ondas más breves del espectro (onda violada). La abertura numérica se compone de dos factores: el ángulo de abertura y el índice de refracción del líquido ($a = n \sin u$); ahora bien, el ángulo de abertura ha llegado a su límite práctico en los objetivos apocromáticos poderosos, y el progreso se ha de realizar descubriendo substancias de un índice de refracción más elevado que las conocidas.

En suma, los avances en la potencia de resolución del objetivo podrán lograrse de dos modos: 1.º, usando líquidos de inmersión de índice elevado; 2.º, trabajando con luz ultravioleta. Ambas condiciones exigen que los constructores inventen objetivos *ad hoc*, corregidos esférica y cromáticamente para las ondulaciones más breves del espectro. Luego veremos que, inspirándose en estos principios, Kohler ha ideado lentes monocromáticas en cuarzo, que trabajan solamente con luz ultravioleta invisible a nuestra retina, pero perceptible para la placa fotográfica.

Oculares (fig. 28). — El ocular es un tubo corto, que consta de dos lentes y un diafragma intermedio. Estas lentes son planoconvexas, con la convexidad vuelta al objetivo. La lente más próxima al observador se llama *ocular* propiamente dicho, mientras que la inferior toma el nombre de *lente del campo*. El oficio de esta última es concentrar la luz destinada a formar la imagen real del objetivo, para que la lente superior ejerza su acción sobre todo el campo luminoso. La lente del campo

(1) S. Czapski: Die voraussichtlichen Grenzen der Leistungsfähigkeit des Mikroskops *Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie*, etc., Bd. VIII, 1891.

no coadyuva, pues, al aumento, antes al contrario disminuye algo el área del cono de proyección del objetivo; actúa solamente dilatando el perímetro observable de la imagen.

El papel desempeñado por la lente del campo se demuestra examinando sin ella una preparación: nótase que la zona visible de la imagen es muy estrecha, no permitiéndonos juzgar del conjunto de ésta sino a beneficio de movimientos de la preparación. La luminosidad misma disminuye notablemente.

La imagen real proyectada por el objetivo es recibida un poco por encima del foco de la lente superior. Se concibe fácilmente, después de lo expuesto más atrás, que cuanto más corta sea la distancia focal de la lente superior, mayor será la ampliación. Los fabricantes construyen varios números oculares, cuyo aumento varía desde dos a doce veces o más.

La nomenclatura de los oculares suele ser arbitraria (números o letras), no guardando ninguna relación con el aumento. Recientemente, Zeiss ha adoptado, para designar sus oculares de compensación, la base racional del número de veces que estas lentes multiplican la imagen engendrada por el objetivo. Así, el ocular 8 aumenta ocho veces la imagen de proyección o del objetivo. Lo mismo hace Leitz con los oculares periplanáticos.

Oculares ortoscópicos. — El ocular ordinario, llamado también de Huyghens, no es acromático, ni necesita serlo para las observaciones comunes; pero en los trabajos microfotográficos convienen a veces oculares perfectamente acromatizados, los cuales, contruídos primeramente por Kelner, llevan el nombre de oculares *ortoscópicos*.

Oculares micrométricos. — Son aquellos que, además de las lentes superior e inferior, encierran un micrómetro; es decir, un disco de cristal con finas rayas. Más adelante trataremos de su uso.

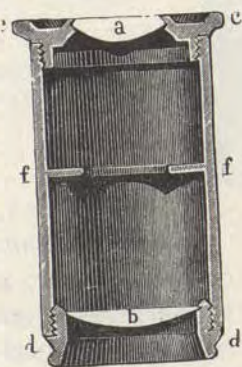


Fig. 28. — Corte vertical del ocular. — *a*, ocular propiamente dicho; *b*, lente del campo; *f*, diafragma.

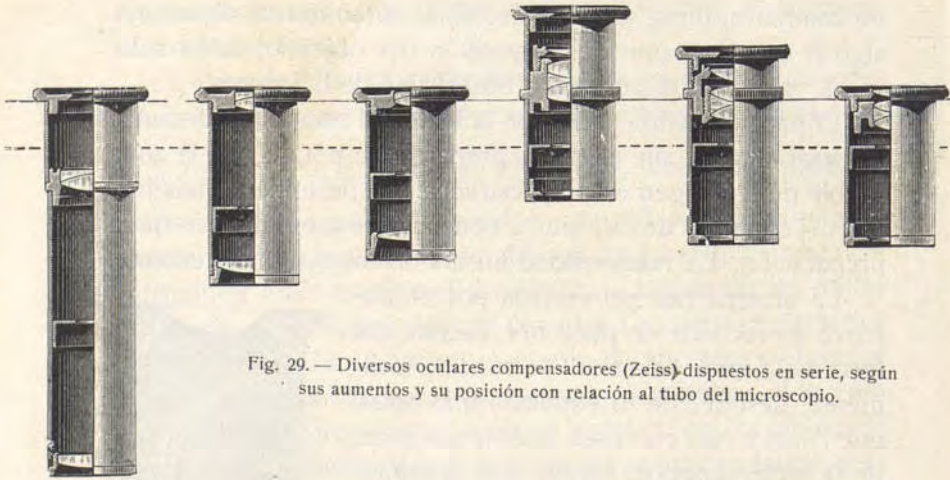


Fig. 29. — Diversos oculares compensadores (Zeiss) dispuestos en serie, según sus aumentos y su posición con relación al tubo del microscopio.

Oculares compensadores. — Construídos, según las indicaciones de Abbe, al propósito de corregir ciertos defectos de los objetivos apocromáticos, constan de dos lentes próximas: una superior, planoconvexa, y otra inferior, biconvexa o planoconvexa, según la amplificación. Dichos oculares, cuyos números van del 1 al 18, sólo deben emplearse con los objetivos apocromáticos de la misma casa (fig. 29).

Oculares de proyección. — Ideados asimismo por el profesor Abbe, son unos oculares compuestos de una lente del campo débilmente convergente y de un ocular o *proyector* biconvexo más pequeño y perfectamente acromático. Merced a un enchufe, la lente superior puede apartarse de la inferior.

Estos oculares están corregidos para proyectar, a distancias de 50 a 100 cm. imágenes reales sumamente puras, tan ventajosas para la demostración práctica ante una clase numerosa, como para la microfotografía. Esto no ocurre con los oculares ordinarios (de Huyghens y de compensación), cuyas imágenes sólo son correctas en proyecciones a cortísimas distancias.

Los oculares de proyección llevan por nombre el número de veces que amplían la imagen del objetivo. El tamaño de la imagen proyectada por el ocular (que actúa, no como los ocu-

lares ordinarios, sino como un nuevo objetivo flojo, pues da una segunda imagen real de otra real), se obtendrá fácilmente dividiendo la distancia existente entre la imagen y el ocular por la longitud focal del objetivo, y multiplicando el cociente por el número del ocular. Sea, por ejemplo, 3 mm. la distancia focal del objetivo, 600 mm. la de proyección de la imagen, y 4 el número del ocular, tendremos:

$$A = \frac{600}{3} \times 4 = 800.$$

Por lo demás, esta regla sólo es suficientemente exacta para los grandes aumentos.

DIVERSOS TIPOS DE MICROSCOPIOS FABRICADOS PARA FINES ESPECIALES

Aparatos de visión ultramicroscópica. — Los aparatos de observación descritos hasta aquí son los particularmente empleados en los estudios histológicos y bacteriológicos. Pero existen otros modelos de microscopios aplicables a casos especiales. Uno de los más interesantes es el *ultramicroscopio*. Este último tiene por objeto hacer perceptible las partículas, cuyo diámetro es tan pequeño que no pueden dar imágenes apreciables con las lentes de mayor aumento. El principio en que se basa el ultramicroscopio es aquel en cuya virtud se hacen perceptibles a la vista, y sobre fondo oscuro, las partículas del polvo heridas por el sol o las estrellas del firmamento, no obstante carecer de diámetro aparente en la imagen retiniana.

Entre los varios modelos de ultramicroscopio imaginados en estos últimos años, citaremos el sencillo de Mouton, que realiza el fondo oscuro y la enérgica iluminación mediante un prisma de reflexión total; los iluminadores parabólicos de Reichert, Zeiss, Leitz, etc., fundados en el mismo principio, y el complicado aparato de Zsigmondy y Siedentopf, mediante el cual cabe explorar las partículas invisibles, tanto en preparados microscópicos como en tubos llenos de líquido. Puesto

que tales aparatos tienen poco o ningún uso en histología, aplicándose especialmente a la bacteriología y a la químico-física (estudio de las sustancias coloides, etc.), prescindiremos de hacer aquí su descripción detallada. Bastará consignar que

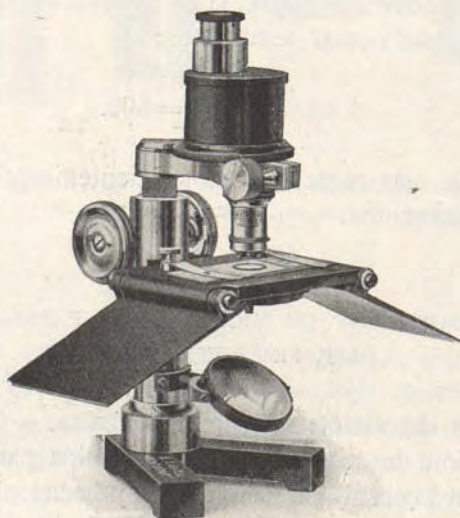


Fig. 30. — Microscopio compuesto con prisma rectificador de Porro de Leitz.

todos ellos poseen un condensador óptico poderoso, destinado a concentrar la luz del sol o eléctrica sobre un punto microscópico de la preparación; un mecanismo de centrado de este pincel luminoso, y, en fin, una disposición del objetivo o del concentrador, encaminada a producir un fondo oscuro, en el cual destaquen, mediante círculos irisados de difracción, los objetos invisibles enérgica y lateralmente iluminados.

Microscopio mineralógico. — Es un modelo provisto de platina giratoria y de goniómetros, al objeto de medir los ángulos de los cristales.

Microscopio monocular con prismas para la visión directa. — El modelo de la figura 30, construido por Leitz,

permite montar objetivos de larga distancia focal, excelentes para la disección. Merced a los prismas inversores, el movimiento de las agujas, visto al microscopio, es el natural, y las maniobras de disociación resultan fáciles.



Fig. 31. — Microscopio de Greenough, de Leitz.

Microscopios binoculares de disección. Microscopio de Greenough, fabricado por Leitz. — Posee el modelo de Greenough (fig. 31) dos objetivos paralelos que permiten examinar dos perspectivas de la preparación. Por debajo del ocular hay unos prismas rectificadores de Porro, merced a los cuales desaparece la inversión de la imagen. Este modelo es excelente para la disección y tiene adecuada y especial aplicación en zoología (examen de infusorios, diminutos insectos, arácnidos y demás animalículos de pequeño tamaño), en bacteriología

(exploración de colonias) (fig. 32) y en embriología (examen de pequeños embriones).

Un microscopio semejante es el de Braus y Brüner, que se distingue del precedente por carecer de platina y estar mon-

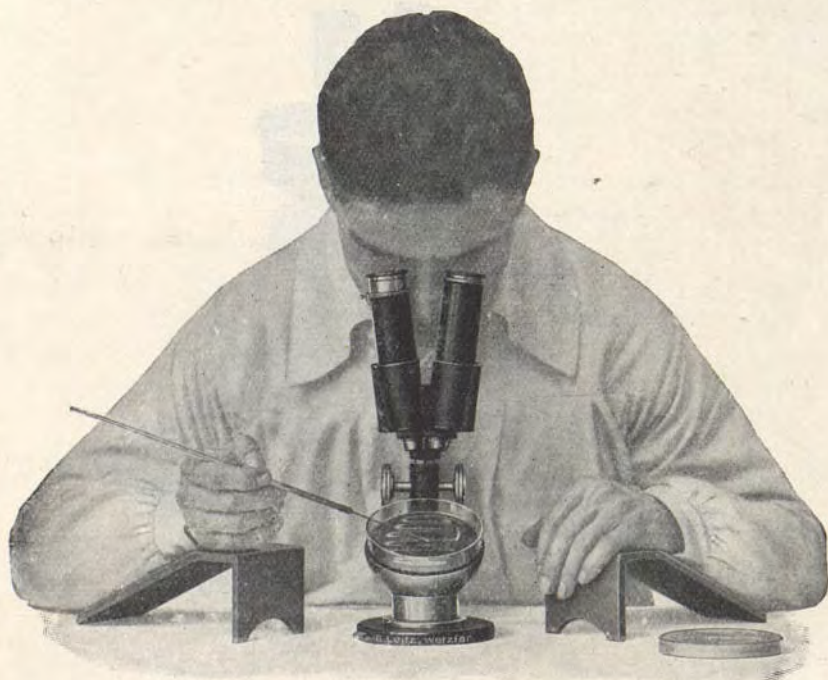


Fig. 32. — Microscopio especial para el estudio de coloinas en bacteriología, de Leitz.

tado sobre una columna, cuya altura es modificable a favor de una cremallera (fig. 33). Este modelo es también, como el microscopio simple, apropiado para la disección. Una pequeña cámara fotográfica permite recoger la doble imagen y obtener copias estereoscópicas.

Microscopio binocular. — Hemos mencionado ya los microscopios binoculares de dos objetivos propios para dar la sensación del relieve. Pero este efecto estereoscópico puede lograrse también con la disposición que presentamos en la

figura 34, que no exige más que el empleo de un objetivo con dos oculares y un juego de prismas de reflexión total. La bifurcación del pincel luminoso (C) y la marcha del rayo doblemente reflejado (B') aparecen claramente en dicha figura.

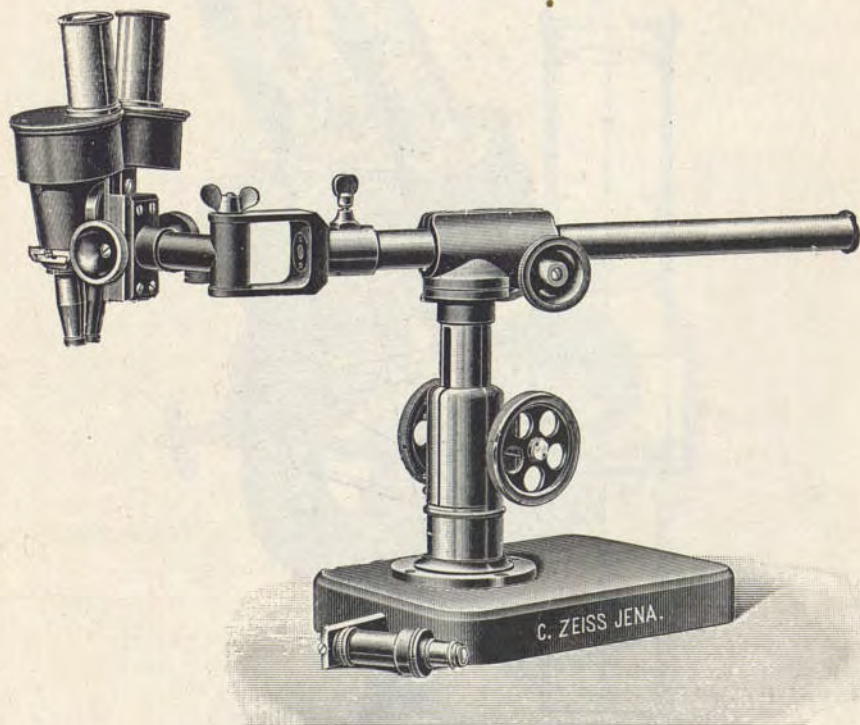


Fig. 33. — Microscopio binocular de disección de Braus y Brüner.

En estos últimos años la casa Leitz ha perfeccionado notablemente los microscopios binoculares, construyendo dos modelos, que, como se ve en la figura 35, no alargan la longitud del tubo, ni hacen perder elegancia al microscopio y en cambio proporcionan imágenes de gran campo y extraordinaria claridad; su aceptación ha sido grande y su uso se generaliza con rapidez. El gran modelo reproducido en la figura 35 ofrece además la enorme ventaja de poderse sustituir rapidísi-

mamente, mediante una palanquita, el tubo binocular por el monocular ordinario, dejando en su sitio el revólver con los objetivos; por esta feliz disposición, cuando en la preparación se ha encontrado algo interesante que convenga dibujar con la cá-

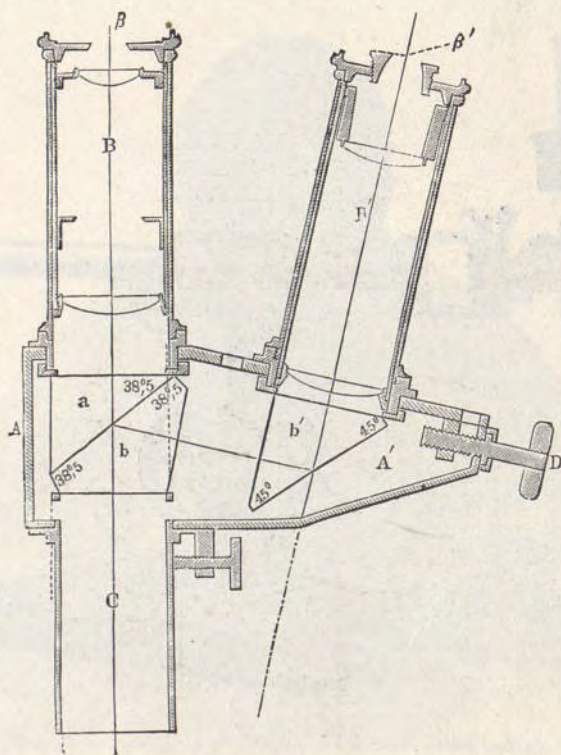


Fig. 34. — Oculares estereoscópicos.

mara clara, o fotografiar o se necesite la aplicación de un accesorio que sólo pueda ser utilizado con un solo tubo, sin cambiar el campo de la preparación y el enfoque, se puede conseguir facilísimamente. Además, construye una gran variedad de modelos de microscopios, de doble tubo para diferentes usos, habiendo alcanzado en esta especialidad de la percepción del relieve un perfeccionamiento no alcanzado por ninguna otra casa hasta ahora.

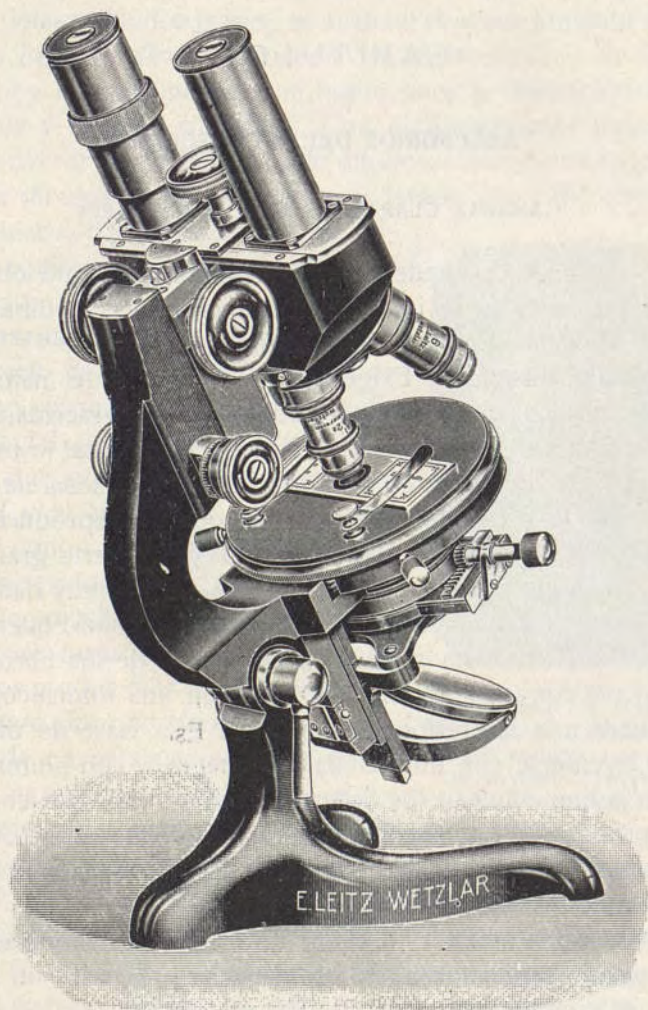


Fig. 35. — Gran modelo de microscopio binocular de la casa Leitz.

CAPÍTULO II

ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

CÁMARAS CLARAS. — MICROFOTOGRAFÍA

A tres medios puede recurrir el micrógrafo para obtener reproducciones de las imágenes del microscopio: al dibujo directo, a la cámara clara y a la microfotografía.

Dibujo directo. — Exige hábito de copiar del natural y gustos artísticos que no siempre concurren, desgraciadamente, en los dedicados a las ciencias naturales. El material lo forman lápices Faber de números distintos, colores a la acuarela y papel marquilla o cartulina. Sólo el trazo de lápiz reproduce suavemente el vago contorno de las células y el incierto graneado de los protoplasmas. La pluma es menos fiel y muy dada a la dureza: no obstante, nos será imprescindible cuando queramos (lo que se hace diariamente en la ilustración de los libros histológicos) convertir un dibujo a mano en una fotocincografía destinada a la impresión con el texto. Esta clase de dibujos debe ejecutarse con tinta china bien negra, y con pluma fina, como la que emplean los litógrafos. Así y todo, conviene que la reproducción fotocincográfica encomendada al grabador sea de menor tamaño que el dibujo, a fin de obtener mayor finura y disimular la irregularidad de las líneas.

Si se desea obtener en el dibujo original un modelado de fino grano, semejante al de las litografías, se usará un papel especial, graneado, en el cual se trabaja con lápices grasos litográficos. Los fondos de líneas paralelas o cruzadas se lograrán fácilmente dibujando en el papel xilotipo, muy usado hace años para los grabados de las ilustraciones. Los diseños en papel xilotipo o en el de grano tienen la ventaja de poderse transformar fácilmente en bloques fotocincográficos de impresión.

El micrógrafo no debe ignorar todos estos procedimientos, que le serán imprescindibles en sus publicaciones científicas.

Cuando se deseen en la reproducción del dibujo suaves medias tintas y fondos grises, se apelará al procedimiento de grabado llamado *directo* (proceder de Meisenbach o de retícula), hoy extraordinariamente usado para la ilustración de los libros y revistas científicos. Con el fotograbado directo cabrá convertir en clichés, no sólo dibujos, sino microfotografías. Los dibujos serán ejecutados al lavado con tinta china, ayudándose con el lápiz o la pluma, según lo requiera la índole del objeto reproducido.

Cámaras claras. — Son aparatos cuyo objeto es la proyección virtual de la imagen sobre el papel en que se diseña, de tal suerte que el observador perciba al mismo tiempo la preparación, el papel y el lápiz, y le sea muy fácil trazar el contorno de las células y marcar las dimensiones y distancias relativas.

Existen muchos modelos de cámaras claras; pero nosotros indicaremos solamente los usados más comúnmente.

Cámara clara de Nachet (fig. 36). — Trátase de un paralelepípedo de cristal alojado en una caja metálica que se coloca encima del ocular. La figura 36 muestra claramente la marcha de los rayos luminosos, y da idea del mecanismo. El rayo *R*, procedente del papel y del lápiz situados a un lado del microscopio, aborda el paralelepípedo, sufre en *M* una primera reflexión total, una segunda en *N*, y se hace, finalmente, vertical, penetrando en el ojo en la misma dirección que el rayo *O* emanado del microscopio. Este último rayo no experimenta ninguna desviación, gracias a que en la cara correspondiente del paralelepípedo se halla pegado con bálsamo un pequeño prisma que trasforma este paraje en un cristal de superficies paralelas. El observador ve

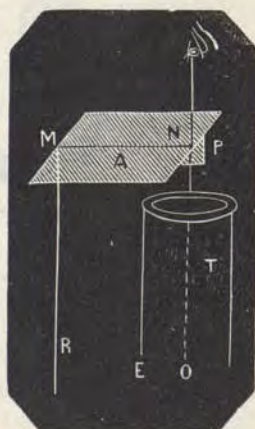


Fig. 36. — Esquema de la cámara de Nachet. — *T*, tubo del microscopio; *A*, paralelepípedo de cristal; *R*, rayo que llega del papel; *O*, rayo emanado del microscopio.

reunidos, en el interior mismo del microscopio, la preparación, el lápiz, el papel y la mano que dibuja.

Cámara de Abbe. — Consta esencialmente de dos partes: un espejo plano situado lateralmente (fig. 38, *E*) y un cubo de cristal montado en una armadura situada encima del ocular (*A*). El cubo de cristal se compone de dos prismas pegados con

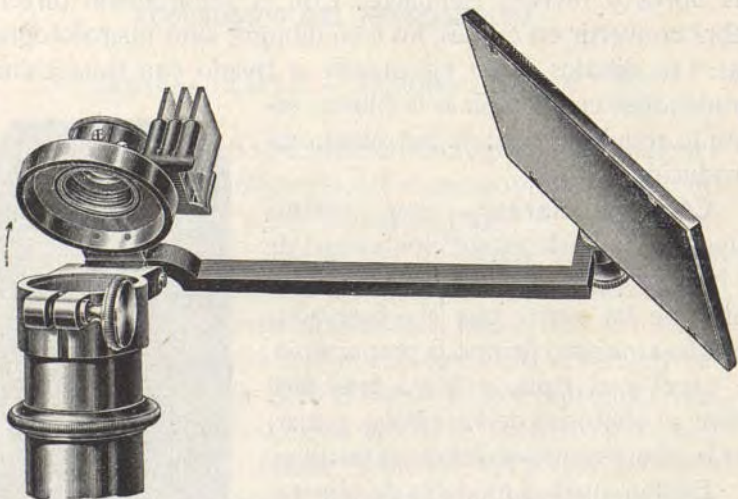


Fig. 37. — Cámara de Abbe, inclinada, para apreciar su montaje sobre el ocular.

bálsamo de Canadá; la cara adherente de uno de ellos está azogada, menos en el centro, donde el espejito tiene una perforación para el libre paso de los rayos luminosos llegados del microscopio.

El mecanismo aparece claramente en la figura 38. Los rayos *r*, emanados del papel y lápiz, son reflejados primeramente en el espejo plano *E*, y después en la diagonal azogada del cubo (*c*), en donde adquieren curso vertical marchando confundidos y en igual dirección que los rayos del microscopio (*m*). Éstos pasan sin desviación por la perforación de la capa azogada del sistema de prismas, y el observador ve en la platina las imágenes de la preparación, del lápiz y del papel.

Para graduar bien la intensidad luminosa de la imagen del papel, se colocan en el paraje por donde los rayos de éste pe-

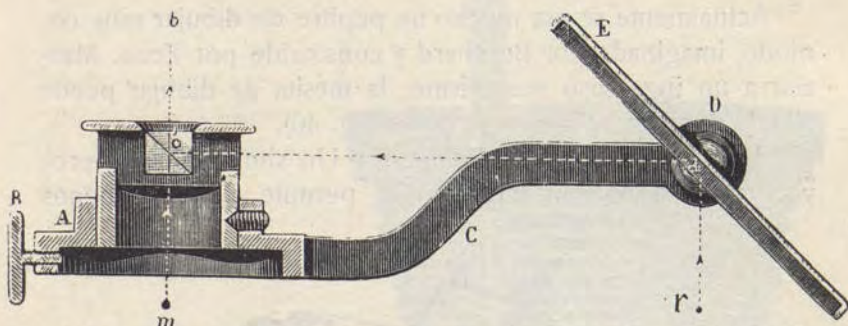


Fig. 38. — Marcha de los rayos luminosos en la cámara clara de Abbe. — *r*, rayo emanado del papel; *m*, rayo llegado del microscopio; *E*, espejo; *c*, cubo cristal.

netran en el cubo de cristal, vidrios ahumados o de colores oscuros (fig. 37).

Cámara de Zeiss. — Semejante en su disposición a la de Nachet, consta de dos prismas, situados de tal modo que los rayos luminosos que llegan del papel, después de sufrir una primera reflexión total en el prisma externo y otra en el interno, adquieren la misma dirección que los emanados del microscopio. La armadura del aparato posee, en el punto correspondiente al ocular, un agujero cuya mitad externa está ocupada por el prisma interno, y cuya mitad interna queda libre para el tránsito directo de los rayos del microscopio, que penetran, unidos a los del papel, en la misma pupila del observador (fig. 39).

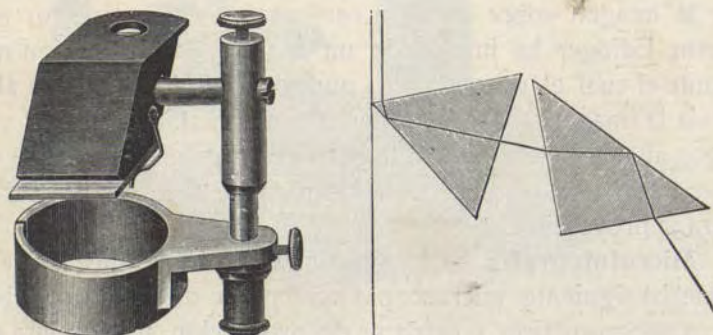


Fig. 39. — Cámara clara de Zeiss.

Actualmente se usa mucho un pupitre de dibujar muy cómodo, imaginado por Bernhard y construido por Zeiss. Merced a un ingenioso mecanismo, la mesita de dibujar puede alzarse e inclinarse lo que se desee (fig. 40).

Aparato de dibujar de Edinger. — Un simple aparato proyector de la imagen micrográfica permite ejecutar buenos

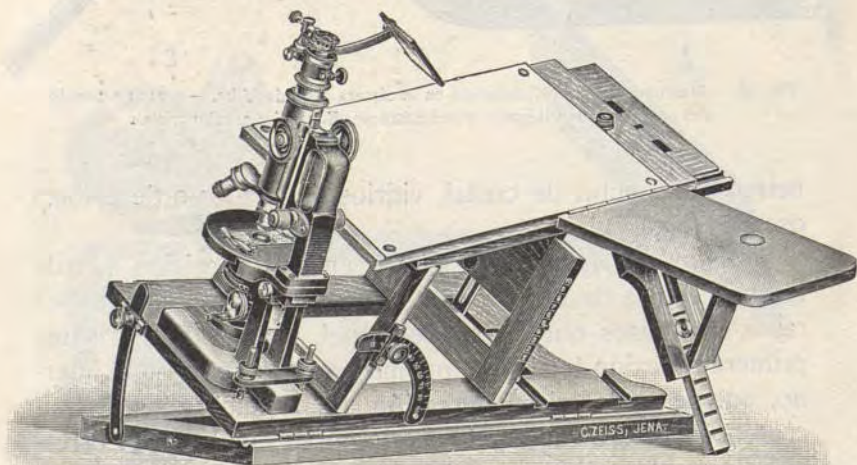


Fig. 40. — Mesita de dibujar de Bernhard, fabricada por Zeiss.

dibujos de las preparaciones microscópicas. Pero la recepción de la imagen sobre un telón vertical no es cómoda. Por esta razón, Edinger ha imaginado un aparato de proyección mediante el cual el microscopio, puesto verticalmente y en alto, envía la imagen sobre una mesita horizontal. Dos largos vástagos al alcance del dibujante permiten regular el enfoque del preparado y la marcha de la lámpara de arco, indispensable para la proyección.

Microfotografía. — La práctica microfotográfica exige el material siguiente: microscopio susceptible de inclinarse, objetivos apocromáticos y oculares de proyección, una cámara oscura fotográfica, un concentrador acromático, luz de gas, eléc-

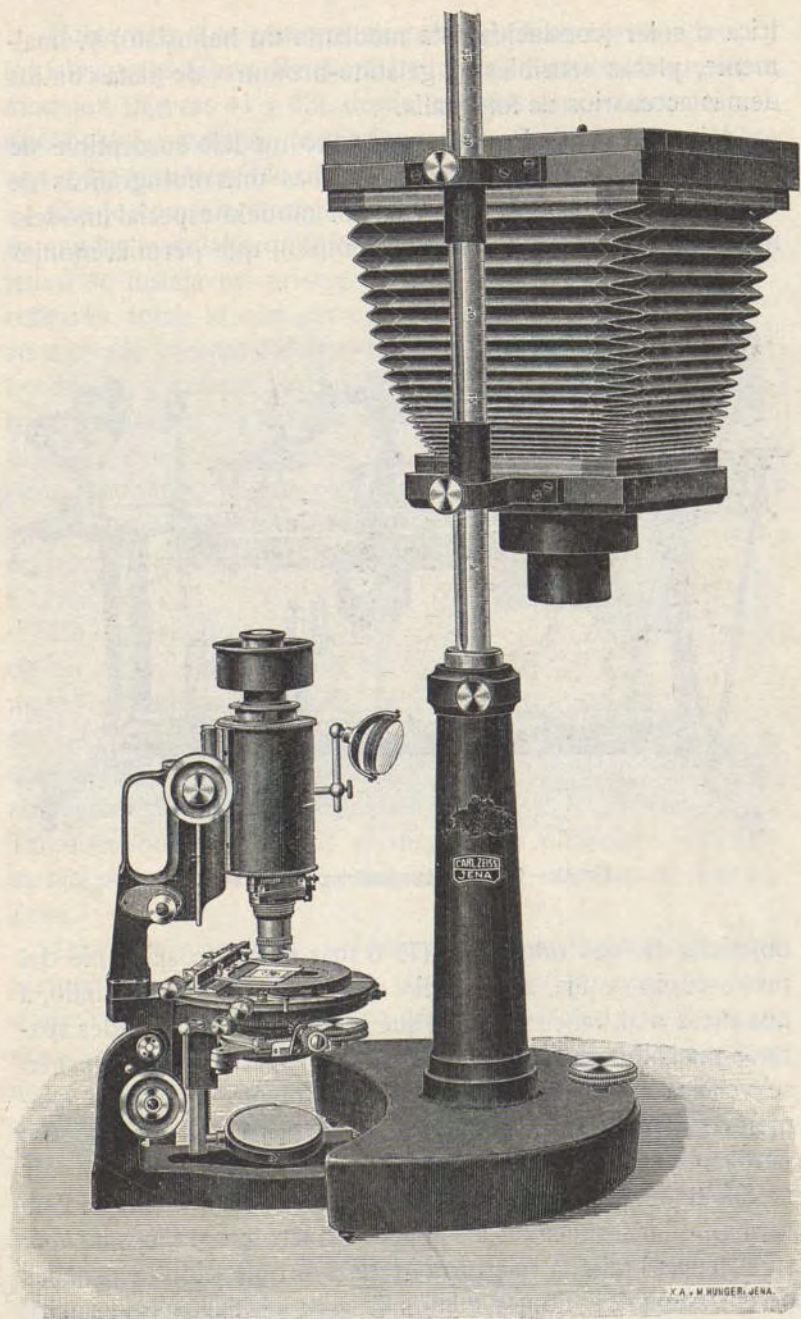


Fig. 41. — Pequeño modelo microfotográfico vertical de Zeiss.

trica o solar (conducida ésta mediante un heliostato) y, finalmente, placas sensibles al gelatino-bromuro de plata con los demás accesorios de fotografía.

Microscopio. — Puede servir todo modelo susceptible de inclinarse. Si se desea obtener pruebas microfotográficas de corto aumento, será preciso usar un modelo especial (modelo microfotográfico de Zeiss, por ejemplo), que permita montar

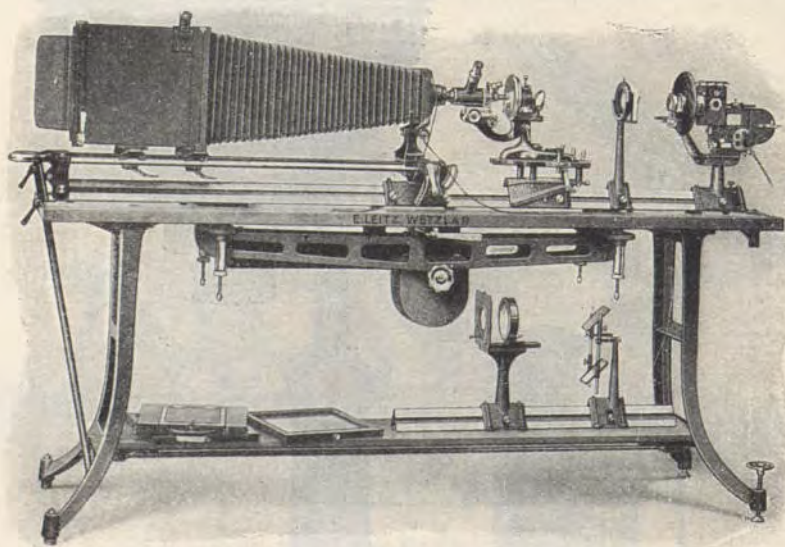


Fig. 42. — Gran aparato microfotográfico de Leitz.

objetivos de foco muy largo (75 ó más milímetros). El pie del microscopio se fija, a beneficio de una barra y un tornillo, a una mesa o al banco especial que acompaña a los grandes aparatos microfotográficos (fig. 42). Si la proyección de la imagen se verifica a corta distancia, el enfocamiento durante el examen de aquélla en el cristal esmerilado se efectúa con la mano; pero en las proyecciones muy distantes será preciso enfocar mediante una larga palanca unida al tornillo micrométrico. Esta varilla no falta nunca en los aparatos microfotográficos *ad hoc*; su ausencia limita la microfotografía a la obtención de pruebas de corta ampliación, a menos de usar objetivos poderosos.

Cámara. — Las cámaras microfotográficas construidas por los fabricantes (Zeiss, Reichert, Leitz, etc.) comprenden muchos modelos, (figuras 41 y 42), desde los lujosísimos hasta los pequeños del estudiante, formados por un fuelle instalado sobre una mesa y susceptible de trabajar vertical y horizontalmente.

Por lo cómoda y relativamente económica, es muy de recomendar la instalación imaginada por Orueta. Encima del objetivo se instala un prisma de reflexión total, lo que permite ajustar una cámara fotográfica horizontal, y delante del espejo, sobre la mesa de trabajo, se dispone en sentido inclinado un pequeño banco óptico con la luz (lámpara de Nernst), concentrador, cuba de agua, diafragma, etc.

En fin, para quien disponga de un pie sólido y de una cámara fotográfica de fuelle, le será fácil emplear la disposición que nosotros hemos utilizado muchas veces con provecho.

También son sencillísimos el dispositivo publicado recientemente por Caballero (1), y las camaritas oculares de Leitz y Zeiss.

Objetivos y oculares. — Hace algunos lustros se trabajaba preferentemente sin ocular y con un objetivo común, cuya imagen era proyectada dentro de la cámara oscura. En algunos casos lográbanse por este método buenas microfotografías. El éxito dependía del empleo de objetivos *casualmente* corregidos del defecto llamado *diferencia focal*. Con los objetivos bien corregidos para la observación ordinaria, los resultados eran detestables; lo que dimanaba de dos causas: 1.º De



Fig. 43. — Camarita para colocar en lugar del ocular de Leitz.

(1) E. Caballero Bellido: «Note sur un dispositif special pour faire des microphotographies avec le microscope placé dans une position quelconque de préférence en position inclinée». *Trav. du lab. de recher. biol. de l'Université de Madrid*. Tome XXII, 1924.

que casi todos los objetivos comunes poseen diferencia focal; es decir, que en sus imágenes no coinciden en foco los rayos azules (que son químicamente los más actínicos) con los rayos más luminosos (rojo, amarillo y verde); así es que al examinar la placa revelada, no se encuentran en ella los detalles de la imagen proyectada en el cristal esmerilado (el foco químico se halla delante del óptico). 2.º Los objetivos comunes están corregidos para dar el máximo de detalle en proyección a corta distancia, poco más o menos al nivel del diafragma del ocular; por tanto, toda proyección a 40 ó 50 cm. es ópticamente mala.

En vista de estos inconvenientes, que hacían casi imposible la fotografía a grandes aumentos, se han construido por diversas casas (Leitz, Zeiss, Reichert, etc.), objetivos especiales destinados a la microfotografía y caracterizados por la total ausencia de diferencia focal. Son estos apocromáticos, que, como ya expusimos más atrás, dan imágenes donde coinciden focalmente los rayos violados, verdes y rojos. Estos objetivos deben usarse con los oculares de proyección, lentes expresamente construídas para dar excelentes proyecciones, a largas distancias, de la imagen microscópica.

Luz y concentrador luminoso. — Si se quiere fotografiar a cortos aumentos (de 50 a 300 diámetros), nos bastará como fuente luminosa un buen mechero de petróleo o de gas (el de Auer, por ejemplo). La lámpara de Graetzin con mechero invertido, será igualmente muy útil. Pero el empleo de objetivos de inmersión homogénea y las proyecciones a larga distancia exigen el uso de la luz eléctrica u oxhídrica, y, mejor que todas, la solar. La casa de Zeiss ha puesto a la venta diversas lámparas de filamento incandescente (lámparas Nernst), muy cómodas y útiles cuando se emplean solamente medianos aumentos.

En todo caso, debajo de la platina del microscopio se instalará un concentrador acromático, (fig. 44), destinado a proyectar, en el espesor mismo de la preparación, una imagen muy pura del foco luminoso (disco solar, llama del mechero, etcétera). La luz de esta imagen es la que sirve para iluminar

el preparado y dar una limpia proyección de sus detalles. Se-
mejante requisito, ya mencionado por Moitessier, y sobre el
que insisten Koch, Van Heurk, Zeiss, Neuhaus, Pfeiffer y
Fränkel, etc., es absolutamente preciso para el logro de bue-
nos clichés de bacterias y de texturas celulares.

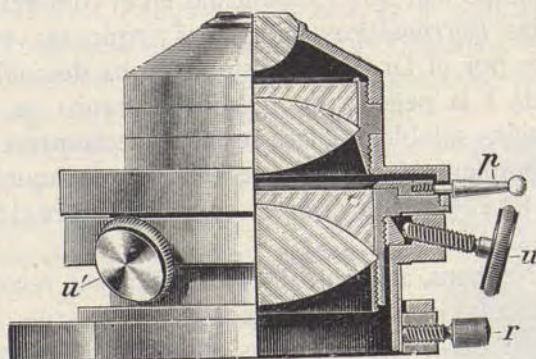


Fig. 44. — Concentrador acromático de Zeiss, apropiado para la microfotografía,
con los objetivos de inmersión homogénea.

Con los objetivos apocromáticos y oculares de proyección
no es absolutamente precisa la luz monocromática; no obstan-
te, algunos microfotógrafos la juzgan útil, a fin de aumentar
el poder de resolución del microscopio. Se obtiene esta luz
haciendo pasar los rayos luminosos, antes de su entrada en el
concentrador, por una cuba vertical de vidrio llena de una
solución colorante, que puede ser el sulfato de cobre amonia-
cal (color azul), o el filtro de Zettnow (14 de solución de ácido
crómico, 160 de nitrato de cobre y 250 de agua), que da un
color verde muy intenso. Ciertos autores, Orueta entre ellos,
prefieren el espectro prismático, lo que exige una disposición
especial del aparato iluminador.

Dicho se está que la luz solar, usada en exposiciones que no
sean instantáneas, como son las que se obtienen con los rayos
filtrados por soluciones coloreadas, debe manejarse con un
heliostato, por ejemplo, el de Prazmowski, que siendo uno

de los mejores, es al mismo tiempo uno de los más económicos.

Placas fotográficas. — Convienen las más sensibles, pues permiten exposiciones relativamente cortas, aun con la luz de petróleo. Las placas Lumière o las de Jougla, rapidez mediana, marca azul, son excelentes a este objeto.

Hace tiempo han sido introducidas en el comercio las placas llamadas *isocromáticas*, fabricadas según los principios establecidos por el Dr. Vogel. Este sabio ha descubierto que si se mezcla a la película de gelatino-bromuro de plata un color de anilina soluble, la placa resulta especialmente sensible al color complementario, aunque éste sea de aquellos que, como el rojo, el amarillo y verde, no actúan sobre el bromuro de plata ordinario.

El Dr. Neuhaus, así como Pfeiffer y Fränkel, recomiendan especialmente las placas sensibilizadas para el verde, mediante una solución de *eritrosina*; estas placas son indispensables cuando se utiliza el filtro de Zettnow. Actualmente existen en el mercado *placas pancromáticas*, es decir, preparadas de suerte que son sensibles a todos los colores. También las placas autocromas de Lumière dan resultados excelentes (1). Con ellas cabe reproducir el color natural de los cortes histológicos.

Los filtros coloreados, así como las placas pan o isocromáticas, aprovechan especialmente cuando se trabaja con objetivos ordinarios provistos de foco químico. Se comprende que, en tales condiciones, las imágenes deben ser bastante puras, dado que están formadas de una sola especie de ondulación; por tanto, la imagen química y la óptica son una misma cosa. Dejamos dicho que empleando los objetivos apocromáticos, los citados filtros mejoran también la imagen; pero en tal caso, la principal ventaja buscada consiste en hacer destacar suficientemente del fondo los objetos coloreados de las preparaciones microscópicas. A este propósito aconséjase siempre

(1) Quien desee conocer detalladamente la fotografía en color puede consultar, entre otros libros modernos, el nuestro titulado *La Fotografía de los colores. Fundamentos científicos y reglas prácticas*. Madrid. 1912.

usar una cuba o cristal cuyo color sea complementario del de las partes teñidas del preparado (núcleos, microbios, etc.).

Modus operandi. — Comienza por disponerse la luz, la cuba vertical con el líquido coloreado (si hubiese lugar a ello) y el concentrador Abbe, el cual se colocará de suerte que proyecte, en el mismo espesor de la preparación, una imagen correcta del foco luminoso. Póngase, a seguida, en la platina la preparación microscópica, que debe ser muy delgada y estar teñida con colores poco fotogénicos (rosa, amarillo, verde, pardo, etc.); luego se examina esta última con el objetivo microfotográfico y el ocular de proyección, a fin de elegir la zona reproducible, fijada la cual no hay más que inclinar el tubo del microscopio y enchufarlo en el agujero de la cámara oscura. A beneficio de una lente (fig. 45), se observará si en el cristal raspado se dibuja la imagen con la debida corrección; se sustituirá dicho cristal con el chasis portador de la placa; se expondrá desde algunos segundos a algunos minutos (en relación con la sensibilidad de las placas, potencia del foco luminoso, ángulo de abertura del objetivo, distancia de proyección, etc.), y se procederá a la revelación y fijado de la negativa.

Consúltense para la revelación, fijado, refuerzo, tirada de positivas, etc., los tratados de Fotografía corriente, tales como el de Londe, Dillaye y Burton, Neuhaus, Davaine, Namias, etcétera (1).



Fig. 45. — Lente para examinar la imagen en el cristal deslustrado.

(1) Los que deseen conocer a fondo la microfotografía, deben consultar los siguientes modernos trabajos:

Neuhaus: *Lehrbuch der Mikrophotographie*. Braunschweig., 1890. (El mejor tratado que se conoce.)

Pringle: *Practical photomicrographie*. New-York, 1890.

Zeiss (R): *Special Catalog über Apparate für Mikrophotographie*. Jena, 1888. (Se contienen indicaciones detalladas acerca del empleo de los aparatos Zeiss y microfotografía general.)

Carl Fränkel u. Richard Pfeiffer: *Mikrophotographisches Atlas der Bakterienkunde*.

Microfotografías con luz ultraviolada. — Dejamos apuntado más atrás, al tratar del poder resolutivo de los objetivos, que este poder se acrecienta usando luz monocromática de onda breve (onda azul o violada); pero esta luz, que impresiona enérgicamente la placa fotográfica, actúa débilmente sobre nuestra retina, incapaz, por consiguiente, de percibir la imagen proyectada sobre el cristal raspado.

Al propósito de soslayar este inconveniente y de aprovechar la positiva ganancia de capacidad resolutiva de las citadas ondas breves, responde el aparato microfotográfico de Köhler, fabricado por Zeiss. De él ha dado una buena descripción Orueta (1).

Consta este aparato, como de ordinario, de concentrador, objetivos, oculares, lámpara, etc., pero con las siguientes modificaciones esenciales.

La luz es eléctrica y se obtiene por chispas brotadas entre dos electrodos de cadmio o magnesio. Estas chispas son alimentadas por una botella de Leyden, a su vez cargada mediante poderosa bobina de inducción.

Como los objetivos ordinarios son casi opacos para la luz ultraviolada y poco transparentes para la violada, se usan objetivos llamados *monocromáticos*, de cuarzo fundido, substancia que deja pasar muy bien los rayos cuya longitud de onda es de 0,275 μ . También se fabrican de cuarzo los porta y cubreobjetos, los oculares y el concentrador luminoso.

Naturalmente, los objetivos carecen de corrección cromática, y su corrección esférica se ha hecho para las ondas ultravioladas. A igualdad de apertura numérica, estos objetivos

Berlín, 1892. (Este Atlas está precedido de un excelente estudio sobre microfotografía general.)

Henri van Heurck: *Le microscope*, &, 4.^a edit., 1891. (Contiene un buen capítulo sobre microfotografía.)

Se consultarán también con provecho las obras más antiguas de Moltessier, Stein, Gerlach, Benecke, etc., y entre nosotros, los instructivos artículos de Orueta.

Para quien desee practicar la microfotografía estereoscópica y la tricromía aplicada a este objeto, será acaso de provecho nuestro folleto «Microfotografía estereoscópica y biplanar». *Trab. del Lab. de Invest. biológicas*, tomo XVI, 1918.

(1) D. de Orueta: «La luz ultravioleta y sus aplicaciones en microscopía, etc.», *Revista de la Academia de Ciencias Físicas y Naturales, de Madrid*, tomo XL, núm. 10, 1913.

poseen una capacidad resolutive doble que los ordinarios. Así, el *objetivo monocromático ap. núm. 1,25* equivale a un objetivo teórico (actualmente imposible) de 2,5. El líquido de inmersión es el agua, mezclada con cierta cantidad de glicerina.

Puesto que la luz emitida por los electrodos de cadmio o de magnesio (longitud de $0,275\mu$) es imperceptible en el cristal raspado, se hace preciso, para enfocar, el empleo de un *buscador*, que consiste en una placa fluorescente que vuelve visible la imagen proyectada. El examen de esta imagen se hace con una lente.

El aparato de Kohler da microfotografías sumamente finas y ricas en detalles invisibles a la observación común. Ello depende, no sólo de la superior capacidad resolutive, sino de que muchas sustancias diáfanos a la luz blanca lo son poco o nada a la onda violada o ultraviolada.

El aparato de Kohler ha sido usado con buen resultado por Tello (1) para la demostración de muchos detalles estructurales del núcleo y protoplasma de las células nerviosas. Las imágenes obtenidas de preparaciones frescas o simplemente fijadas en formol recuerdan las conseguidas por la microfotografía ordinaria en cortes previamente teñidos. Esto consiste en que ciertas partes (grupos de Nissl, nucleolo., etc.), son opacas para la longitud de onda de $0,300$ a $0,400\mu$.

MICRÓMETROS

Dos problemas debe resolver a menudo el micrógrafo: 1.º, la determinación del aumento del microscopio; 2.º, la averiguación del tamaño real de un elemento microscópico.

Determinación del poder amplificante del microscopio. Todos los fabricantes acompañan sus microscopios de una tabla donde figuran los aumentos obtenidos con tal combinación de ocular y objetivo; pero como no siempre esta determinación es exacta, ni aun siéndolo es valedera para todas las lon-

(1) F. Tello: «Algunas observaciones histológicas con los rayos ultravioleta». *Trab. del Lab. de Invest. bio.*, 1911.

gitudes del tubo del microscopio, conviene que el micrógrafo conozca los medios de averiguar por sí mismo el poder amplificante del microscopio. En rigor, pudiera utilizarse el método matemático (ya expuesto anteriormente al tratar de la fórmula del microscopio compuesto), pero es mucho más sencillo y breve el método experimental.

Este método exige el empleo: de un pequeño instrumento llamado *micrómetro objetivo*, de la *cámara clara* y de una *regla dividida en milímetros*.

El micrómetro objetivo es un disco de cristal que lleva grabadas con diamante rayas cuyos intervalos, de antemano determinados por el constructor, valen una centésima de milímetro. Este disco está fijo sobre un portaobjetos metálico, en uno de cuyos lados se lee el valor de las divisiones.

He aquí cómo se procede a la determinación de la ampliación del microscopio: se comienza por enfocar, como si fuera una preparación, el micrómetro objetivo, de modo que las rayas aparezcan netamente; luego se monta la cámara clara sobre el ocular; y en la mesa, pero a la distancia de la visión distinta (25 ó 30 cm.), se coloca una regla dividida en milímetros. En estas condiciones, nada más fácil que ver a un tiempo, a beneficio de la cámara clara, las rayas de la regla y las del micrómetro. Suponiendo que cada intervalo de las divisiones del micrómetro valga una centésima, y que, aumentado por el microscopio, se haya hecho tan grande que ocupe tres divisiones de la regla, la ampliación será de 300 veces, puesto que una centésima ocupa la extensión de 3 mm.

Determinación del tamaño de un objeto microscópico.

Para resolver este problema es preciso aplicar, además del micrómetro objetivo, otro micrómetro que, por situarse en el ocular del microscopio, toma el nombre de *micrómetro ocular*. Éste consiste en una rodaja de cristal con divisiones cuyo valor suele ser de una décima de milímetro, aunque, en realidad, podría ser cualquiera. Colócase dicho disco encima del diafragma del ocular, de modo que las rayas estén enfocadas con la lente superior. Todas las casas proporcionan un ocular llamado micrométrico, que ya está provisto del disco.

La determinación de la dimensión de un objeto exige dos operaciones: 1.^a, averiguar el valor de las rayas del micrómetro ocular por comparación con las del objetivo; 2.^a, sustituido el micrómetro objetivo por la preparación, cotejar el objeto mensurable con las divisiones del micrómetro ocular.

Para efectuar la primera operación no hay más que examinar el micrómetro objetivo a través del ocular micrométrico; con un poco de atención se notará en seguida cuántas rayas del micrómetro ocular igualan una o varias del micrómetro objetivo. Supongamos que una división del micrómetro objetivo es aumentada de tal suerte que abarca dos rayas del ocular micrométrico; puesto que conocemos el valor real de las líneas de aquél (una centésima), deduciremos que, para tal combinación de ocular y objetivo, cada raya del micrómetro ocular vale media centésima, o sean 5 milésimas.

Hecha esta determinación pasamos a la operación segunda, que consiste en sustituir el micrómetro objetivo por una preparación, manteniendo en su lugar el ocular micrométrico. Demos ahora por sentado que una de las células cuya talla deseamos medir llena dos divisiones del micrómetro ocular; valiendo cada una de éstas (según determinamos anteriormente) 5 milésimas, resulta que el corpúsculo en cuestión posee un diámetro de 10 milésimas.

Por lo expuesto se ve claramente que el micrómetro ocular desempeña aquí el oficio de un término de comparación intermediario (cuyo valor se fija mediante el micrómetro objetivo), pero indispensable, por ser imposible medir directamente el objeto microscópico con el micrómetro objetivo.

No hay necesidad de valorar a cada momento las divisiones del micrómetro ocular con las del objetivo; bastará que esta operación se haya efectuado una sola vez para cada combinación de objetivo y ocular, conservando las cifras halladas y anotando la longitud del tubo. De este modo el micrómetro ocular será sólo utilizado.

Algunos constructores de microscopios nos ahorran hasta la previa operación antes citada, puesto que entregan, con sus modelos de microscopio, una tabla donde figuran los valores

que para cada combinación de objetivo y ocular micrométrico tienen las rayas del micrómetro ocular.

Existen otros micrómetros más complicados, tales como el micrómetro objetivo de tornillo de Schieck y el micrómetro ocular de tornillo; pero la descripción de estos aparatos, por otra parte innecesarios, traspasaría los límites en que deseamos encerrarnos.

APARATO NUMERADOR DE GLÓBULOS

El más sencillo de los instrumentos utilizados para contar el número de corpúsculos suspendidos en un líquido es el llamado *hematímetro de Hayem*, adoptado también por Thoma en Alemania (fig. 46).

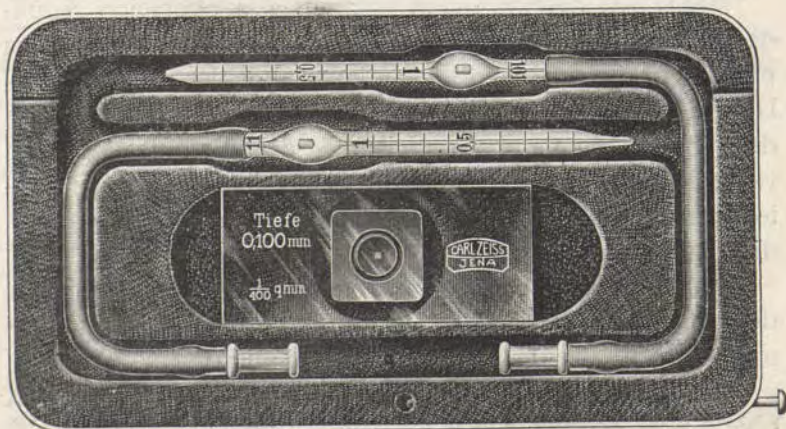


Fig. 46. — Aparato numerador de los glóbulos, según Thoma, puesto en su estuche. Consta de una célula portaobjetos, calibrada, y de dos mezcladores, uno para diluciones al 1 por 10 y el otro para diluciones al 1 por 100.

Se trata de un portaobjetos de cristal (*O*), una de cuyas caras ofrece una excavación de un décimo de milímetro de profundidad. Esta cavidad se cubre con una laminilla plana, con lo que queda circunscrito un espacio o célula de un décimo de milímetro de espesor (fig. 47, *B*). En el fondo hállase grabado un retículo formado por el encuentro de líneas per-

pendiculares equidistantes, 20 en cada dirección, de modo que la superficie total del retículo de un milímetro cuadrado resulta dividida en 400 cuadraditos (fig. 48).

Para utilizar el hematímetro se comienza por diluir la sangre al 1 por 100 con un suero artificial o solución salina inofensiva; se llena la célula con la mezcla sanguínea, y cubierta por la laminilla, se lleva el hematímetro al microscopio.

Los hematíes, por virtud de su peso específico, no tardan en caer en el suelo de la célula, donde podrán enfocarse al mismo tiempo que las rayas de la cuadrícula. Contando los hematíes contenidos en 200 cuadraditos por grupos de 20, tendremos los contenidos en medio milímetro cuadrado: multiplicando ahora por 2 (relación de la superficie contada al milímetro), por 10 (relación de la altura de la célula al milímetro) y por 100 (título de la dilución), tendremos la cifra por milímetro cúbico.

En el antiguo modelo de Hayem no existían cuadrículas rayadas en la pared inferior de la célula; y para saber que los hematíes se contaban en un cuadro de un quinto de milímetro, se utilizaba un micrómetro ocular cuadrulado, a cuyos espacios se daba, por comparación con un micrómetro objetivo, el valor de un quinto de milímetro.

La mezcla de sangre se efectúa en una pequeña probeta calibrada. Cuando la cantidad destinada al examen es mínima, hay que aprovechar el mezclador Potain; es decir, un tu-

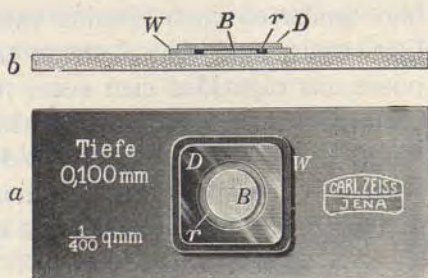


Fig. 47. — Detalles de la célula calibrada. *a*, vista de frente; *b*, vista en sección.

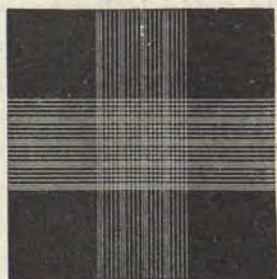


Fig. 48. — Reticulo de la cámara de Thoma para el recuento de glóbulos.

bito capilar en cuyo término existe una ampolla (fig. 49, *E*). Este capilar está de tal suerte calibrado que la ampolla (*E*) posee una capacidad cien veces mayor que el tubito fino yacente por debajo (*S*). Para usarlo, se llena primeramente de sangre el trayecto capilar; luego se aspira suero artificial hasta rellenar la ampolla; se agita la mezcla resultante del líquido, y se sopla sobre la célula calibrada una gota.

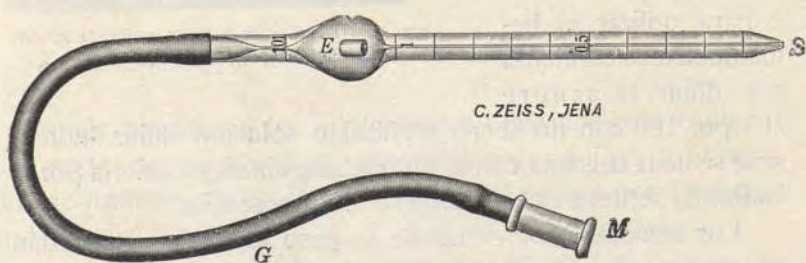


Fig. 49. — Detalles del capilar mezclador. — *S*, punta por donde se absorbe el líquido; *E*, cámara donde se hace la mezcla de sangre y líquido indiferente.

APARATO DE POLARIZACIÓN

El aparato de polarización consta de dos piezas separadas: el *analizador*, que se monta sobre el ocular, y el *polarizador*, que se fija debajo de la platina, en el paraje donde se colocan los diafragmas del concentrador. Tanto el *polarizador* como el *analizador* encierran un prisma de Nicol, o sea un paralelepípedo de espato de Islandia, seccionado según la línea que junta los ángulos obtusos, y cuyas mitades se han reunido en su posición natural con bálsamo del Canadá. Como es bien sabido, el espato de Islandia es birrefringente, o, en otros términos, goza de la propiedad de producir dos imágenes de un solo objeto iluminado. Siempre que un rayo penetra en el espato oblicuamente con relación a la sección principal (plano que contiene el eje o línea que une los vértices de los ángulos obtusos del cristal), prodúcense dos rayos refractados: uno llamado *ordinario*, que se desvía fuertemente; otro calificado de *extraordinario*, que se inclina mucho menos. El primero

emerge vibrando en todos sentidos; el extraordinario sale *polarizado*; es decir, vibrando solamente en un plano paralelo a la sección principal.

El prisma de Nicol realiza una ingeniosa disposición cuyo objeto es excluir el rayo ordinario y dejar paso franco al extraordinario o polarizado.

En efecto, merced a la capa de bálamo separatoria de las dos mitades de cristal, el rayo ordinario, que llega al medio resinoso con un ángulo mayor de 69° (ángulo límite entre el espato y bálamo), sufre la reflexión total, siendo absorbido por la armadura metálica ennegrecida; mientras el extraordinario, que alcanza el bálamo bajo una inclinación menor que el ángulo límite, pasa a lo largo de todo el prisma de Nicol, pudiendo aisladamente aprovecharse para la iluminación del microscopio (fig. 50).

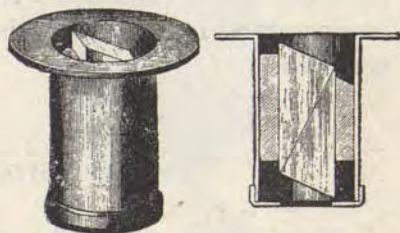


Fig. 50. — Polarizador. La figura de la derecha representa un corte vertical del aparato y muestra el prisma de Nicol; la figura de la izquierda representa el Nicol en su montura.

Colocados el analizador y el polarizador en sus sitios respectivos, y haciendo girar el primero de modo que los planos de polarización de ambos Nicols sean paralelos, el observador verá el campo iluminado como de ordinario; mas si se mueve el analizador hasta que los planos de polarización se crucen en ángulo de 90° , el campo se torna completamente oscuro. Esta es la posición en que el aparato se utiliza para la averiguación de si un objeto microscópico es monorrefringente (*isótropo*) o birrefringente (*anisótropo*). Si dicho objeto es monorrefringente, el campo permanece oscuro; pero si es birrefringente, la luz se restablece. Ciertas partes aparecen coloreadas con vivos matices. Situando encima del polarizador delgadas láminas de mica, se acrecienta la sensibilidad del aparato.

En histología puede prestar buenos servicios el aparato de polarización, ayudando a reconocer la existencia de substancias birrefringentes en el seno de ciertos tejidos. Tal sucede, por

ejemplo, con la fibra muscular estriada, cuyas bandas oscuras y líneas de Krause aparecen construídas de una materia *anisótropa*; con las tonofibrillas del epitelio legumentario, las fibras colagenas, las láminas del tejido óseo, la mielina de los tubos nerviosos y los lipoides en general, etc.

Pero las aplicaciones más importantes del aparato de polarización se refieren al análisis de las rocas, al reconocimiento de cristales microscópicos, al de los productos orgánicos patológicos, etc. Todos los cristales del sistema cúbico son monorrefringentes, y birrefringentes los del sistema romboédrico.

MICROESPECTROSCOPIO

El modelo que más se emplea es el de Sorby, modificado por Zeiss. Consta de dos partes: una inferior, que no es más que un ocular, entre cuyas dos lentes (del campo y ocular propiamente dicha), existe una rendija de labios aproximables a favor de un tornillo exterior; otra superior, que contiene una combinación de prismas de visión derecha, destinadas a descomponer la luz llegada del microscopio a través de la hendidura susodicha (figuras 51 y 52).

Como es muy conveniente comparar entre sí dos espectros, el de la preparación con el de una substancia cualquiera, la mitad de la rendija citada lleva debajo un pequeño prisma de reflexión total que, al paso que interrumpe una parte del pincel luminoso emanado del microscopio, da acceso a un rayo lateral insinuado a través de una abertura parietal del instrumento. De esta manera, el ojo del observador contempla juntos dos espectros: el de la preparación, más el de la luz extraña al microscopio, tamizada o no, según convenga, por alguna substancia coloreada cuyas propiedades espectroscópicas se desean confrontar.

Cuando se quiere observar el espectro de algún elemento microscópico, se comienza por disminuir la rendija hasta tocar los contornos aparentes del objeto. El espectro se extiende

perpendicularmente al segmento de la hendidura ocupada por los corpúsculos coloreados.

Zeiss añade al espectroscopio de Sorby, como puede verse en la figura 51, *N*, un tubo lateral portador de una escala que,

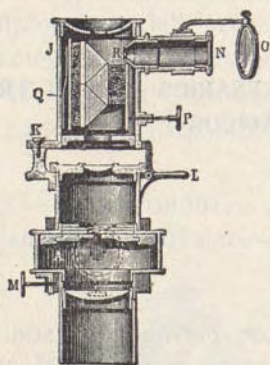


Fig. 51. — Sección del microespectroscopio para mostrar sus órganos principales.

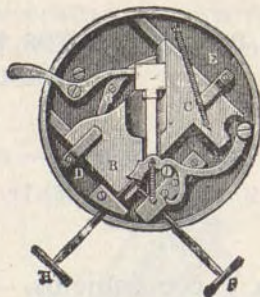


Fig. 52. — Detalles del mecanismo destinado a estrechar la rendija por donde llega la luz del microscopio.

a beneficio de un sistema de lentes, es proyectada sobre el espectro. Esta escala da las longitudes de onda (en fracción de micromilésima) de cada color espectral, y sirve para fijar la posición de las bandas de absorción engendradas por las sustancias u objetos examinados.

CAPÍTULO III

OBJETOS E INSTRUMENTOS NECESARIOS EN LOS TRABAJOS MICROGRÁFICOS

PORTA Y CUBREOBJETOS. — LUZ. — MICROTOMOS. — CÁMARAS
HÚMEDAS Y CALIENTES. — OBJETOS DE PRUEBA

Porta y cubreobjetos. — Los *portaobjetos* son láminas de cristal de 75 milímetros de largo por unos 25 de ancho, cortadas de un cristal exento de estrías y burbujas, que sirven para el montaje de las preparaciones microscópicas.

Los *cubreobjetos*, llamados también *laminillas*, son unos cristales delgadísimos, de un diámetro variable entre 15 y 30 centésimas de milímetro, destinados a cubrir las preparaciones microscópicas, a fin de hacerlas planas y protegerlas de los cuerpos extraños.

Se comprende bien que el tamaño y delgadez de los porta y cubreobjetos deban ser muy variables, para adaptarse a las distintas dimensiones de los preparados.

Luz para la iluminación del microscopio. — La mejor es la dimanada de las nubes blancas o de una pared clara iluminada por el sol. Serán muy provechosas también, sobre todo cuando se trabaja con fuertes aumentos, la llama blanca de una lámpara de petróleo (mecha cilíndrica y ancha) o la brillante luz del gas que arde en el mechero Grätzin, el cual posee una rejilla invertida de diversos óxidos metálicos que la llama pone incandescentes. Una buena luz es la lámpara eléctrica de incandescencia, rodeada de cristal esmerilado. Para el uso de los objetivos de inmersión se emplearán lámparas de 16 a 25 bujías.

Las lámparas fabricadas *ad hoc*, como las de Swif, Collins, Vigheley y la reciente de Koch-Wolz, son, a nuestro juicio, muy inferiores a una buena bombilla de incandescencia. En estos últimos años, la casa Zeiss ha propuesto el empleo de varias lámparas del tipo Nernst, singularmente apropiadas para el examen a grandes aumentos. Muy útil y cómodo resulta, por ejemplo, el modelo pequeño o *microlámpara Nernst* (figura 53) protegida por un casquete opaco y provista de un pequeño concentrador. También la casa Leitz tiene lámparas especiales para el microscopio.

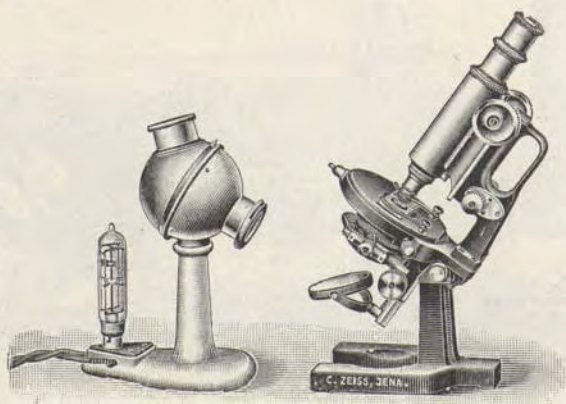


Fig. 53. — Pequeña lámpara de tipo Nernst (microlámpara) destinada al examen de las preparaciones microscópicas.

La iluminación de fondo oscuro exige el empleo del concentrador paraboloide (fig. 20) y una lámpara de arco de pequeñas dimensiones reglable a mano, como la reproducida en la figura 54. A fin de evitar que la preparación se caliente demasiado, delante del espejo se instala una cuba de agua.

Microtomos. — El examen microscópico de los tejidos supone, como condición indispensable, la transparencia de las preparaciones, la cual sólo puede lograrse de una de dos maneras: o disociando el tejido en sus elementos componentes, o reduciéndolo a cortes sumamente delgados.

El cumplimiento de esta última condición es difícil empeño

cuando se corte a mano libre, porque las secciones son desiguales, pequeñas y casi nunca inferiores a cinco centésimas de milímetro de espesor. De aquí la necesidad de ciertos aparatos, llamados microtomos, cuyo oficio es la ejecución casi automática de cortes finos, extensos y regulares de un órgano o tejido.

Numerosísimos son en la actualidad los modelos de microtomos empleados en los laboratorios. A pesar de la diversidad de principios en que su construcción se funda, pueden estos

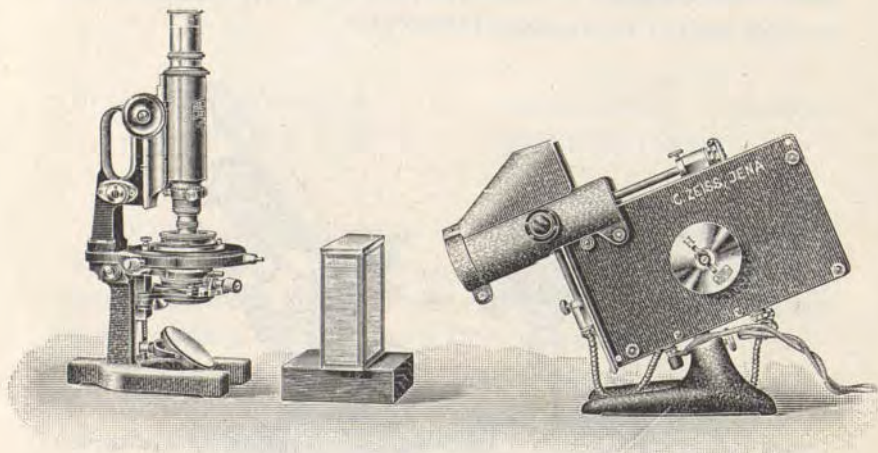


Fig. 54. — Disposición de la lámpara y del microscopio para la iluminación de fondo oscuro. La lámpara designada *Liliput*, ofrece los carbones inclinados en ángulo recto, lo que permite aprovechar mejor la potencia luminosa.

instrumentos clasificarse, considerando el mecanismo en virtud del cual impulsan el objeto seccionable, en dos grupos: *microtomos de tornillo* y *microtomos de deslizamiento*.

Microtomos de tornillo. — El más sencillo de los microtomos de esta especie es el llamado de Ranvier. Consiste en un tubo coronado en un extremo por una plataforma; en el otro hay una tuerca donde se mueve un tornillo micrométrico vertical. El movimiento del tornillo empuja la pieza seccionable, que se fija dentro del cilindro mediante un relleno de pedazos de médula de saúco. La navaja se desliza de plano sobre la plataforma, cortando la parte que sobresale del objeto.

Este microtomo está hoy casi del todo abandonado. Ciertos fabricantes han perfeccionado este aparato, añadiéndole un pie y un tornillo micrométrico con rueda graduada para apreciar el espesor de los cortes.

Los microtomos de tornillo empleados actualmente son aparatos más complicados, donde el movimiento de la navaja y el ascenso del objeto se operan con gran regularidad y precisión. El tipo de estos microtomos perfeccionado está representado por el *aparato de Reichert* (fig. 55), a cuyo modelo pueden referirse, con variantes poco importantes, los microto-

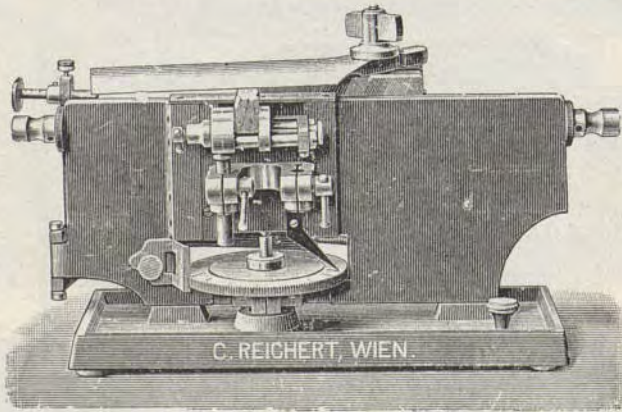


Fig. 55. — Microtomo automático de Reichert. (Pequeño modelo.)

mos de Rivet, el de Schanze, etc. En el microtomo de Reichert la navaja, sujeta a un bloque de metal, resbala horizontalmente por un plano inclinado situado en la cara no visible de la figura. En la superficie opuesta de la lámina vertical se halla una pinza que mantiene el objeto seccionable, y una pieza aplanada y vertical susceptible de resbalar de arriba a abajo y a la cual se fija la pinza portaobjeto. Finalmente, cerca del pie, se ve una rueda dentada continuada inferiormente con un tornillo micrométrico, cuyos movimientos hacen subir la pieza vertical y el portaobjetos. En esta rueda se han trazado divisiones cuyo valor, con relación al ascenso de la pieza seccionable, es de tres μ . Añadamos aún que el bloque portador de la navaja,

al deslizarse hacia adelante choca con una palanca angular articulada que, a su vez, engranando en la rueda, hace girar ésta y el tornillo micrométrico; de este modo con el mismo impulso impreso a la navaja se efectúa el corte y el ascenso de una nueva porción de la pieza seccionable. Recientemente, Reichert ha añadido un volante y una manivela, a fin de mover con más comodidad y regularidad el bloque portador de la navaja.



Fig. 56. — Microtomo de Schanze. (Modelo sencillo.)

Becke, de Gottinga, construye un microtomo de tornillo singularmente perfeccionado y propio para conseguir cortes de varios centímetros de extensión. El movimiento del bloque portador de la navaja es automático, realizándose mediante una rueda, asociada a un sistema de correas y palancas que hacen girar el tornillo micrométrico.

Microtomos por deslizamiento. — El tipo de estos microtomos es el de *Thoma-Jung*, que actualmente fabrican también,

con algunas variantes de construcción, Becke, de Gottinga; Leitz, de Vetzlar; Reichert, de Viena, y Verick, en París.

A la manera del modelo antes descrito, el microtomo de Thoma consta de un sólido cuadrilongo y lámina vertical, en una de cuyas caras se ve una resbaladera o carril para el bloque conductor de la navaja. Pero lo que da carácter a estos microtomos es el mecanismo de ascenso de la pinza portaob-

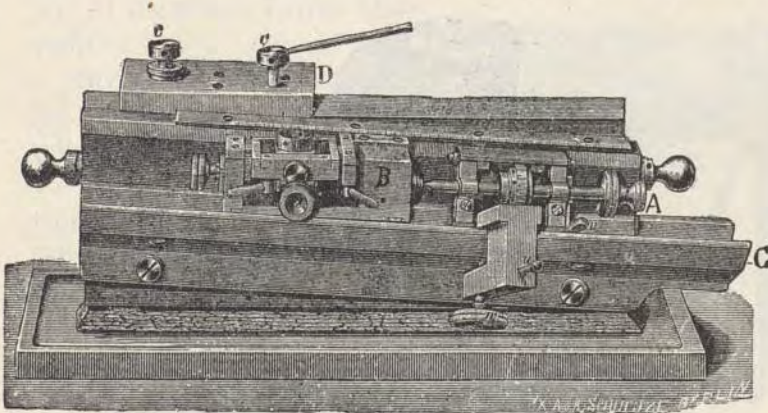


Fig. 57. — Microtomo por deslizamiento. Modelo Thoma-Jung. — A, tornillo micrométrico; B, bloque portador del portapiezas; C, plano inclinado; D, pieza sobre la que se fija la navaja.

jetos. En una de las caras del soporte vertical aparece una lámina metálica inclinada en dos sentidos; es decir, formando ángulo con la horizontal y con el soporte vertical citado. En este plano inclinado se mueven dos piezas: un bloque que mantiene una pinza portaobjetos capaz de toda suerte de movimientos, y una pieza pesada, susceptible de ser sujeta a la resbaladera, sobre la cual se desliza impulsada por un tornillo micrométrico horizontal. Como la pieza portaobjetos asciende al resbalar, la navaja puede cortar sucesivamente nuevas capas de la pieza seccionable. El tanto de ascenso del portaobjetos puede determinarse fácilmente consultando el tambor en que remata hacia atrás el tornillo micrométrico, tambor que, a favor de una combinación ingeniosa, permite dividir la vuelta en fracciones hasta de una μ .

Hay otros tipos microtomos que desvían algo de los anteriores; tales son: el *automático de Minot*, el *de palanca de la Sociedad de Cambridge* y otros varios. Estos microtomos, de alta precisión y perfectamente automáticos, se emplean exclusivamente para obtener series de cortes con las piezas englobadas en parafina.

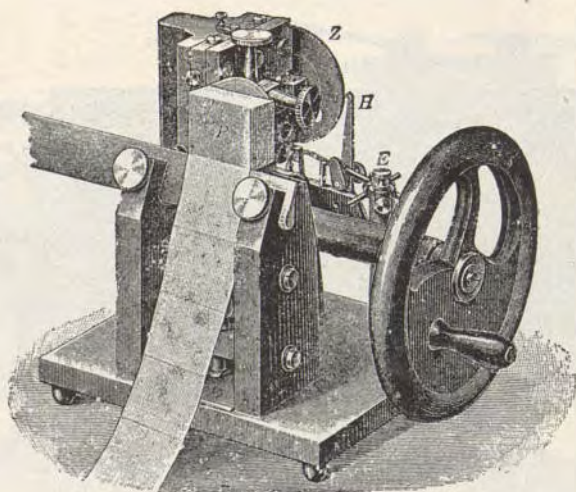


Fig. 58. — Microtomo automático de Minot para practicar secciones en parafina.
P, parafina; Z, rueda dentada unida al tornillo micrométrico.

El *Microtomo de Minot*, que es uno de los más sólidos y perfectos, no debe faltar en ningún buen laboratorio de micrografía (fig. 58). La navaja está fija, y el movimiento de vaivén, indispensable al portapiezas, así como la sucesiva impulsión de éste para ofrecer nuevas capas al filo, está reglado por un mecanismo muy semejante al de las máquinas de coser. Al bloque donde se sujeta la navaja puede fijarse una larga cinta de tela, donde se recoge la serie de cortes.

En fin, existen también microtomos de gran tamaño, propios para seccionar cerebros enteros. Su principio es el aplicado en el pequeño modelo de Ranvier; tal es, por ejemplo, el microtomo de Gudden, representado en la figura 59; semejante

es también el construído hace tiempo por Nageotte, aunque hace ventaja al precedente por el automatismo del movimiento del cuchillo. Análogo al de Nageotte, con algunos perfeccionamientos, es el modelo de Brodmann, propio para la sección de piezas voluminosas y especialmente usado en el *Laboratorio Neurobiológico*, de Berlín, dirigido por el Dr. O. Vogt. El mejor de todos es el gran modelo con motor eléctrico construído por el ingeniero Torres Quevedo.

Microtomo de congelación. —

En cualquiera de los microtomos citados puede realizarse la congelación de las piezas seccionables, con sólo trocar la pinza portapiezas ordinaria por una cajita especial, construída de madera y coronada por una plataforma de cinc. En esta plataforma se deposita el objeto destinado a la congelación. En dicha cajita, y con ayuda de un pulverizador, se hace penetrar un chorro de éter o, mejor, de cloruro de metilo, el cual, evaporándose casi instantáneamente, roba calor al objeto y determina su solidificación. Los cortes se recogen en agua alcoholizada o en solución de sal común; luego se fijan en alcohol fuerte y coloran convenientemente (fig. 60).

En estos últimos años se hace mucho uso de los microtomos de congelación, porque permiten obtener en pocas horas cortes finos de una pieza normal o patológica. La boga actual es debida, por un lado, a la comodidad del empleo del ácido carbónico líquido para la producción casi instantánea de bajísimas temperaturas, y de otro, al hecho bien comprobado de que los tejidos congelados no se alteran, si previamente fueron fijados en formol al 12 por 100. Diversas casas constructoras (Becke, Leitz, etc.) han imaginado modelos sencillos, económi-

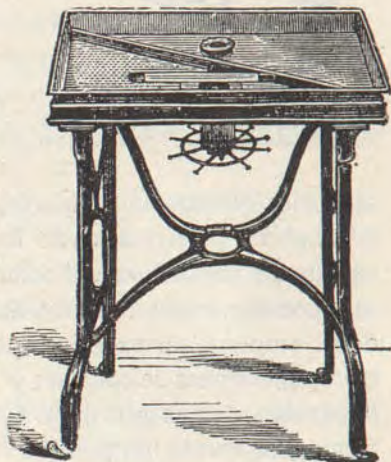


Fig. 59. — Microtomo de Grudden para sección de cerebros enteros.

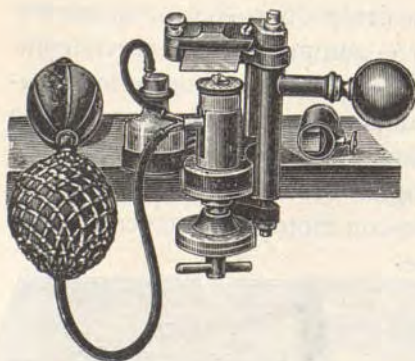


Fig. 60. — Microtomo de congelación con éter.

reservorios cilíndricos de hierro, de donde, mediante apropiada tubuladura y un juego de llaves, pasa instantáneamente a la cámara pulverizadora del microtomo. Congelaciones eficacísimas consíguense en menos de un minuto. La solidificación no debe, empero, ser excesiva, porque las piezas se tornan friables y los cortes se arrollan y rompen como las secciones de la parafina demasiado dura. Con un poco de práctica se atina fácilmente con la temperatura más favorable.

Advertencia sobre los microtomos. — 1.^a Cuando no se pueda comprar más que un microtomo, debe darse la preferencia a los universales; es decir, a los que sirven para cortar en parafina y celoidina (modelos de Thoma-Jung, Reichert, Leitz, Becke, etc).

2.^a En estos modelos tén-gase en cuenta que la dimensión de los cortes guarda relación con la longitud del microtomo; así, con mi-

cos, de microtomos de congelación, en los cuales la navaja, que gira en arco de círculo, ataca perpendicularmente la pieza. El usado por nosotros, y fabricado por Leitz, sujétase fácilmente al borde de una mesa. En cuanto al ácido carbónico líquido, hoy es común en el comercio, expendiéndose encerrado en grandes re-

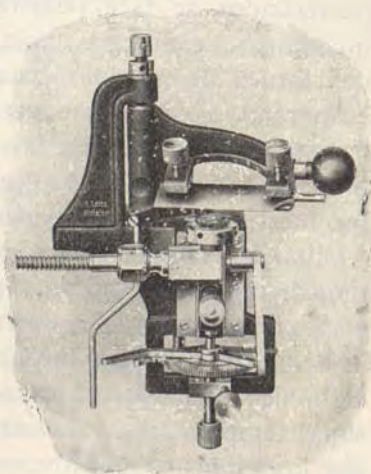


Fig. 61. — Microtomo de congelación por ácido carbónico, de Leitz.

crotomos cortos, donde la navaja no tiene campo de excursión, es imposible hacer secciones extensas (por ejemplo, de un globo ocular entero).

3.^a La pinza cortapiezas debe permitir toda clase de movimientos. La forma de pinza más aceptable es la llamada del *Laboratorio de Nápoles*, adaptada hoy por casi todos los constructores.

4.^a El éxito de la microtomía depende, en general, de dos condiciones: de un perfecto endurecimiento y encastramiento (en celoidina, parafina, etc.) de la pieza; y de que la navaja esté bien afilada, para lo cual el principiante deberá acostumbrarse a repasarla sobre la piedra fina y en la correa cuantas veces necesite usar el microtomo.

5.^a La navaja debe cortar todo lo oblicuamente posible, como serrando, aprovechando al efecto casi todo el filo del instrumento cuando se trata de piezas incluídas en celoidina. Las incluídas en parafina o congeladas se cortan en sentido normal.

6.^a El bloque conductor de la navaja, en los microtomos por deslizamiento, ha de ser pesado con relación a la misma, a fin de que no cabecee u oscile al imprimirle movimiento con la mano. He aquí por qué los pequeños modelos de microtomo son de difícil manejo.

Objetos de prueba. — Con el fin de poner de manifiesto las cualidades del microscopio, y especialmente su poder resolutivo, se han empleado objetos que exhiben finísimas estrías. Entre ellos deben contarse ciertas *diatómeas*, tales como la *Pleurosigma angulatum* y la *Amphipleura pellucida*, así como la placa de Nobert; es decir, un portaobjetos de cristal, sobre cuyo centro aparece adherido un cubreobjetos, en el cual se han trazado con diamantes finísimas líneas paralelas. Estas divisiones se disponen por grupos, de los que el último (grupo 19) contiene rayas tan finas que se necesitan 4.430 de ellas para llenar un milímetro.

Hace años, Abbe ideó otro objeto de prueba, propio para determinar hasta qué punto el objetivo se halla corregido de las aberraciones cromática y esférica y cuál es el espesor del

cubreobjetos que conviene para un objetivo y una longitud dada del tubo del microscopio. Consiste dicho aparatito en un portaobjetos donde, a favor del bálsamo del Canadá, se han fijado seis cubreobjetos de espesor diverso y azogados por su cara adherente. Sobre la superficie metálica han sido trazados con diamante seis bandas de líneas sumamente finas.

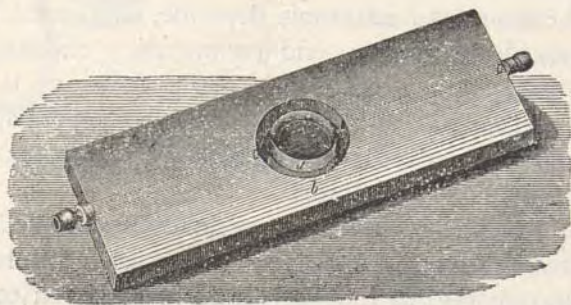


Fig. 62.— Cámara húmeda y para gases.

Otros instrumentos. — *Pinceles* para recoger los cortes de la cuchilla del microtomo; *paletas metálicas* para trasladarlos al portaobjetos; *pocillos* de porcelana o de cristal (como los usados por los acuarelistas) para tratar las secciones con diversos reactivos; *agujas para disociar* y también para trasegar los cortes de un pocillo a otro; *frascos cuentagotas* para lubricar la preparación, puestas en portaobjetos, con líquidos aclaradores; *tijeras, pinzas y escalpelos finos* de disección, etc., son enseres que no deben faltar nunca en la mesa del micrógrafo.

Cámaras húmedas. — Son aparatos consagrados a evitar la desecación de las preparaciones microscópicas, bien durante la observación, bien durante las diversas operaciones de fijado, teñido, etc., de los elementos anatómicos. Existen dos tipos de cámaras húmedas: la llamada *de portaobjetos* y la *de campana*.

Cámara húmeda portaobjetos. — No es otra cosa que una lámina de cristal en cuyo centro ha sido esculpido un surco circular. Su empleo es el siguiente: se pone en el surco una gota de agua y en el área rodeada por aquél la preparación

viva cuyos elementos deseamos estudiar; el todo se cubre con una laminilla que puede cementarse al portaobjetos. La evaporación del agua en la cámara de aire que circunda la preparación evita la desecación de ésta.

Si a la cámara de aire circular se hacen llegar dos tubitos destinados a conducir un gas cualquiera, tendremos la *cámara de gases* que hemos representado en la figura 62.

Cámara húmeda de campana.
Se emplea para mantener húmedos los preparados microscópicos ínterin dura su teñido. Consiste en un recipiente semilleno de agua, del que sobresale un apoyo de cristal donde se mantienen las preparaciones. El todo se encierra con una campana de vidrio, con lo que el aire interior se satura de humedad, impidiendo la desecación de los objetos.

Cámara húmeda de Strasburger. — Extremadamente simple, pues se reduce a un recorte anular de papel de filtro mojado y pegado al centro de un portaobjetos. En el hueco circuido por el papel se sitúa el preparado, y encima se adapta el cubreobjetos, que adhiere fácilmente al papel chupón.

Cámaras calientes. — Son aparatos del tipo de las incubadoras, cuyo fin es mantener la preparación, durante el examen micrográfico, a una temperatura de 37 a 40°. Estos aparatos son indispensables para la observación de las células vivas de los animales de sangre caliente, y se emplean asociados a la cámara húmeda portaobjetos.

Casi todos los modelos de cámara caliente se reducen a una caja metálica de paredes huecas, que se coloca en la plati-

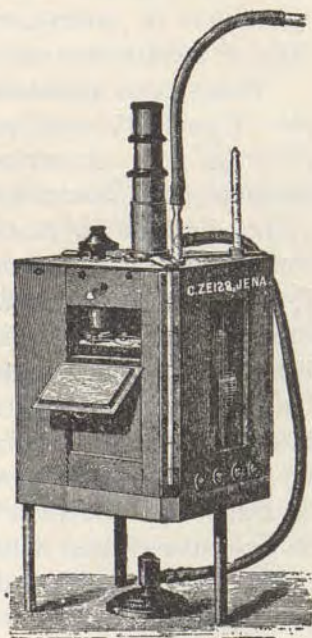


Fig. 63. — Cámara caliente de Pfeiffer.

na del microscopio, y por cuyo interior circula agua caliente. En las cámaras antiguas, como la de Ranvier, el agua sube a la cavidad parietal de la caja, desde un recipiente calentado con la lámpara de alcohol, pero en los nuevos aparatos el agua se calienta con mechero de gas, manteniéndose una temperatura de 39° con ayuda de un termo-regulador de mercurio o de membrana de caucho, exactamente lo mismo que en las estufas de incubación o de vegetación de microbios.

Todos estos aparatos tienen el inconveniente de que no se sabe a punto fijo cuál es la temperatura a que se halla la preparación; pues encontrándose ésta bañada por capas de aire continuamente renovadas, sufre grandes alternativas de calor y frío. Para obviar este defecto, Zeiss construye una cámara caliente que abarca la casi totalidad del microscopio (fig. 63). Este aparato, llamado *cámara Pfeiffer*, es una caja cúbica de madera, cuyo suelo, formado por una lámina metálica, se calienta directamente con un mechero de gas. El hueco está lleno de aire y aloja el microscopio y la preparación. Las paredes de la caja muestran varias aberturas: una delante, protegida por un cristal por donde penetra la luz, y dos laterales para que las manos del observador puedan manejar el preparado. En lo alto asoman el tubo del microscopio y el tornillo micrométrico. Un termo-regulador de mercurio mantiene la constancia de la temperatura.

El afán de hacer llegar bien íntimamente el calor al preparado, ha movido a Ranvier a sumergir directamente en agua el microscopio. Es difícil evitar que la acción del líquido estropee el instrumento; así, el procedimiento de Ranvier ha sido poco imitado.

B. — REACTIVOS

CAPÍTULO IV

En histología califican de *reactivos* todas las substancias capaces de imprimir en los tejidos modificaciones físicas o químicas, por cuya virtud pueda venirse en conocimiento de la estructura y relaciones de los elementos anatómicos.

La importancia de los reactivos histológicos se echa de ver considerando que no basta el microscopio para que el observador pueda apreciar la morfología y demás propiedades de las células. Existen tejidos, tales como el conectivo, el corneal, el nervioso, el endotelial, etc., cuyos elementos, ora por su total ausencia de color, ora por el escaso contraste de los índices de refracción de sus partes integrantes, preséntanse al micrografo bajo la máscara de una homogeneidad que oculta texturas complicadas, solamente denunciadas por la virtud reveladora de los reactivos colorantes.

Este singular poder revelador de los reactivos manifiéstase de una de las tres siguientes maneras: 1.^a, cambiando la relación de los índices de refracción entre células y substancias intercelulares; 2.^a, fijando en ciertas partes de los tejidos un color transparente o una substancia opaca que rechazan las demás; 3.^a, destruyendo determinadas materias para dar resalte a otras que se manifiestan refractarias. Por otra parte, en la imposibilidad de ver directamente con el microscopio la mayor parte de los tejidos, por su opacidad, es necesario reducirlos a cortes finos, y para ello se hacen indispensables operaciones previas de fijación e induración basadas en la coagulación y deshidratación preferente. Finalmente, otros reactivos evitan

que se alteren los objetos vivos o las preparaciones ya realizadas.

Clasificación de los reactivos. — Para clasificar los reactivos no debe adoptarse una base *puramente química*, ya que nada nos ilustraría tocante al modo de acción de los mismos; es mucho más ventajoso distribuir los reactivos atendiendo a la *modificación que engendran* en las tramas orgánicas, y por cuya virtud son útiles en las indagaciones citológicas e histológicas. Caso que un reactivo provoque dos o más acciones, se incluirá en el grupo correspondiente a su virtud predominante.

REACTIVOS, FIJADORES E INDURANTES

Los elementos formadores de los seres vivos son, en su mayor parte, materias que experimentan rapidísimas modificaciones con la muerte; para poderlos estudiar al microscopio es preciso someterlos a la acción de sustancias que detengan estas alteraciones o las reduzcan al mínimo. Esto se consigue de preferencia con reactivos que precipitan o coagulan las sustancias albuminóideas.

Al mismo tiempo, esta acción coagulante endurece los tejidos, dándoles una consistencia apropiada para que sean reducidos a finos cortes; a la acción indurante coadyuvan la sustracción del agua (acción del alcohol), y la formación, en presencia del reactivo, de compuestos sólidos cuya consistencia se añade a la del tejido.

Todas estas acciones que, por lo menos, modifican el estado físico de los principios inmediatos, llevan consigo cambios estructurales, no pudiéndose afirmar que lo visible en un tejido, después de la fijación, preexistía en el vivo; solamente la comparación de la imagen microscópica de los tejidos fijados, con la de los mismos tejidos vivos y la persistencia de las estructuras con fijadores variados, nos permitirán juzgar, en ocasiones, si estamos en presencia de estructuras preexistentes o de artefactos.

Los fijadores más corrientemente utilizados son: alcohol,

acetona, ácido crómico y sus sales, ácidos minerales, ácido acético, ácido pícrico, formol, ácido ósmico, bicloruro de mercurio, cloruro de platino, solos o mejor mezclados en distintas proporciones, para utilizar las ventajas de varios de ellos, corrigiendo en lo posible sus defectos y designándose frecuentemente cada mezcla con el nombre de su autor.

Alcohol. — Elíjase, al objeto de indurar, el alcohol absoluto o, por lo menos, de 40° (Cartier). Las piezas deben ser de pequeño tamaño, y permanecerán de dos a tres días en el líquido, el cual será abundante y se renovará dos o tres veces.

Acetona. — Se emplea pura, como el alcohol, indurando más rápidamente que éste. A las doce horas las piezas están suficientemente consistentes para poder ser seccionadas en el microtomo, sin inclusión previa. La acetona conserva íntegra las afinidades colorantes de las células.

Bicromato de potasa. — Las soluciones de bicromato de potasa al 3 ó 4 por 100, renovadas tres o cuatro veces durante un mes o dos, induran perfectamente los centros nerviosos. La induración se termina por inmersión de las piezas durante algunos días en alcohol fuerte.

Úsase mucho también el líquido de Müller y el de Erlicki:

Líquido de *Müller*:

| | |
|-------------------------------|-----|
| Agua destilada. | 100 |
| Bicromato de potasa | 2,5 |
| Sulfato de sosa. | 1 |

Líquido de *Erlicki*:

| | |
|-------------------------------|-----|
| Agua destilada. | 100 |
| Bicromato de potasa | 2,5 |
| Sulfato de cobre | 1,5 |

Formol. — Introducido en la técnica histológica por Blum, es universalmente empleado, porque fija bien, endurece suficientemente para cortar en la congelación y conserva las grasas y lipoides. El formol comercial o formalina es una disolución del gas al 40 por 100, de la que se parte para hacer las soluciones fijadoras, que varían entre 10 y 25 por 100. Con el tiempo se polimeriza, empobreciéndose, y siempre tiene más o menos ácido fórmico, que a veces conviene neutralizar con creta.

Acido ósmico al 1 por 100. — En este líquido deben permanecer las piezas, según su grosor, desde algunos minutos a varias horas. Los elementos más alterables, tales como los glóbulos sanguíneos y tubos nerviosos, conservan fielmente su forma una vez tratados en vivo por dicho reactivo.

Bicloruro de mercurio. — Se usa disuelto a saturación en agua des-

tilada o en una disolución de cloruro de sodio al 0,50 ó 0,75 por 100. Las piezas frescas se abandonan en el reactivo durante veinticuatro horas; después se lavan en mucha agua y se llevan al alcohol, al que se añade tintura de yodo hasta que tome color de vino de Oporto, o mejor 3 g. de yoduro potásico y 2 de yodo en 100 de alcohol de 90°. Esto tiene por objeto evitar los precipitados que forma el sublimado, y dura hasta que deja de decolorarse el yodo. Después, alcohol absoluto e inclusión.

En todas las mezclas fijadoras en que entre el sublimado deberá emplearse el alcohol yodado para quitar el exceso.

Este reactivo es también indurante. Fija bien las figuras kariokinéticas.

Si se desea preparar una solución de sublimado y evitar precipitados en las piezas, se usará el líquido siguiente:

| | |
|---------------------------|------|
| Sublimado | 7,5 |
| Cloruro de sodio. | 0,50 |
| Agua destilada | 200 |

Cloruro de platino. — Utilizado por Rabl al 1:300, es poco usado aisladamente.

Ácidos. — Tanto los minerales como el acético y otros orgánicos entran en gran número de mezclas fijadoras, pero aislados se utilizan cada vez menos.

MEZCLAS FIJADORAS

Alcohol acético.

Carnoy.

| | |
|---------------------------|-----------|
| Alcohol absoluto. | 6 partes. |
| Cloroformo | 3 » |
| Acido acético | 1 parte. |

Fijador rápido; según el espesor de las piezas, de media hora a veinticuatro. Después se transportan directamente al alcohol para la inclusión.

Alcohol formalina.

Schaffer.

| | |
|--------------------------------|-----------|
| Alcohol (80 por 100) | 2 partes. |
| Formalina. | 1 parte. |

Uno o dos días más. Después, alcohol 80 por 100 para conservar o para incluir.

Alcohol sublimado.*Apathy.*

| | |
|------------------------------|----------|
| Sublimado | 3 a 4 g. |
| Sal común | 0,5 » |
| Alcohol 50 por 100 | 100 cc. |

Doce a veinticuatro horas.

Schaudinn.

| | |
|--|-----------|
| Disolución acuosa concentrada de sublimado | 2 partes. |
| Alcohol absoluto | 1 parte. |

Fijación en caliente (60° a 70°).

Acetona-formalina (a partes iguales). — Es indurante y fijador poderoso. El endurecimiento, previo lavado para arrastrar el formol, se acaba en acetona pura o en alcohol.

Bicromato-formalina.*During.*

| | |
|-------------------------------|---------|
| Bicromato de potasa | 3 g. |
| Agua | 100 cc. |
| Formalina | 3 » |

Orth.

| | |
|-----------------------------|-----------|
| Líquido de Müller | 9 partes. |
| Formalina | 1 parte. |

Se mezclan al usarlas. Veinticuatro-cuarenta y ocho horas en la oscuridad. Lavado posterior de veinticuatro horas. Alcohol para incluir en la oscuridad.

Bicromato-sublimado.*Foa.*

| | |
|-----------------------------|---------|
| Líquido de Müller | 100 cc. |
| Sublimado | 2 g. |

Excelente fijador para los órganos hematopoiéticos.

Bicromato-sublimado-acético.*Zenker.*

| | |
|-----------------------------|---------|
| Líquido de Müller | 100 cc. |
| Sublimado | 5 g. |
| Ácido acético | 5 cc. |

El ácido acético se añade en el momento de usarla. Una-veinticuatro horas. Lavado, veinticuatro horas y alcohol yodado después.

Bicromato-sublimado-formol.*Helly.*

Como la fórmula anterior, sustituyendo el ácido acético por formalina, también en el momento de usarla.

Bicromato-formol-acético.*Held-Romeis.*

| | |
|---|--------|
| Disolución acuosa de bicromato al 3-5 por 100 . . . | 35 cc. |
| Formalina | 5 » |
| Ácido acético | 10 » |

La mezcla se hace en el momento de usarla. Después de la fijación se tienen las piezas en abundante cantidad de sulfato de litina o alumbre potásico al 5 por 100, para evitar el hinchamiento posterior del conectivo en el lavado de veinticuatro horas.

Regaud.

| | |
|---|---------|
| Bicromato potásico al 3 por 100 | 100 cc. |
| Ácido acético glacial | 5 » |
| Formalina | 20 » |

De uno a tres días. Después, bicromato potásico al 3 por 100, ocho o diez días. Lavado, veinticuatro horas e inclusión.

Bicromato-acético.*Tellyesniczky.*

| | |
|--|---------|
| Disolución acuosa de bicromato potásico al 3 por 100 | 100 cc. |
| Ácido acético | 5 » |

Se hace en el momento de usarla. Uno-dos días. Lavado, abundante. Alcoholes progresivos en la oscuridad.

Bicromato-ósmico.*Altmann.*

Mézclense a partes iguales disoluciones acuosas de ácido ósmico al 2 por 100, y de bicromato potásico al 5 por 100. Fijación, veinticuatro horas. Después, lavado abundante.

Golgi.

| | |
|--|------------|
| Bicromato de potasa al 3 por 100 | 20 partes. |
| Ácido ósmico al 1 por 100 | 6 » |

Fijación, de uno a tres días.

Ósmico-crómico-acético.*Flemming.*

| | Fuerte. | Floja. |
|--------------------------------------|------------|-------------------|
| Ácido crómico al 1 por 100 | 15 partes. | 25 partes. |
| » ósmico al 2 por 100 | 4 » | 5 » |
| » acético. | 1 » | Al 1 por 100 10 » |
| Agua destilada | — | 60 » |

Fijación de veinticuatro horas a varios días.

Fol.

| | |
|--------------------------------------|------------|
| Ácido crómico al 1 por 100 | 25 partes. |
| » ósmico al 1 por 100 | 1 » |
| » acético al 2 por 100 | 5 » |
| Agua destilada | 68 » |

Crómico-fórmico.*Rabl.*

| | |
|--------------------------------------|-----|
| Ácido crómico al 3 por 100 | 200 |
| » fórmico, concentrado | 5 |

Debe actuar sobre las partes cuyos núcleos deseamos impregnar de doce a veinticuatro horas. Antes de proceder a la coloración, para la que se preferirá hematoxilina o safranina, se lavarán por algunas horas las piezas en agua destilada y se indurarán en alcoholes de progresiva concentración.

Crómico-nítrico-alcohol.*Pereny.*

| | |
|--|--------|
| Ácido nítrico al 10 por 100 | 40 cc. |
| Alcohol absoluto. | 30 » |
| Ácido crómico al 0,5 por 100 | 30 » |

Este baño fija los objetos pequeños en cinco o seis minutos. Prolongando la acción de doce a veinticuatro horas, se obtiene además una induración bastante notable, que puede exagerarse todavía en el alcohol. Una vez extraído el objeto del fijador, se sumerge en alcohol al 70 por 100 (por veinticuatro horas), luego en alcohol al 90 por 100, y, por último, en alcohol absoluto.

La coloración puede hacerse en los carmines, hematoxilinas, anilinas, etc.

Se ha recomendado el líquido de Pereny para el estudio de las células y fibras nerviosas, que fija perfectamente.

Pícrico-sulfúrico.*Kleinenberg.*

| | |
|-------------------------|-----|
| Ácido pícrico | 100 |
| » sulfúrico | 2 |

Para usar este líquido conviene diluirlo en dos o tres veces su peso de agua.

Pícrico-acético-formol.*Bouin.*

| | |
|---|--------|
| Disolución acuosa saturada de ácido pícrico | 15 cc. |
| Ácido acético | 1 » |
| Formalina | 5 » |

Apropiado para la fijación de embriones y mitosis; penetra con rapidez. De una a veinticuatro horas. Después, alcohol, 80 por 100.

Fosfotúngstico-acético-alcohol.*Rawitz.*

| | |
|--|--------|
| Ácido fosfotúngstico en disolución (Kahlbaum). | 40 cc. |
| Alcohol, 95 por 100 | 50 » |
| Ácido acético | 10 » |

El acético se añade al usarla. Veinticuatro horas. Después, alcohol, 70 por 100, cambiándolo a las cuarenta y ocho horas.

Sublimado-tricloracético-acético.*Subtrie-Heidenhain.*

| | |
|--|---------|
| Disolución concentrada de sublimado. | 100 cc. |
| Ácido tricloracético | 2 g. |
| Ácido acético | 1 cc. |

Penetra rápidamente. Fija en horas. Después, directamente al alcohol de 90 por 100 con tintura de yodo.

Sublimado-tricloracético-acético-formol.*(Susa-Heldenhain).*

Se tiene preparada la siguiente disolución concentrada de sublimado:

| | |
|----------------------------|-----------|
| Agua destilada | 1.000 cc. |
| Cloruro de sodio | 6 g. |
| Sublimado | 90 » |

Se disuelve en caliente; al enfriarse deposita cristales. Con ella se hace la mezcla fijadora con la fórmula siguiente:

| | |
|---|--------|
| Solución concentrada de sublimado | 50 cc. |
| Acido tricloracético | 2 g. |
| Acido acético glacial | 4 cc. |
| Formalina | 20 » |
| Agua destilada | 80 » |

La fijación se consigue en doce-veinticuatro horas. El mismo fijador se puede emplear varias veces. Lavado abundante. Alcohol de 96° e inclusión. El yodo lo aplica en los cortes.

Formol-bromuro.

Cajal.

| | |
|-----------------------------|--------|
| Formol | 15 cc. |
| Bromuro de amonio | 2 g. |
| Agua destilada | 85 cc. |

Constituye uno de los mejores fijadores del conectivo y la neuroglia. De dos a cuatro días como mínimo. Lavado rápido en agua. Cortes en congelación.

Formol-urano.

Cajal.

| | |
|----------------------------|----------|
| Formol neutro | 15 cc. |
| Nitrato de urano | 1 a 2 g. |
| Agua destilada | 85 cc. |

Excelente para el aparato reticular de Golgi, si actúa de ocho a doce horas; de veinticuatro a cuarenta y ocho fija la neuroglia.

De otros fijadores especiales, como la piridina, introducida por Held y muy usada por nosotros, los hipnóticos, introducidos por Cajal, etc., etc., nos ocuparemos con los métodos respectivos.

REACTIVOS ACLARADORES Y OPACANTES

Los objetos microscópicos incoloros vense, por la diferencia de su índice de refracción, con el del medio que los rodea; por su color los que naturalmente lo tienen o han sido teñidos.

Reactivos *aclaradores* son los que obran borrando o moderando el contraste de los índices de refracción de las partes

constitutivas de los tejidos. Cuanto menos diferencia de índice exista entre las células y el medio orgánico en que yacen, más claras aparecerán las preparaciones y más fácil resultará la apreciación de los elementos coloreados, residentes en el espesor de éstas.

Las materias capaces de atenuar dichos contrastes, y que, por ende, prestan a los cortes histológicos una gran transparencia, son las esencias (esencia de clavos, la de bergamota, la de orégano, el xilol, la creosota, etc.) y las soluciones de bálsamo del Canadá o de resina damar en xilol.

Reactivos *opacantes* son los que, por gozar de un índice de refracción muy bajo, obran en sentido contrario; es decir, oscureciendo el contorno de las células y robando transparencia a la preparación. Este efecto, que en los cortes suele ser dañoso, resulta muy beneficioso cuando se examinan células sueltas, tenues filamentos libres, diatómeas, en fin, todas aquellas partes cuyas superficies exhiben rayas o expansiones de gran delicadeza. Entre los agentes opacantes deben contarse: el aire, el alcohol, el éter y el agua común.

Las materias de un índice muy elevado, mucho más alto que el de los tejidos, tales como el *stirax*, el *liquidámbar*, el *yoduro de metilo*, poseen también acción opacante, puesto que prestan a la preparación, aunque en sentido opuesto, el mismo contraste engendrado por los líquidos de bajo índice. El *stirax* es, sobre todo, muy usado por los diatomistas, a fin de dar realce a las finas rayas de la *amphipleura pellucida* y de la *pleurosigma angulatum*.

REACTIVOS AISLADORES

Son los que, atacando las materias intercelulares, dejan en libertad las células, o facilitan, por lo menos, las maniobras de la disociación mecánica.

Alcohol al tercio, es decir, dos partes de agua por una de alcohol de 36°. Este reactivo, que fué preconizado por Ranvier, aísla fácilmente, mediante una maceración de veinticuatro

a cuarenta y ocho horas, las células de los epitelios cilíndricos y pavimentosos, así como las fibras musculares lisas.

Ácido nítrico al 25 por 100. — Si se macera en este licor por uno a tres días, tejido de fibra lisa o el músculo cardíaco, se logra disociar cómodamente las fibras musculares.

El *ácido sulfúrico* concentrado sirve para disociar las células epiteliales córneas, y diluído al 5 por 100 aisla fácilmente los prismas del cristalino.

El *ácido pícrico*, a saturación durante veinticuatro horas, permite disociar los tendones.

El *bicromato de potasa*, diluído al 1 por 300, es de gran provecho para lograr el aislamiento de las células neuróglícas y nerviosas de la médula espinal. El tiempo de acción debe prolongarse de dos a cinco días.

La *potasa* al 40 por 100 disocia la fibra muscular (lisa, cardíaca y estirada común) y las células córneas del epidermis.

El *hidrato de cloral* al 5 por 100 disocia las células serosas.

REACTIVOS ABLANDANTES O ALTERANTES

Se usan para rebajar la consistencia de substancias excesivamente duras, como el hueso y el cartílago en vías de osificación. Los ablandantes más generalmente usados son: el ácido crómico, el pícrico, el nítrico, el hidroc্লórico, todos en soluciones más o menos diluídas, excepto el pícrico, que se aplica a saturación.

Todos ellos disuelven las sales de calcio, transformándolas en otras solubles.

La cantidad de líquido con relación a las piezas debe ser considerable para que la decalcificación sea rápida, y debe cambiarse varias veces.

Antes de decalcificar, toda pieza deberá ser fijada en formol para las imágenes de conjunto y en las mezclas de Zenker para las estructuras celulares, y endurecida en alcohol o líquido de Müller.

Extraídas las piezas del líquido decalcificante, se lavarán,

por veinticuatro o cuarenta y ocho horas en agua destilada, previo un baño de veinticuatro horas de alumbre, sulfato sódico o sulfato de litio, para evitar el hinchamiento del conectivo; después pasarán al alcohol, donde se deshidratarán, esperando la inclusión definitiva.

La mejor materia de inclusión es la celoidina; la parafina producirá excesiva consistencia. Los cortes se teñirán con safranina, carmines, hematoxilina, etc.

La congelación permite obtener fácilmente cortes aun de piezas que no estén decalcificadas por completo.

Todos los decalcificantes sólo deben obrar el tiempo necesario para hacer desaparecer la cal, pues dificultan las coloraciones.

Principales decalcificantes.

Ácido nítrico al 5 por 100 (7,5 cc. de ácido nítrico de 1,40 de peso específico o 17 cc. del oficial de 1,14 a 1,15, en 100 de agua).

Ácido sulfuroso al 5 por 100 para piezas no fijadas en sublimado.

Ácido tricloracético al 5 por 100 o mezclado con formol al 10 ó 20 por 100, fija y decalcifica a la par.

Líquido de Ebner:

| | |
|-----------------------------|-----|
| Ácido clorhídrico | 2,5 |
| Alcohol | 500 |
| Cloruro sódico | 2,5 |
| Agua destilada | 100 |

Las piezas pequeñas y delicadas, como embriones, se decalcifican con las buenas mezclas fijadoras que llevan ácidos como las de Flemming, Subtrie y Susa de Heidenhain, etc.

Para los métodos de la plata pueden utilizarse: formol al 12 por 100, con ácido nítrico al 5 por 100 (Cajal), o ácido nítrico al 5 por 100 en alcohol y agua, y 5 g. de hidrato de cloral, ó 2 de uretano, de Castro.

REACTIVOS COLORANTES

Son aquellas substancias que, fijándose con matices más o menos intensos en determinadas partes de los tejidos, permiten distinguir detalles estructurales invisibles o apenas apreciables con el uso exclusivo del microscopio.

Los reactivos colorantes deben clasificarse en dos grupos: 1.º, agentes que tiñen selectivamente sin experimentar modificación profunda de su composición química; 2.º, agentes electivos que coloran descomponiéndose. Estos últimos designanse también *reactivos impregnadores*.

Reactivos colorantes sin descomposición. — Son numerosísimos, pero los principalmente usados son: el carmín y la hematoxilina entre los colorantes naturales y numerosos colorantes artificiales o sintéticos conocidos con la denominación general de colores de anilina.

Carmín. — Empleado por Göppert y Cohn, fué introducido en la técnica histológica por Hartig y Gerlach, separadamente, de 1854 a 1858. Se extrae de la hembra del *Coccus cacti coccinellifera*, que, según P. Mayer, almacena un carminato alcalino en el cuerpo grasiento y en la yema del huevo. De constitución no bien conocida, se supone que pertenece *su cromógeno* al grupo de la antraquinona. En la actualidad va siendo substituído por el ácido carmínico, que se obtiene formando una sal bórica y descomponiéndola por el ácido sulfúrico. Este ácido bibásico forma sales solubles con los metales alcalinos, e insolubles con los térreos y pesados. El carminato de aluminio se disuelve en disoluciones acuosas o acuoso-alcohólicas de ácido, en sales ácidas, en bases y en sales básicas, como el bórax.

Las fórmulas de carmín son muy numerosas. Nosotros daremos aquí las que gozan de más crédito.

Picrocarminato amoniacal. — Es una mezcla de carmín y ácido pícrico, propuesta por Ranvier para lograr coloraciones dobles de los tejidos. El carmín colora los núcleos en rojo, y el ácido pícrico tiñe en amarillo las células córneas y fibras elásticas.

La preparación de este importante reactivo es algo difícil, y sus resultados varían mucho, según la fórmula empleada.

He aquí la de Löwenthal, que pasa por una de las mejores.

| | |
|--------------------------|-----|
| Sosa cáustica | 0,5 |
| Carmín laca. | 0,4 |
| Agua destilada | 100 |

Después de una decocción de quince minutos, dilúyese en 200 de agua y se añade sucesivamente una solución de ácido pícrico al 1 por 100 hasta que cese de disolverse el precipitado que se forma. El líquido debe filtrarse dos o tres veces, y estará listo para usarse.

Carmines de Grenacher.

Aluminoso.

| | |
|---|-----|
| Carmín | 1 |
| Solución de alumbre al 5 por 100. | 100 |

Se filtra después de quince minutos de ebullición. En este líquido permanecerán los cortes de una a veinticuatro horas, sin temor a la sobrecoloración. El carmín (que adquiere un matiz purpúreo) se fija de preferencia en la cromatina nuclear y figuras mitóticas o kariokinéticas.

Borácico.

Se disuelven 2,5 g. de carmín en 100 cc. de una disolución acuosa de bórax al 4 por 100 por ebullición. Se enfría, se añaden 100 cc. de alcohol de 70 por 100 y se filtra al día siguiente.

Carmín lítico de Orth. — Las soluciones alcalinas de carmín poseen poca o ninguna selección; mas cuando un preparado, teñido difusamente en un carmín alcalino, se trata por una solución alcohólica de ácido hidroclicórico, el exceso de color se disuelve y se opera una fuerte selección en los núcleos.

La solución de Orth es la siguiente:

| | |
|--|-----|
| Carmín laca. | 2,5 |
| Solución saturada de carbonato de litina | 100 |

Los cortes, que permanecerán aquí algunos minutos, son lavados de medio a un minuto en una solución alcohólica de ácido clorhídrico (al 1 por 100), y luego en agua destilada.

Cochinilla de Czokor. — En vez del carmín del comercio cabe utilizar la cochinilla de donde se extrae. La fórmula de Czokor da buenos resultados; colora la cromatina nuclear de violado purpúreo.

| | |
|------------------------------|-----|
| Cochinilla en polvo. | 7 |
| Alumbre calcinado | 7 |
| Agua. | 700 |

Hiérvese hasta reducción a la mitad, fíltrese y aplíquese como la fórmula precedente. Tiñe también sin sobrecoloración.

Carmines de Mayer. — *Carmin aluminoso.* — Se disuelven un gramo de ácido carmínico y 10 g. de alumbre potásico en 200 cc. de agua destilada, en frío o en un calor suave. Se filtra y se añade un antiséptico suave, 0,2 de ácido salicílico ó 1 cc. de formalina.

Paracarmin. — Se disuelven un gramo de ácido carmínico, 0,5 de cloruro de aluminio y 4 g. de cloruro de calcio en 100 cc. de alcohol de 70 por 100. Se filtra al día siguiente.

Hematoxilina. — Empleada primeramente por Waldeyer (1863), adquirió importancia desde que Böhmer publicó su fórmula (1865). Se extrae del palo de campeche (*Hematoxilon campechianum*) por medio del éter, y en su constitución, no del todo conocida, se unen el pirogalol y la pirocatequina, estando muy próxima a las flavonas. Funciona como ácido en presencia de las bases, formando lacas (compuestos insolubles) con las sales de aluminio, cromo, hierro, vanadio, cobre, etc. Se presenta en cristales, poco soluble en agua, más en alcohol, formando disoluciones incoloras o amarillentas, respectivamente, al principio, que después se tornan violadas o pardas, adquiriendo cada vez más intensidad. Esta progresiva producción del color, llamada *maduración* de la hematoxilina, se debe, como señaló Erdmann y ha sido estudiado por Mayer, a una oxidación progresiva de la hematoxilina, que se transforma en *hemateína*. Según las fórmulas, la maduración de la hematoxilina dura días, semanas o meses, se mantiene un tiempo variable y después desaparece, destruyéndose progresivamente el color, que tiñe cada vez con menos intensidad y más difusamente.

La maduración se puede *acelerar* añadiendo a las fórmulas sustancias oxidantes: *óxido de mercurio* (Harris), permanganato potásico (Hansen), *agua oxigenada* (Unna) Las fórmulas hechas con la hemateína debían estar maduras desde el primer momento; pero de ordinario necesitan algunas horas. Las más corrientemente usadas llevan el alumbre como mordiente.

Formulas más usuales.

Hematoxilina, de Bohmer:

Disuélvase aparte un gramo de hematoxilina en 10 cc. de alcohol de 96 por 100 y 30 g. de alumbre potásico en 300 cc. de agua destilada. Mézclense las dos disoluciones y déjese madurar hasta que tome color azul y tñña convenientemente.

Hematoxilina ácida de Ehrlich:

A una disolución de 2 g. de hematoxilina en 100 cc. de alcohol absoluto o de 96 por 100 se añaden 100 cc. de agua destilada, 100 cc. de glicerina, 2 g. de alumbre potásico y 10 cc. de ácido acético.

La adición del ácido acético tiene por objeto evitar la precipitación de la laca aluminica y seleccionar la coloración nuclear. Tarda más en madurar, pero se conserva madura mucho más tiempo.

Hematoxilina de Delafield:

Disuélvase 4 g. de hematoxilina en 25 cc. de alcohol absoluto y añádanse 40 cc. de una disolución saturada de alumbre amoniacal (alrededor del 10 por 100), abandonándola al aire y la luz por tres o cuatro días; se filtra, se añaden 100 cc. de glicerina y 100 cc. de alcohol metílico y después de varios días se filtra de nuevo.

Para usarla hay que diluirla bastante en agua.

Hematoxilina rápida de Hansen:

Disuélvase separadamente un gramo de hematoxilina en 10 cc. de alcohol absoluto y 20 g. de alumbre potásico en 200 cc. de agua destilada caliente; a las veinticuatro horas se mezclan las dos disoluciones, se añaden 3 cc. de una disolución acuosa de permanganato potásico saturada en frío, se calienta hasta la ebullición, se enfría rápidamente y se filtra.

Hemateína aluminosa de Mayer:

Una disolución de un gramo de hemateína en 50 cc. de alcohol de 90 por 100 por el calor, se mezcla con un litro de una disolución de alumbre potásico al 5 por 100; se filtra después del enfriamiento y se le añade algún antiséptico (timol).

La hemateína puede ser utilizada para hacer las demás fórmulas de hematoxilina empleando de la octava a la cuarta parte de las cantidades señaladas para ésta.

De otras muchas fórmulas nos ocuparemos en momento oportuno.

Colores de anilina. — Aunque conocido desde el siglo XVIII el ácido pícrico, hasta el descubrimiento de la mauveína, por Perkins (1856) y la fuchsina, por Verguin (1859), partiendo de la anilina (fenilamina), no comenzó la industria de los colores de anilina; rápidamente fué creciendo el número de los colorantes obtenidos, pasando en la actualidad de 1.500. Aunque bastantes no han sido obtenidos de la anilina, se ha conservado el nombre genérico.

La composición es muy variada; pero desde los estudios de Witt (1876) se admite cierta relación entre la composición química y la capacidad tintórea. Todos ellos pertenecen a la serie cíclica, presentando en su composición: un *cromógeno*, formado por uno o varios anillos bencénicos o naftalénicos o sus homólogos y derivados, enlazados entre sí de diferentes modos; y determinados grupos, *cromóforos*, que producen la capacidad de poder llegar a ser una materia colorante, pero necesi-tándose, para que esto suceda, que en el cromógeno existan además grupos capaces de formar sales. Así, el azobenzol $C_6H_5 - N = N - C_6H_5$ es un cromógeno que contiene el cromóforo $- N = N -$, pero no es colorante hasta que no se introduce un grupo salificable, NH_2 en el amido azobenzol ($C_6H_5 - N = N - C_6H_4NH_2$), OH en el oxiazobenzol ($C_6H_5 - N = N - C_6H_4OH$).

Los grupos formadores de sales que intervienen en las materias colorantes son NH_2 , OH , $COOH$, NOH , NO_2 , SO_3H ; de ellos, los dos primeros tienen la propiedad de intensificar el poder colorante, habiendo sido llamados por esta razón *auxocromos*.


No se conoce todavía la razón de que determinados grupos sean cromóforos; en general, parece que la doble unión de los átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre constituye una condición favorable.


Los cromóforos de los principales colorantes utilizados en la técnica histológica son:

NO_2 en los nitrados, entre los que se encuentran el ácido pícrico (trinitrofenol) y la aurantia (exanitro difenilamina).

$- N = N -$ en los azoicos amidados (metilorange, helian-

tina, crisoidina, vesubina o pardo Bismark) y oxidados (tropolinas y oranges).

 en los paraquinónicos con los derivados del trifenilmetano en primer término (parasosanilina, cristal violeta, violeta de metilo, violeta de genciana, verde de metilo, fuchsina, verde de yodo, azul de anilina, azul de metilo, azul victoria, azul noche, ácido rosólico, ptaleínas, fluoresceínas, eosinas y los del difenilmetano (verde de malaquita, verde brillante, verde de cromo).

 en los ortoquinónicos, comprendiendo entre otros las azinas (rojo neutro, safraninas) y las thiazinas (tionina, azul de toluidina, azul de metileno).

Los colores de anilina fueron clasificados por Ehrlich en ácidos, básicos y neutros; el carácter químico depende de la naturaleza y números de grupos cromóforos, auxocromos y salificables, siendo tanto más marcado cuando todos ellos son ácidos o básicos. Aunque en muchas ocasiones desempeñan papel más importante en las coloraciones, acciones físicas o químicas de otra naturaleza, deberá tenerse en cuenta siempre este carácter en relación con la acidez o basicidad de lo que se pretende teñir y en las mezclas de colores.

En general los colores de anilina se emplean en disoluciones acuosas o acuoso-alcohólicas, mezclando una parte de la disolución alcohólica concentrada con nueve de agua destilada; pero siendo tan variadas es imposible dar reglas que abarquen a todos.

Al ocuparnos de los métodos de coloración diremos el modo de utilizar los principales.

Substancias impregnadoras. — Ya apuntamos más atrás que ciertos agentes, como el ácido ósmico y algunas sales metálicas, poseen la propiedad de teñir selectivamente, pero a condición de sufrir, en presencia del tejido, una descomposición. Las substancias que obran de esta suerte son: el ácido ósmico, el nitrato de plata, el óxido de plata amoniacal, el cloruro de oro y el bicromato de potasa puesto en presencia de algunas sales de plata o de mercurio. El precipitado impreg-

nador fórmase unas veces por *reducción*, afectando estado coloidal (impregnación argéntica, áurea, etc.), y otras por *doble descomposición*, en presencia del mordiente que embebe el tejido (cromato de plata sobre piezas empapadas en bicromato potásico).

REACTIVOS INOFENSIVOS

Los *reactivos inofensivos* son líquidos que, por alterar poco o nada la forma o vitalidad de los elementos anatómicos, se aprovechan para conservar, durante el examen en vivo, los humores y tejidos.

Uno de los líquidos inofensivos más usados es la solución salina siguiente:

| | |
|----------------------------|-----|
| Cloruro de sodio | 0,9 |
| Agua destilada | 100 |

Añadiendo a este licor cierta cantidad de violeta de metilo, se obtiene el líquido conservador *sódico-metilico* de Bizozzero, utilísimo para el examen algo prolongado de las plaquetas de la sangre.

Para efectuar cultivos histológicos, pueden usarse también, con ventaja, según han probado las investigaciones de Burrows, Lewis, etc., los líquidos de Ringer y de Locke.

Líquido de Ringer.

| | | |
|-------------------------------|-------------|-----|
| Agua | 100 | cc. |
| Cloruro de sodio | 0,9 | g. |
| Cloruro de calcio | 0,02 | » |
| Cloruro de potasio | 0,02 | » |
| Bicarbonato de sosa | 0,01 a 0,02 | » |

Líquido de Locke.

| | | |
|-------------------------------|-------|-----|
| Agua | 100 | cc. |
| Cloruro de sodio | 0,9 | g. |
| Cloruro de calcio | 0,024 | » |
| Cloruro de potasio | 0,042 | » |
| Bicarbonato de sosa | 0,01 | » |

El *humor ácuco*, extraído ya de la rana, ya del conejo, es también un buen vehículo para conservar durante la observación los movimientos amiboides de los leucocitos y el vibrátil de los epitelios. Pero el vehículo más ventajoso es, sin disputa, el plasma de la sangre no coagulado y conservado en hielo y con precauciones asépticas. Para prepararlo aconsejan Harrison y Burrows recibir la sangre de un animal vivo o recién muerto en un tubo interiormente parafinado (a fin de evitar la coagulación), que se lleva al aparato centrifugador, al objeto de descartar los hematíes. Una inyección de peptona en las venas del perro impide también en éste la coagulación de la sangre, pudiéndose, por tanto, obtener directamente plasma nutritivo. Para efectuar un cultivo histológico, se escogerá, naturalmente, el plasma del animal a que pertenezcan las células, que se mantendrá en estufa y cámara húmeda por algunos días.

Los demás reactivos inofensivos, a saber: la *solución salina de Hayem*, el *suero artificial de Schültz*, el de *Kroenecher*, etc., se aplican en ciertos casos solamente, y son tan provechosos como los arriba citados para el examen en vida.

REACTIVOS CONSERVADORES

Son *reactivos conservadores*, no los inofensivos, sino los que, además de poner los tejidos al abrigo de la putrefacción, conservan el color y demás cambios provocados en las preparaciones por las diversas maniobras de fijado y coloración.

El modo de acción de estos reactivos consiste, unas veces, en robar agua al preparado, imposibilitando así toda vegetación de bacterias (alcohol, glicerina), y otras en substituir el agua de inhibición por materias resinosas imputrescibles, como el bálsamo del Canadá, la resina damar, el *stirax*, etc.

Glicerina. — Debe ser anhidra y perfectamente neutra, para evitar la alteración que, en presencia de ácidos o álcalis, experimentan ciertos colores. Esta substancia conserva bastante bien los tejidos, a quienes presta regular transparencia; pero

tiene el inconveniente de retraer algo los fascículos conjuntivos y de alterar a la larga la coloración de las células.

Bálsamo del Canadá. — Se aplica, generalmente, disuelto en xilol, de modo que se obtenga una masa de consistencia de jarabe espeso. El montaje en bálsamo de los cortes exige como condición precisa la deshidratación (en alcohol) y el aclaramiento. (Véase más adelante: *Conservación de las preparaciones.*)

Resina damar. — Se aplica, como en el bálsamo, la solución en xilol de la resina seca y pulverulenta; su empleo reclama también la previa deshidratación de los cortes.

Licor de Ferrant.

| | |
|------------------------|-----|
| Goma arábica | 100 |
| Agua | 100 |
| Glicerina | 2 |

Añádase para conservar este líquido un cristal de timol.

Se aplica, como la glicerina, sobre cortes no deshidratados y cuya coloración sufra por la acción del alcohol.

Licor de Apathy. — Mezcla, a partes iguales, de jarabe simple y de solución espesa de goma arábica. Se añade al líquido para su conservación un cristal de timol.

Muy usado para la conservación de las preparaciones que contienen grasa coloreada con el *sudán III* o el *rojo escarlata*. La periferia de la preparación se endurece y el cubreobjetos queda fijo.

Gelatina-glicerina. — Mézclense volúmenes iguales de glicerina y una disolución de gelatina en agua al 8 por 100 en caliente; añádase un centímetro cúbico de ácido fénico al 5 por 100 por cada 100 cc. de la mezcla, y después de agitado suavemente durante un cuarto de hora, fíltrese por algodón de vidrio o por papel flojo en embudo caliente.



C. — MÉTODOS HISTOLÓGICOS

CAPÍTULO V

CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS. — MÉTODO DEL EXAMEN EN VIDA. — MÉTODO AISLADOR. — MÉTODO DE LOS CORTES. — MÉTODO DE LAS COLORACIONES. — MÉTODO DE LAS INYECCIONES.

Llámase *método histológico* al conjunto de operaciones destinadas a demostrar tal o cual disposición estructural de los tejidos. Comprende cada método una porción de actos técnicos que conspiran al mismo fin; así, por ejemplo, la demostración de la textura del núcleo exige la ejecución de estas operaciones: fijado del objeto, induración, sección, coloración, etc.

Si cada particularidad de estructura de los tejidos requiere el empleo de uno o de varios métodos analíticos, está claro que deben ser éstos muy numerosos. Su exposición circunstanciada reclamaría una extensión de que no disponemos; por lo cual, nosotros nos ceñiremos a explicar los métodos de indagación aplicables a todos o a varios tejidos. Los métodos analíticos más generales pueden reducirse a cinco: *el examen en vivo*; *la disociación*, que presenta las células aisladas; *el método de los cortes*, que revela las células en sus relaciones y actitudes naturales; *el método de las coloraciones*, que permite destacar determinados elementos, asociándolo a los demás métodos, y *el método de las inyecciones*, que consiente, mediante el relleno de las cavidades orgánicas, la percepción del contorno de éstas.

EXAMEN EN VIVO

El examen de los elementos vivos puede efectuarse, bien en líquidos orgánicos, bien en tejidos disociables, ora en membranas transparentes del animal íntegro, ora, en fin, en plasma extraído del cuerpo del animal y aprovechado para la conservación y cultivo celulares.

Líquidos orgánicos. — La observación de los humores vivos, tales como la sangre, la linfa, el esperma, etc., es de las más sencillas. En el centro de una cámara húmeda portaobjetos se deposita la gota del líquido que se desea examinar; cúbrese rápidamente el preparado con una laminilla que, para evitar la intrusión de microbios, se cementará con parafina. Si el líquido pertenece a un animal de sangre fría, bastará el empleo de la cámara húmeda; mas si procede de un animal de sangre caliente, la observación se hará en la cámara de Pfeiffer u otro aparato análogo.

Examen de los tejidos íntegros o disociados. — La córnea de la rana, trozos de tejido conectivo separados mediante las tijeras curvas, las fibras musculares frescas de las patas del hidrófilo, pedazos del epitelio vibrátil del esófago de los batracios, etc., podrán conservarse vivos en cámara húmeda y por varias horas. El vehículo preferible será, para los elementos de la rana, el plasma sanguíneo del mismo animal, y para los del *hidrophilus piceus*, *ditiscus marginalis*, etc., la linfa que de estos coleópteros rezuma cuando se les arranca una pata o la cabeza. En general, y para evitar la muerte rápida de los elementos, la disociación preliminar de las células será muy ligera; se impedirá también que el cubreobjetos oprima demasiado la preparación.

Examen de los órganos transparentes. — El mesenterio, el pulmón y la lengua de la rana, las expansiones membranosas de la cola del renacuajo y de la larva del sapo, el mesenterio del conejillo de Indias de pocos días, etc., constituyen órganos adecuados a la observación microscópica de algunos tejidos vivos, tales como los nervios, los vasos, la sangre y linfa, el tejido conectivo, los epitelios, etc.

Examen en el renacuajo. — Prefiérense larvas de pequeño tamaño, porque pueden acomodarse fácilmente encima de un portaobjetos. Para inmovilizar el animal, se añade al agua en que nada unas gotas de una solución de curare al 1 por 100. Mientras el renacuajo tiene el epitelio íntegro, no se absorbe el veneno; pero en cuanto se pica la piel, el curare penetra y el animal queda inmóvil, aunque no muerto, pues el corazón continúa latiendo y la circulación se mantiene. Al objeto de evitar la desecación, se mojará de cuando en cuando la piel, y se cubrirán las expansiones de la cola con una laminilla.

Mesenterio de la rana. — El mesenterio se presta admirablemente, por su gran transparencia y delgadez, al estudio de los vasos y sangre, así como al examen de los corpúsculos del tejido conectivo.

La rana se inmovilizará también con el curare, de cuya solución al 1 por 100 se inyectarán bajo la piel, en el saco linfático dorsal, algunas gotas. A los diez minutos, la absorción es suficiente para paralizar los movimientos voluntarios. Acto continuo, y previa una sección lateral del abdomen, se extrae un asa intestinal (porción superior del intestino), provista de un repliegue mesentérico dilatado. A prevención, tendremos preparado un cristal pequeño (el tamaño 9 por 12 cm., llamado cuarto de placa por los fotógrafos, es excelente), en cuyo centro se pega con parafina un cilindro de corcho, cuyo diámetro concuerde con el del asa intestinal, y cuya altura guarde proporción con el espesor de la rana. En el contorno superior del corcho se labrará exteriormente una muesca, en donde, a favor de finos y cortos alfileres, deberá fijarse el intestino. La observación se efectúa a flojos aumentos (A o C de Zeiss), si se desea apreciar la circulación en un territorio algo extenso, la percepción de finos detalles reclama un objetivo fuerte (E de Zeiss, por ejemplo), y la protección del mesenterio mediante un pequeño cristal circular. Finalmente, se cuidará de mantener la respiración cutánea de la rana, mojando la piel cada cinco o diez minutos; esto evita también la desecación del mesenterio.

El examen de la membrana interdigital se hará fácilmente,

inmovilizando la rana sobre un corcho plano y extenso, en el cual habrá un agujero que se cubrirá con las expansiones interdigitales de la pata extendida. La extensión de los dedos se mantendrá a favor de hilos, fijos por uno de sus extremos en las últimas falanges, y atados por el otro en los agujeros del corcho.

Aunque con menos comodidad, cabe también examinar la circulación en el mesenterio del conejillo de Indias. El ratón, la rata y el gato son menos a propósito, a causa de las espesas formaciones adiposas que recubren los vasos peritoneales. En cuanto a la inmovilización, se efectuará inyectando en el peritoneo cierta cantidad de hidrato de cloral; 2 ó 3 g. de solución acuosa al 5 por 100 bastan para narcotizar, por algunas horas, un conejo de Indias de pequeña talla.

Cultivos celulares. — El viejo método de mantener por varias horas o días vivos los leucocitos de la rana en el plasma normal del mismo animal, se ha aplicado en grande escala en estos últimos años por Harrison, Lewis, Carrel, Burrows, etc., al cultivo de las demás células de tejido, en muchas de las cuales se han provocado interesantes proliferaciones y colonias extraorgánicas. El modo de preparar el plasma o terreno de cultivo varía para cada autor. Más atrás dejamos expuesto el método que propone Burrows, y cuyos buenos resultados ha comprobado Marinesco (1913), Levi y otros autores.

Reducido el tejido vivo a fragmentos de 1 ó 2 mm., lávanse rápidamente con el líquido de Ringer esterilizado, y mójense después en cubreobjetos, bañándolos en una gota de plasma. La laminilla portadora del tejido colócase, con la gota del vehículo conservador, hacia abajo, sobre un portaobjetos excavado, cuyo fondo habrá sido humedecido con el líquido de Ringer. En fin, parafinados los bordes de la laminilla, llévase el todo a la estufa a 37°. Cada veinticuatro o cuarenta y ocho horas convendrá renovar el plasma del cultivo, lavando los trozos histológicos (si hubiere colonias microbianas incipientes) con líquido de Ringer o de Locke. De esta suerte cabe asistir durante muchos días a la proliferación de las células epiteliales o conectivas, formación de ramificaciones en los

axones embrionarios, con la consiguiente producción de membranas y centros o pléyades de vegetación irradiada.

DISOCIACIÓN

El *aislamiento* de los elementos anatómicos puede efectuarse de las siguientes maneras: por *acción mecánica*, por *acción química* y por *compresión*.

Disociación mecánica. -- Esta operación recaerá en los tejidos blandos, sobre todo en los que, como el muscular, el nervioso, el fibroso, el del cristalino, están contruidos por filamentos largos, paralelamente dirigidos.

Las maniobras de disociación se ejecutan sobre un portaobjetos colocado encima de un fondo negro o blanco (según sea el color del tejido), con el objeto de percibir claramente, por contraste, los más pequeños fragmentos desprendidos. El desmenuzamiento, que se prolongará hasta que las parcelas obtenidas resulten casi invisibles, se efectuará con las agujas enmangadas y bajo una gota de líquido indiferente, a menos que convenga, como sucede en los nervios, ayudarse de la semidisecación. En ciertos casos se facilitará mucho la operación con el microscopio simple.

La *compresión* de los tejidos frescos ofijados entre dos laminillas; la *dilución* de los líquidos cargados de células a favor de vehículos indiferentes, y la *inyección* de estos mismos reactivos en los intersticios de tejidos fibrosos, son procedimientos mecánicos que podrán aplicarse también con provecho.

Disociación química. -- Se obtiene utilizando la virtud que poseen ciertos reactivos de disolver el cemento separatorio de las células. Así, cuando un trozo de epitelio fresco se abandona por treinta y seis horas en el alcohol al tercio, el epitelio aparece desintegrado, y es fácil trasladar a un portaobjetos numerosas células sueltas, que serán teñidas en la hematoxilina o en el picrocarminato. La potasa al 40 por 100, el ácido nítrico al tercio, el líquido metílico de Schiefferdecker (agua, 20;

glicerina, 10; alcohol metílico, 1); el líquido de Landois (solución saturada de bicromato amónico neutro, 5; solución saturada de fosfato potásico, 5; solución saturada de sulfato sódico, 8; agua, 100), serán muy útiles en casos especiales.

MÉTODO DE LOS CORTES

El método de los cortes comprende el conjunto de operaciones que deben realizarse para conseguir secciones delgadas, y transparentes de un órgano o tejido. La importancia de este método es tan grande que a menudo hace superfluos todos los demás. Así, por ejemplo, la estructura de los tejidos nerviosos, glandular, cartilaginoso, óseo, epitelial, etc., puede estudiarse suficientemente en los cortes con tal de variar los procedimientos de fijado, inclusión y coloración en armonía con el detalle estructural que se desea poner de relieve.

Es preciso distinguir dos casos en lo referente a las maniobras necesarias para la obtención de finas secciones: cuando los tejidos seccionables son blandos, y cuando son excesivamente duros, casi pétreos.

A. — SECCIONES EN TEJIDOS BLANDOS

Para obtener de un tejido blando cortes suficientemente delgados, que consientan la observación al microscopio, es preciso darle una consistencia apropiada. Como hemos visto anteriormente, los fijadores e indurantes aumentan la dureza de los tejidos blandos, pero, salvo en muy contados casos (método de Golgi, etc.), no les dan la consistencia necesaria, que sólo se alcanza por la *congelación* o la *inclusión*.

Proceder de la congelación. — La congelación se obtiene por la evaporación del anhídrido carbónico líquido en el microtomo descrito antes (véase Microtomos). La serie de operaciones necesarias para cortar de esta manera son las siguientes:

1.^a *Fijación.* — Es conveniente, y en la mayor parte de los

casos necesaria; sin ella, muchas de las materias que integran los tejidos se mantienen en estado semisólido, disgregándose los cortes al descongelarlos. Se hace de preferencia en disolución de formalina del 10 al 20 por 100, de veinticuatro horas en adelante; pero también piezas que hayan sido fijadas en otros líquidos (alcohol, etc.) pueden ser cortadas por congelación si se las tiene en agua unas horas para que se laven e hidraten. Para ciertos métodos (Tello), y con objeto de estudiar los efectos de los fijadores, será conveniente cortar sin previa fijación.

2.^a Lavado por pocos minutos en agua para extraer el exceso de formol.

3.^a El bloque destinado a las secciones (que deberá tener cuando más medio centímetro de espesor) se coloca en la plataforma del microtomo sobre un trozo de papel chupón humedecido.

4.^a La congelación se obtiene abriendo breves momentos a intervalos la llave de salida del gas, pues como aunque rápida, no es instantánea, hay que dar tiempo para que el frío producido en la plataforma se propague al través de la pieza; se apreciará esto observando el cambio de color de la porción congelada.

5.^a *Cortes.* — Cuando la congelación ha llegado a la parte superior, se comienza a cortar; si el bloque no está suficientemente duro, saldrán desgarrados los cortes, debiéndose congelar más; si tienden a arrollarse, la congelación es excesiva, y esperando a que se caliente algo o ayudándose con el calor de la mano se llega pronto al punto debido, obteniéndose entonces rápidamente buen número de cortes.

6.^a Los cortes son trasladados con los dedos o con un pincel, sin comprimirlos, a una vasija con agua o formalina al 4 por 100, donde se extienden y se conservan hasta su destino ulterior (observación directa, coloración, etc.).

La congelación va siendo cada vez más empleada para la obtención de cortes histológicos, por su rapidez y economía; solamente en los tejidos demasiado duros (tendinosos, etc.), o que hayan sufrido la acción de indurantes enérgicos (ácido

crómico, bicromato, líquido de Flemming, etc.), o en tejidos que tengan grandes huecos o una estructura areolar, será conveniente la inclusión que, por otra parte, consiente obtener y manejar cortes más fríos.

Procederes que exigen la inclusión de las piezas en sustancias especiales. — Los órganos blandos, parenquimatosos, v. gr., el ovario, el hígado, el intestino, la médula, los ganglios, etc., deben sufrir, al objeto de prestarles el endurecimiento conveniente, las operaciones siguientes: fijación, induración y encastramiento o inclusión.

Fijado de las piezas. — Se verificará por uno de los líquidos atrás mencionados con el título de fijadores. El líquido elegido variará según el objeto que nos propongamos demostrar. Así, cuando se desea estudiar la kariokinesis o la textura del núcleo, se dará la preferencia al fijador de Rabl o al de Flemming o al sublimado; si se intenta poner de manifiesto la textura de los tubos nerviosos, se echará mano del ácido ósmico al 1 por 100, que se hará obrar durante algunos minutos; finalmente, si se busca solamente una imagen de conjunto, sin miras especiales tocante a la textura nuclear o protoplásmica, se apelará al alcohol absoluto, al formol o a la acetona. En casos especiales se empleará el formol adicionado de otros fijadores (bicromato de potasa, ácido acético, bromuro de amonio, etc.).

Induración. — Después de extraer la pieza del líquido fijador, se lava en agua abundante (excepto cuando se emplea el alcohol absoluto), y se sumerge ya en alcohol, ya en la acetona.

El endurecimiento en alcohol es el complemento obligado de toda acción indurante o fijadora conseguida con otros reactivos, excepción hecha de los tejidos destinados a la congelación. Así, toda pieza fijada en el ácido ósmico, licor de Flemming, bicloruro de mercurio, licor de Kleinenberg, formol, etc., se trasladará al alcohol, donde permanecerá dos o tres días. Este reactivo servirá también para acabar el endurecimiento de las piezas de centros nerviosos, indurados previamente en el ácido crómico o en el bicromato de potasa.

Deshidratación. — Los disolventes de las materias empleadas para la inclusión, éter, cloroformo, formol, xilol, esen-

cias, etc., no se mezclan con el agua, así es que se hace precisa una perfecta deshidratación de la pieza con alcohol absoluto, si se quiere que la masa de inclusión penetre.

Inclusión. — La inclusión o encastramiento es la operación por cuya virtud se hace penetrar en el espesor de la pieza deshidratada por el alcohol una materia solidificable que lleva al *máximo* la consistencia del tejido y facilita la ejecución de cortes, cuyo espesor oscila entre dos centésimas y una milésima de milímetro.

Muchas son las sustancias propuestas con tal objeto, pero los histólogos emplean hoy casi exclusivamente las *inclusiones en parafina y celoidina*. Éstas son las que expondremos brevemente, aconsejando al lector deseoso de profundizar el asunto y de conocer los otros modos de encastrar (inclusión en jabón, en albúmina, en agar-agar, en goma, etc.), la lectura de las obras especiales de técnica micrográfica.

a) *Inclusión en celoidina.* — Este método de encastramiento fué imaginado por M. Duval, que se sirvió primeramente del colodión espeso, que solidificaba mediante el alcohol de 36°. Actualmente se prefiere la celoidina, que es una especie de colodión seco, de color ambarino, soluble lentamente en una mezcla a partes iguales de éter a 65° y alcohol absoluto. Algunos proponen la *fotoxilina*, que se disuelve más rápidamente en la mezcla alcohólico-etérea, y forma, cuando solidificada, una masa transparente; pero no posee ventajas sobre el colodión y la celoidina, si hemos de juzgar por propias experiencias.

La solución de celoidina debe tener consistencia de jarabe espeso. En ella permanecen uno o varios días las piezas; después son abandonadas por veinticuatro horas en alcohol de 36° o cloroformo puro. Estos líquidos roban el éter de la celoidina, que adquiere una consistencia semejante al caucho.

Antes de incluir las piezas, deben deshidratarse en alcohol absoluto, y se supone que han sido preventivamente fijadas. Para mayor claridad, he aquí la marcha de las operaciones necesarias a una buena inclusión:

1.º Los trozos de tejido blando, de un espesor que no pa-

sará de medio centímetro (la anchura es indiferente), permanecerán veinticuatro horas en una mezcla de éter y de alcohol.

2.º Después se sumergirán, por veinticuatro a cuarenta y ocho horas o más (según el espesor de las piezas), en una primera solución de celoidina al 2 por 100.

3.º Durante dos, tres o más días, atendido el volumen, se empararán las piezas en una segunda solución de celoidina al 8 ó más por 100. Este líquido debe tener consistencia de espeso jarabe.

4.º Extraída la pieza de la celoidina se montará inmediatamente (evitando la desecación del vehículo) sobre un corcho limpio y seco o sobre un trozo de madera. Pegada a tal soporte, quedará expuesta al aire durante algunos minutos, a fin de que se condense un tanto más la celoidina envolvente.

5.º Los corchos o maderas con los objetos pegados se introducirán en un frasco de boca ancha que contenga alcohol de 70 por 100. Aquí permanecerán las piezas (que deben quedar bañadas por el alcohol) unas veinticuatro horas.

6.º Puesta la pieza con su soporte de corcho en la pinza portaobjetos del microtomo, se procederá a seccionarla, cuidando de lubricar la navaja con alcohol al 70 por 100.

7.º Los cortes serán recogidos en agua, donde permanecerán hasta el momento de ser teñidos. Si la tinción debiera demorarse dos o más horas, la conservación de los cortes durante este tiempo se hará en alcohol al 70 por 100.

Observaciones. — El método de inclusión del colodión o celoidina es aplicable a todos los tejidos sin excepción, aun a los más duros, a condición de estar decalcificados.

El tiempo necesario al englobamiento podrá abreviarse mucho si las piezas son muy pequeñas (3 ó 4 mm. de espesor). En tal supuesto, cabe practicar todas las operaciones de la inclusión en unas doce o catorce horas, pudiendo prescindirse del primer baño de éter y alcohol, y aun de la primera solución de celoidina.

b) *Inclusión en parafina.* — Las piezas englobadas en esta materia adquieren una consistencia muy notable, siendo fácil reducirlas con el microtomo a secciones de 3 a 5 milésimas.

Hasta los tejidos muy blandos, tales como el nervioso, el glandular y aquellos que encierran repliegues o cavidades considerables, por ejemplo, el ovario, el testículo, el intestino, los embriones, etc., se cortan sin ninguna dificultad, particularmente si se utilizan el microtomo automático de Minot o el de la Sociedad de Cambridge.

El orden en las operaciones es el siguiente.

1.º Las piezas, convenientemente deshidratadas y fijadas, se colocarán en una mezcla, a partes iguales, de alcohol y cloroformo. El cloroformo debe echarse después del alcohol y a favor de una pipeta que penetrará hasta lo más hondo, a fin de constituir una capa profunda exclusivamente clorofórmica. En cuanto las piezas, que se mantendrán algún tiempo entre las dos zonas de alcohol y cloroformo, desciendan del todo, pueden trasladarse.

2.º Al cloroformo puro, donde quedarán por seis a veinticuatro horas.

3.º Del cloroformo se transportarán a una solución concentrada de parafina en cloroformo, donde se abandonarán por seis a veinticuatro horas.

4.º Después se conducirán a un baño maría (1) que contenga parafina derretida, y a temperatura apenas superior al punto de fusión. Aquí permanecerán, según las dimensiones, desde ocho horas a dos o tres días.

La parafina utilizada deberá ser de una temperatura de fusión relacionada con la temperatura ambiente: generalmente, entre 50º y 60º; de mayor temperatura de fusión en los países o épocas calientes. El grado apetecido se consigue mezclando parafinas de distintas temperaturas. Conviene emplear dos baños más: primero, de parafina blanda, 40º, y otro, de la temperatura definitiva, 56º a 60º, unas horas en cada uno, según el grosor de las piezas.

5.º Extraída la pieza, se enfriará repentinamente para que la materia de inclusión se solidifique en cristales finísimos (una

(1) Utilízase de preferencia el baño maría de Giesbrecht o de Nápoles, el cual está provisto de termorregulador de mercurio, termómetro, etc. Adnet y otros fabricantes producen también aparatos muy prácticos para estos efectos.

solidificación lenta de cristales espesos que estropean los elementos); para ello se vierte la parafina en moldes o cajitas de papel de dimensiones apropiadas al tamaño de la pieza, y rápidamente, con pinzas calientes, se coloca ésta dentro de la parafina, en la posición conveniente; cuando la solidificación de la superficie es suficiente, se introduce el molde en agua fría. Como molde se utilizan de ordinario escuadras de metal que circunscriben, sobre una placa de metal también, espacios rectangulares o cuadrados de dimensiones variables a voluntad.

6.º Al montar la pieza en el microtomo, se tallará en cuadrado, procurando que una de las caras se dirija hacia adelante. El filo de la navaja deberá ser paralelo a dicha superficie, es decir, perpendicular a la resbaladera; disposición que favorece singularmente la obtención de series o cintas de cortes.

7.º Los cortes se depositan en hojas de papel o en cartones, preservados del viento hasta el momento de utilizarlos.

Observaciones. — El cloroformo y la solución de parafina en cloroformo se emplean, antes de la inmersión en el baño de parafina, para facilitar la penetración de ésta en la trama del tejido. Pero pueden utilizarse con tal fin todos los disolventes de la parafina: la esencia de trementina, la esencia de clavo, la esencia de cedro, el xilol, el petróleo, el toluol, etc. El modo de empleo de estos agentes será igual que el del cloroformo. Recientes autores prefieren el aceite del cedro, por entender que retrae menos los tejidos que el cloroformo y xilol y no los endurece excesivamente.

Los cortes de la parafina presentan, a veces, tendencia a arrollarse, imposibilitando el logro de las series. Los remedios propuestos son muchos. He aquí algunos:

Mecánicamente, se evita dicho enrollamiento superponiendo a la pieza, suavemente y mientras se corta, un pincel ancho y flexible. La navaja pasa entonces por debajo de éste y el corte queda plano.

Se aconseja también tallar en prisma triangular, de arista aguda anterior, el bloque de parafina; con lo que, si el corte se arrolla en espiral, podrá aplanarse a un suave calor en el porta-

objetos, teniendo la precaución de poner el lado ancho y la base de la espiral hacia abajo.

El proceder de Strasser, que consiste en mojar antes de cortar la superficie del bloque con parafina blanda derretida, da buen resultado. Otros aconsejan mojar el bloque en agua caliente o templar con el aliento.

Procedimiento mixto. — Cuando la naturaleza del objeto exija la inclusión y no consienta el método colorante a emplear, el uso de la celoidina o la parafina, se hace una inclusión en una disolución acuosa de gelatina al 10 por 100, o de agar al 2 por 100, en estufa; después se solidifica por enfriamiento, como la parafina, y se corta con el microtomo de congelación (véanse los métodos de Apathy, Gaskell y Heringa en libros especiales de técnica).

Seriación y montaje de los cortes en portaobjetos. — *Cortes a la celoidina.* — Los cortes a la celoidina podrán serriarse con sólo recogerlos en una sucesión ordenada de pocillos de porcelana, como los que utilizan los acuarelistas. En cada pocillo sufrirá el corte todas las operaciones de teñido, lavado, deshidratación, aclaración, etc., sin confusión alguna, con tal que los pocillos estén numerados.

Cuando los cortes sean pocos, no hace falta utilizar ningún procedimiento de adherencia al portaobjetos. Teñidos, deshidratados y aclarados, se lubrican en una gota de bálsamo y se cubren con una laminilla.

Pero si los cortes son pequeños y numerosos y se desea montarlos ordenadamente en un solo portaobjetos, cabrá utilizar el artificio siguiente: aclarados y ordenados convenientemente sobre el cristal, se mojan con bálsamo al xilol, a poca concentración; cuando, transcurrido un cuarto de hora, la capa de fijativo esté casi seca (debe cubrir los cortes), ya no habrá inconveniente en proteger el preparado con el cubreobjetos lubricado en bálsamo ordinario. La presión de la laminilla no desarreglará las secciones, porque el nuevo líquido conservador será incapaz de reblandecer instantáneamente la costra de fijativo.

Otro expediente bastante aceptable es trasladar los cortes

a medida que se obtienen al portaobjetos, cuidando de mantenerlos húmedos en el alcohol de 36°. Luego se deshidratan una sola vez con alcohol absoluto (sobre el mismo porta) y se aclaran con esencia de orégano, que se quita con xilol. Al cubrir la preparación con una laminilla untada de bálsamo, las series no se desarreglarán, porque el alcohol absoluto, reblandeciendo la celoidina, mantiene adherentes los cortes al cristal. Las esencias, solidificando la celoidina, aumentan la adhesión.

Para series largas y cuidadosas debe preferirse el método de Weigter, a saber:

1.º Conforme se obtienen los cortes se van colocando, empapados en alcohol de 70 por 100, sobre una hoja de papel *closet*, donde a prevención tendremos marcado el comienzo de la serie.

2.º El papel (siempre húmedo con alcohol flojo) con los cortes hacia abajo, se coloca sobre una lámina de cristal colodionada, como las que emplean los fotógrafos para dar el brillo; se aprieta el papel sobre el colodión y los cortes se adhieren en cuanto aquél se despegas.

3.º El cristal y los cortes (que no deben secarse) se cubrirán de una nueva capa de colodión, la cual se dejará evaporar durante algunos minutos.

4.º Puestos los cristales en el agua (antes de secarse el colodión) se desprenderá fácilmente la película del colodión con todos los cortes seriados, pudiéndose ya con toda seguridad ejecutar en ella, como si se tratase de un solo corte, todas las operaciones ulteriores de coloración, deshidratación, aclaramiento y montaje. La esencia para aclarar será la creosota, que transparenta mucho y no ataca a la celoidina.

Cortes a la parafina. — Con los microtomos automáticos llamados de Minot, y de báscula (Leitz, Reichert, etc.), se obtienen fácilmente, si la parafina posee la debida consistencia, cintas de cortes.

Para sujetar en el portaobjetos tanto los cortes aislados como los trozos de cinta, se comienza por llevarlos a la superficie de una masa de agua, a la temperatura de 40 a 45°, donde se extienden; después se introduce en el agua, por debajo de

los cortes que se quieren utilizar, un portaobjetos bien limpio (sin grasa) y por medio de agujas se colocan los cortes en la situación debida, extrayéndose en seguida el porta con los cortes por deslizamiento oblicuo. Se secan por debajo los portas y se colocan en una estufa de 37° unas horas, para que se evapore el agua, con lo que los cortes, por regla general, habrán quedado pegados, pudiendo sufrir todas las operaciones ulteriores sin desprenderse.

Para asegurar más la adherencia de los cortes al vidrio se pueden utilizar los líquidos de *Mayer* y de *Schallibaum*. El primero consiste en la mezcla de partes iguales de clara de huevo fresco y glicerina pura, a la que se añade, después de filtrar, unos cristales de timol; el segundo, la mezcla de una parte de colodión normal con tres de esencia de clavo. Se extiende una ligera capa del líquido sobre el vidrio y después se colocan los cortes, se los comprime con un pincel y se calientan hasta coagular la albúmina o evaporar el disolvente del colodión.

B. — SECCIONES EN TEJIDOS DUROS

El hueso y el diente, así como el cartilago en vías de osificación, pueden seccionarse, ya en su estado natural, ya previo reblandecimiento, por los reactivos ablandantes o decalcificantes.

La obtención de cortes del diente y hueso con su consistencia natural lógrase utilizando un procedimiento análogo al usado por los petrógrafos para la sección de las rocas.

He aquí el *modus operandi* en el hueso:

1.º Obtención con la sierra pelo de relojero de un corte grosero que comprenda, a ser posible, todo el espesor de la diáfisis de un hueso largo (radio, cúbito, fémur).

2.º Sobre una piedra arenisca o rueda de vaciador se desbasta el corte por ambas caras, hasta que presente un espesor de menos de medio milímetro.

3.º El corte se lleva a una piedra fina de afilar, como la usada por los peluqueros, en la cual y mojada con alcohol se pule y adelgaza hasta que resulte transparente.

4.º Lávase el corte en alcohol limpio y se deja secar sobre papel chupón.

Del mismo modo se harán los cortes de diente, con tal de que no interesen el esmalte, tejido que raya el acero. Los cortes longitudinales (que comprenden, naturalmente, la costra adamantina) no pueden practicarse con la sierra, por lo cual nos vemos obligados a desgastar pacientemente el diente entero en la rueda de afilador hasta obtener una lámina delgada, que acabará por afinarse y pulirse sobre una piedra fina de peluquero. Para evitar el desgaste de los dedos durante las maniobras citadas, algunos operadores pegan previamente la pieza con bálsamo del Canadá seco a un mango de madera.

MÉTODO DE LAS COLORACIONES

CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA DE LA COLORACIÓN HISTOLÓGICA. — Al modo de la tintura industrial de fibras textiles, la coloración de los cortes histológicos fúndase en la afinidad que para determinados colores poseen los diversos factores integrantes de la célula y substancias intercelulares.

Distinguen los autores dos maneras generales de teñido: 1.ª La coloración llamada *directa* o *substantiva*, en la cual intervienen solamente *dos cuerpos*; a saber: el tejido y el color, combinándose o entremezclándose de suerte que la materia colorante quede más o menos sólidamente fijada y resista impunemente la acción de sus disolventes. 2.ª La coloración *indirecta* o *adjetiva*, en la cual cooperan *tres cuerpos*; esto es: el *tejido*, el *mordiente* y la *materia tintórea*. En este proceso, llamado por Heindenhin *pigmentación*, el mordiente se combina por un lado con el tejido y por el otro con el color, constituyendo una *laca* o compuesto insoluble en agua. Ejemplo de coloración substantiva es el teñido de los núcleos por un color de anilina.

Las coloraciones adjetivas empleadas en la técnica histológica son numerosísimas, siendo los mordientes más usados con los colores ácidos, los alumbres, los sulfatos de hierro, los

acetatos, los compuestos de plomo y el tártaro emético, y con los básicos, el tanino y los colores ácidos, como ácido pícrico (tinitrofenol). Los mordientes se pueden hacer actuar sobre el tejido antes que el color (hematoxilina al hierro, de Heindenhain), al mismo tiempo (las numerosas hematoxilinas al alumbre ordinario) o después (hematoxilina al bicromato, de Hermann).

Sobre el mecanismo de la *coloración adjetiva* no hay duda posible. Trátase de la formación de un compuesto tintóreo insoluble, resultante de la combinación del color con el mordiente. El punto todavía discutible consiste en decidir si el mordiente se fija en los materiales proteicos mediante combinación química selectiva o más bien en virtud de un fenómeno físico de inhibición o absorción.

En cuanto al mecanismo íntimo de la *coloración substantiva o directa*, es una cuestión oscura, sobre la cual distan mucho los técnicos de ponerse de acuerdo. Quiénes defienden la *teoría química*, estimando que el agente tintóreo se combina con las diversas partes de las células constituyendo sales coloreadas. En tal supuesto, explicaría fácilmente la selección del color, invocando la diferente composición de los materiales proteicos integrantes del núcleo, protoplasma y sustancias amorfas. Quiénes defienden *teorías físicas*, comparando la coloración a un acto de absorción o de imbibición de los coloides protoplasmáticos, o identificándola, según propone Wit, con el fenómeno de las *soluciones sólidas* de que nos habla la moderna químico-física.

Estas incertidumbres acerca del mecanismo de la coloración substantiva (y en parte también de la adjetiva) imponen una gran prudencia en la interpretación de la naturaleza química de las partes coloreables de la célula. Sin duda que, en muchos casos, la coloración enérgica y exclusiva de un factor histológico, mediante un tinte básico o ácido, denota la existencia de una sustancia química especial; pero, en general, el histólogo considerará simplemente los métodos colorantes como recursos encaminados a diferenciar y destacar la estructura o constitución morfológica de las tramas orgánicas. Para

el micrografo, pues, el agente tintóreo debe ser algo así como un escalpelo óptico, cuya finalidad consiste en disociar o diferenciar, mediante fenómenos de absorción cromática, la complicada urdimbre de células y tejidos.

El proceso de la coloración se facilita notablemente por la fijación; es decir, por el empleo de sustancias coagulantes de los albuminoides (formol, sublimado, ácido tricloracético, ácido crómico, alcohol metílico y etílico, etc.).

Prescindiendo del mecanismo de la coloración, y atendiendo no más al tratamiento ulterior de los preparados teñidos, aquélla se distingue, según nota Heidenhain, en *progresiva* y *regresiva*. Designase *progresiva* cuando el tejido adquiere lenta y progresivamente el grado de color necesario, sin exigir ulterior operación de desteñido; por ejemplo: la coloración en el baño de hemateína amoniacal o en el carmín aluminoso. *Regresivas* son aquellas en que el objeto, sobrecolorado por la excesiva concentración del agente tintorial, debe sufrir la acción de un disolvente de éste, disolvente cumplidor en este caso de dos fines esenciales: descartar el exceso de materia colorante y *diferenciar*; es decir, respetar el teñido de determinadas partes del preparado. Los reactivos decolorantes o diferenciadores más comúnmente usado son: las *substancias alcalinas* (sosa, potasa, aceite de anilina, etc.); los *alcoholes* (el etílico y el metílico); ciertos *ácidos*, como el sulfúrico, clorhídrico, nítrico, acético, pícrico, oxálico, etc.; determinados *oxidantes* (permanganato potásico, ferricianuro potásico, etc.); algunos *reductores* enérgicos (hidroquinona, ácido pirogálico, ácido fórmico, el formol); ciertas *sales metálicas* de acción mordiente (alumbre de hierro, percloruro férrico, yoduro potásico), y, en fin, *meta-loides*, como el yodo, el bromo, etc.

Algunas de estas sustancias se emplean para acentuar las coloraciones, sin ser verdaderos mordientes, porque no entran en la combinación del tejido y el color; entre las básicas tenemos la potasa, el borax, la anilina, la pirídina, etc., y entre las ácidas, los ácidos acético, oxálico y el fenol.

La mayor parte de las coloraciones se aplican en cortes o tejidos disociados; pero no deja de ofrecer ventajas en ocasic-

nes los teñidos *en masa*, introduciendo en el colorante un trocito de tejido ya fijado, que después de teñido se corta o disocia, según los casos.

Los métodos de coloración pueden ser clasificados en generales y especiales; los primeros, basados en el teñido intenso de los núcleos y débil el protoplasma, o en la fuerte coloración de ambas partes con colores distintos, sumándose en ocasiones tono diverso para el conectivo, que constituye el armazón de casi todos los órganos, permiten obtener una clara idea del conjunto (forma celular, situación, forma y estructura de los núcleos, modo de agrupación de las células, etc.); en tanto que los segundos, extraordinariamente selectivos, sólo se aplican cuando se intenta estudiar las particularidades que tiñen de modo casi exclusivo. En esta parte sólo daremos cuenta de los métodos generales, dejando los otros para la técnica especial de cada tejido u órgano; entre los generales, por la índole de este tratado, sólo expondremos aquellos que creamos deben ser aconsejados; en los tratados especiales de técnica podrá encontrar el lector otros muchos.

MÉTODOS GENERALES EN QUE SE EMPLEAN COLORANTES ORGÁNICOS

Carmin y eosina.

1.º Los cortes lavados en agua destilada se abandonan por seis a veinticuatro horas en el carmin aluminoso de Grenacher o en la solución de cochinilla de Czokor.

2.º Lavado en agua para extraer el exceso de color.

3.º Llévense los cortes a una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.º Nuevo lavado en agua.

5.º Deshidrataciones en alcohol.

6.º Aclaramiento en esencia de clavos (1), donde se disolverá la celoidina. Si por tener el corte muchas cavidades no conviniese extraer la celoidina, se conservará ésta aclarando con la creosota.

7.º Montaje en bálsamo o resina damar.

(1) Cabe usar también como disolvente de la celoidina el alcohol metílico. En este caso el aclaramiento se hace después.

Hematoxilina y eosina:

1.º Los cortes, recién extraídos del agua se sumergen en un pocillo de porcelana que contenga cierta cantidad de hematoxilina de Bömer o de Ehrlich o de Delafield, etc. Aquí permanecerán de dos a diez minutos, durante los cuales se agitarán, a fin de que el teñido resulte por igual. Evítense los pliegues de los cortes.

En ocasiones convendrá, para que el teñido sea más lento y manejable, diluir la hematoxilina en el doble o triple de agua destilada.

2.º Lavado de los cortes en agua abundante. Si la coloración con la hematoxilina resultase demasiado intensa, puede rebajarse con un ácido muy diluido, por ejemplo, unas gotas de ácido acético o mejor clorhídrico en bastante cantidad de agua; lávese mucho después de haber obtenido la intensidad apetecida.

3.º Traslación de los mismos a una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.º Deshidratación en alcohol, aclaramiento en esencia de clavos y bálsamo. Los núcleos y el cartílago resultan azules; los protoplasmas, conectivos, etc., rojos de distintas tonalidades.

Hematoxilina ferruginosa de M. Heindenhein.

Para colorar en negro los núcleos y en gris los centrosomas del protoplasma, aconseja este autor el siguiente método (fijación en sublimado):

1.º Los cortes de tejidos encastrados en parafina se sumergen por una o varias horas en una solución al 2 ó 3 por 100 de alumbre de hierro. Importa que no pasen los cortes de 5 μ , si se desea teñir los centrosomas. Fijados con agua destilada al portaobjetos, se someterán a la acción de los baños ulteriores (a este propósito serán muy útiles los cristalizadores cuadrados provistos de ranuras).

2.º Lavado rápido en agua destilada para quitar el exceso de mordiente.

3.º Inmersión por media o varias horas en una solución acuosa de hematoxilina al 1 por 100 (1 hem., 10 alc., 90 agua). Esta solución de hematoxilina debe estar preparada con antelación (tres o cuatro semanas) y ofrecerá tono amarillo o rojizo. Al usarse podrá diluirse en su mitad de agua. El teñido de los centrosomas exige seis a doce horas de acción.

4.º Lavado por algunos minutos en un exceso de mordiente, es decir, en el mismo licor ferruginoso antes citado, en el cual el color negro irá desapareciendo paulatinamente hasta que los cortes tomen un tono gris.

5.º Inmersión en agua destilada para eliminar el mordiente.

6.º Deshidratación, aclaramiento y montaje en bálsamo.

Los núcleos aparecen teñidos de negro o gris oscuro, y los protoplasmas de moreno más o menos claros, según el tiempo de acción del mordiente.

Este método puede combinarse con la coloración de fondo del método

de Gieson, es decir, con la picrofuchina, obteniéndose espléndidas coloraciones rojas del tejido conectivo. Para ello no hay más que sumergir los cortes en este reactivo, después de efectuado el lavado que sigue a la decoloración.

Hematoxilina de Mallory, al ácido fosfomolibdico.

1.º Cortes obtenidos por congelación o de cualquiera otra manera de piezas fijadas, sobre todo en líquido de Müller, son bañados durante un minuto en este líquido:

| | |
|--------------------------------|-----|
| Agua | 100 |
| Ácido fosfomolibdico | 10 |

2.º Lavado rápido en agua común.

3.º Coloración, desde veinte minutos a una hora, en la siguiente solución, que deberá estar hecha cuatro o cinco semanas antes y guardarse a la luz:

| | | |
|--|------|-----|
| Ácido fosfomolibdico al 10 por 100 | 10 | cc. |
| Hematoxilina | 1,75 | g. |
| Agua | 200 | cc. |
| Ácido fénico | 5 | g. |

4.º Lavado dos o tres veces, durante veinte minutos, en alcohol al 50 por 100.

5.º Deshidratación, xilol, etc.

Las fibras colágenas aparecen azules y bien teñidos los núcleos.

Hematoxilina de Mallory al ácido fosfotúngstico.

1.º Fijación en líquido de Zenker, veinticuatro horas.

2.º Lavado en agua corriente, veinticuatro horas.

3.º Alcohol e inclusión en parafina o celoidina. Cortes.

4.º Disolución alcohólica de yodo (0,5 por 100), cinco a diez minutos para quitar los cristales de sublimado.

5.º Alcohol 95 por 100, varias veces, para arrastrar el yodo.

6.º Lavado en agua.

7.º Disolución de permanganato potásico en agua al 0,25 por 100, de tres a veinte minutos.

8.º Lavado.

9.º Disolución acuosa de ácido oxálico al 5 por 100, de cinco a diez minutos o más.

10. Lavado abundante.

11. Teñido, de doce a veinticuatro horas, en la siguiente fórmula:

| | | |
|---|-----|-----|
| Hemateína | 0,1 | g. |
| Agua destilada | 100 | cc. |
| Cristales de ácido fosfotúngstico (Merck) | 2 | g. |

Disuélvase la hemateína en una poca agua, por el calor, y después de enfriada, se añade al resto. Tarda unas semanas en madurar, pero se puede acelerar, añadiendo 5 cc. de la disolución acuosa de permanganato potásico al 0,25 por 100. Si en vez de hemateína se usa hematoxilina, se añaden 10 cc. de la disolución de permanganato.

12. Directamente al alcohol, que no debe actuar mucho, para que no disminuya el contraste.

13. Xilol. Bálsamo.

Si las piezas fueron fijadas en formol, los cortes deben ser tratados, en primer término, unos veinte minutos por líquido de Zenker.

Es un método excelente, que, además de teñir los núcleos, colorea con tonalidades diversas la fibrina, las tonofibrillas, la fibroglia, neuroglia, mio-
glia y otras estructuras celulares.

Coloración triple de van Giesson.

Los cortes fuertemente teñidos en una solución de hematoxilina madura se colocan, por algunos minutos, en una solución saturada de ácido pícrico que contenga una pequeña cantidad de fuchina ácida (agua saturada de ácido pícrico, 100; fuchina ácida, 0,1). Los cortes se llevan después al alcohol, donde se deshidratan, se aclaran en esencia de clavos y se montan en damar. Los núcleos aparecerán violados, amarillos los epitelios y rojos los haces conjuntivos.

Método de triple coloración con la fuchina o magenta, el ácido picrico y el carmín de índigo (Cajal).

1.º Los cortes se sumergen, durante cinco a diez minutos, en una solución saturada o muy concentrada de rojo magenta (fuchina roja ordinaria). Es de recomendar la fuchina fenicada de los bacteriólogos.

2.º Lavado rápido en agua abundante para arrastrar el exceso de color.

3.º Imbibición, por cinco o diez minutos, en la siguiente solución: agua saturada de ácido pícrico, 100; carmín de índigo, 0,25.

4.º Lavado rápido en agua acética (en un pocillo de porcelana lleno de agua, se echan dos o tres gotas de ácido acético).

5.º Lavado durante medio minuto o más en agua común para arrastrar el exceso de ácido pícrico.

6.º Decoloración en alcohol absoluto hasta que los cortes hayan desprendido el exceso de magenta, lo que se conocerá en el color violado general adquirido por aquéllos.

7.º Aclaramiento en xilol o bergamota.

8.º Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Es éste, sin disputa, uno de los métodos más apropiados para teñir todos los órganos que contienen epitelios y trama conectiva. Los núcleos aparecen impregnados enérgicamente en rojo vivo; los protoplasmas exhi-

ben una tinta verde-clara o rosáceo-amarillenta, y los haces conjuntivos se presentan de azul puro intensísimo. Tiene además este método la ventaja de la facilidad y rapidez de ejecución, así como de la perfecta conservación de las preparaciones.

En general, el ácido pícrico goza de la propiedad de transformar todo color soluble en las soluciones de aquél en un excelente reactivo de la substancia colágena. Hasta la misma hematoxilina de Weigert-Pal, asociada al ácido pícrico en saturación, se convierte en un reactivo acidófilo, que tiñe la colágena de violado azul.

En Alemania se ha propuesto también una modificación, que consiste en invertir las operaciones, es decir, teñir primeramente con el carmín de índigo pícrico, diferenciar con el acético y terminar por la coloración en fuchina. Procediendo así, se corre menos riesgo de que los núcleos palidezcan.

C. Calleja ha modificado todavía este método utilizando para el teñido nuclear el carmín de Orth o el aluminoso. La coloración roja resulta así muy estable. Gallego ha hecho también modificaciones, de que nos ocupamos en la técnica del tejido conectivo.

Fuchina ácida, azul de anilina, de Mallory:

- 1.º Fijación en líquido de Zenker. Cortes a la parafina o celoidina.
- 2.º Teñido en disolución acuosa de fuchina ácida al 0,5 por 100, cinco a diez minutos o más, según el estado de los tejidos.
- 3.º Los cortes son llevados directamente, o después de un rápido lavado en agua, a la siguiente disolución:

| | |
|--|---------|
| Azul de anilina soluble en agua (Grübler) | 0,5 g. |
| Orange G. (Grübler) | 2 » |
| Disolución acuosa de ácido fosfomolibdico al 1 por 100. | 100 cc. |

- 4.º Lavado ligero.
- 5.º Deshidratación, xilol, bálsamo.

Fibras colágenas, reticulina, materia amiloide, moco y formaciones hialinas, azules; núcleos, citoplasma, fibroglia, axones, fibras neuróglícas, fibrina, rojos de distinta intensidad; hematíes, vainas mielínicas amarillas, fibras elásticas, rojo pálido o amarillo.

Azan. — Modificación de Heindenhain al método anterior de Mallory:

- 1.º Fijación de preferencia en fórmulas, con sublimado, entre ellas el líquido *Susa*, del mismo Heindenhain.
- 2.º Cortes a la parafina.
- 3.º Coloración en una disolución acuosa de azocarmin GX (Badische Anilin und Sodafabrik. Ludwigshafen) al 2 por 100, una hora o más, a 58º.

El líquido turbio, por el color incompletamente disuelto, se vuelve transparente en la estufa.

4.º Diferenciación en anilina al 1 por 100 en alcohol de 96 por 100, hasta que destaquen los núcleos. Se puede acelerar añadiendo gotas de agua destilada.

5.º Se inspecciona la diferenciación al microscopio en un baño de ácido acético al 1 por 100 en alcohol de 96 por 100.

6.º Disolución acuosa de ácido fosfotúngstico al 5 por 100, como mordiente y decolorador del conectivo de media a tres horas, cambiando alguna vez el líquido.

7.º Lavado en agua destilada.

8.º Coloración en el líquido de Mayory modificado, de una a tres horas.

| | |
|---|--------|
| Azul anilina soluble en agua (Grübler). | 0,5 g. |
| Orange G. (Grübler). | 2 » |
| Acido acético | 8 cc. |
| Agua destilada | 100 » |

Al usarlo se mezcla una parte del colorante con dos de agua destilada.

9.º Lavado ligero

10. Alcohol (donde se diferencia algo), xilol, bálsamo.

Proporciona resultados semejantes al de Mallory.

También pueden utilizarse como métodos generales los de Romanowsky, Giemsa, May-Grünwal, Unna, Papenheim, etc., que serán descritos en la técnica de la sangre.

Métodos generales en que se emplean sales metálicas (de impregnación). — Entre los numerosos métodos de coloración por impregnación que se han ideado para el teñido del sistema nervioso y serán detallados en la técnica especial de este tejido, las modificaciones del método de Bialschowsky imaginadas por varios investigadores y a la cabeza de las cuales figura la fundamental de Achúcarro, proporcionan preciosas imágenes de conjunto de los tejidos, merced a la distinta intensidad con que se deposita el coloide de plata.

En todos ellos debe prescindirse de agujas y espátulas metálicas, que alteran los reactivos impregnadores, empleándose exclusivamente utensilios de vidrio.

Método tanoargéntico de Achúcarro (1911-1912). — Este proceder, descrito por el malogrado sabio para el estudio de la neuroglia y tejido conectivo, es de una aplicación bastante general, como han probado los estudios de Tello, Río-Hortega, Calandre, Ranke, Havet, Sacristán, Fortún, Fañanás y otros muchos autores nacionales y extranjeros.

He aquí la última fórmula expuesta por Achúcarro:

Fijado. — Trozos de un espesor que no exceda de 2 ó 3 mm.; se man-

tendrán durante dos a tres días en formol al 20 por 100, al que se haya añadido el amoníaco necesario para obtener reacción alcalina con el papel de tornasol.

Secciones. — No deben exceder de 10 μ de espesor.

Mordiente. — Se calientan los cortes, bien extendidos, en una solución acuosa de tanino puro al 10 por 100, durante diez minutos, no permitiendo la formación de burbujas (1).

Lavado. — Después de enfriado el líquido mordiente, se lavan los cortes en agua destilada con un par de gotas de amoníaco, hasta que recuperen su flexibilidad perdida en el baño del mordiente.

Impregnación. — Se lleva a cabo en una solución de plata amoniacal (según Bielschowsky) muy diluída (tres o cuatro gotas de la solución que resulta al disolver el precipitado con amoníaco en 10 cc. de agua destilada); y cuando el tejido empieza a teñirse en amarillo tostado se da por terminada la impregnación.

La fórmula del licor argéntico amoniacal de Bielschowsky (2), es:

| | |
|---|----------|
| Solución de nitrato de plata al 10 por 100 | 5 cc. |
| Solución de sosa cáustica al 40 por 100 | 5 gotas. |
| (Lávese el precipitado en agua abundante.) | |
| Amoníaco, cantidad suficiente para disolver el precipitado. | |
| Agua destilada, hasta completar. | 25 cc. |

Reducción. — Se efectúa en el formol amoniacal preparado como para el líquido fijador, y dura cinco minutos.

Método de Achúcarro modificado por Rio-Hortega (1916). — Este autor ha descrito con el nombre de *primera variante del método de Achúcarro* la siguiente fórmula, en que se prescinde de la reducción fórmolica y se refuerza, en cambio, el teñido por medio del cloruro de oro, ofreciendo la ventaja de impregnar muy intensa y finamente multitud de estructuras intracelulares (centrosoma, mitocondrias epitelio-fibrillas, gliofibrillas, etc.).

(1) Como prueba de la enorme diferencia de resultados obtenidos, a poco que se modifique el modo de empleo de los reactivos, se modifiquen los fijadores o la manera de ejecutar los cortes, recordaremos que ya en 1900 propusimos nosotros el tanino como mordiente de los cortes, seguido del uso del nitrato de plata amoniacal. En esta fórmula en cuyos detalles no podemos entrar, sólo se tiñen los axones y jamás el tejido conectivo ni la neuroglia. (Véase Caja: «Pequeñas comunicaciones técnicas», *Rev. trim. micrográfica*, tomo V, 1900).

(2) El primer autor que empleó el *óxido de plata amoniacal* (cortes por congelación) para el estudio del sistema nervioso, así como la reducción en formol al 25 por 100, fué Fajersztajn. (*Eine neues Silberimprägnation verfahren als Mittel zur Färbung der Axencylinder. Neurol. Centralblatt* 1.º Febrero 1901.)

El *nitrato de plata amoniacal*, también usado por Fajersztajn, fué primeramente utilizado por nosotros para la impregnación de las terminaciones nerviosas motrices. (Véase *Observaciones microscópicas sobre las terminaciones nerviosas en los músculos voluntarios de la rana*. Zaragoza, 1881). Este antecedente fué desconocido, tanto por el autor citado como por Bielschowsky.

- 1.º Fijación, durante diez días como mínimo, en formol al 10 por 100.
- 2.º Los cortes obtenidos por congelación se tratan por solución acuosa de tanino al 3 por 100, sometiéndolos a una temperatura de 50º a 55º durante cinco minutos. Para ello podrá usarse de la lámpara de alcohol puesta a cierta distancia; la cápsula de porcelana con los cortes se apoyará sobre unas trébedes, encima de las cuales se interpondrá un cartón de amianto.
- 3.º Los cortes son lavados en 20 cc. de agua destilada con cuatro gotas de amoniaco, hasta que recobren la flexibilidad y transparencia perdidas.
- 4.º Se pasan sucesivamente por tres pocillos o pequeños cristalizadores que contengan 10 cc. de agua y un centímetro cúbico de la solución de óxido de plata amoniacal (1).
- 5.º Los cortes, que habrán adquirido un color amarillo tostado, se lavan con agua destilada.
- 6.º Se sumergen en solución de cloruro de oro al 1 por 500, manteniéndolos, durante veinte a treinta minutos, en estufa a 40º ó 45º.
- 7.º Con o sin lavado previo, se fijan en hiposulfito de sosa al 5 por 100.
- 8.º Lavado en agua abundante.

Método de Rio-Hortega al carbonato de plata:

- 1.º Fijación en formalina al 10 por 100, formol bromurado, etc., desde veinticuatro horas en adelante. En material antiguo los resultados son excelentes.
- 2.º Secciones por congelación. La inclusión en celoidina o en gelatina puede dar buenos resultados en algunos casos. La parafina es menos recomendable.
- 3.º Lavado de los cortes tres veces por lo menos en agua abundante para eliminar todo vestigio de formol.
- 4.º Impregnación en

| | |
|---|-------|
| Solución de nitrato de plata al 10 por 100. | 5 cc. |
| Idem de carbonato de sosa al 5 por 100 | 15 » |
| Amoniaco, c. s. para disolver el precipitado. | |
| Agua destilada | 55 » |

Pónganse 10 cc. en un vasito de vidrio; añádanse tres gotas de piridina; sumérjanse los cortes y caliéntese a unos 50º hasta que se tiñan de color tabaco rojizo. El vaso debe permanecer cubierto con un vidrio de reloj.

En lugar de la disolución amoniacal de plata preparada con el carbo-

(1) Este líquido se prepara precipitando primero 30 cc. de solución de nitrato de plata al 1 por 100 por 40 [gotas de sosa al 40 por 100. Se añaden 50 cc. de agua destilada y se procede a disolver el óxido argéntico mediante el amoniaco, que deberá verterse poco a poco, agitando con una varilla de cristal. Se procurará que no haya exceso de álcali, o de haberlo, que sea insignificante. Se completa con agua destilada un volumen de 150 cc. y se guarda el líquido en frasco amarillo antifotogénico o en la oscuridad.

nato se puede emplear el licor de Bielschowsky, en iguales condiciones de concentración y temperatura.

- 5.º Lavado de quince a treinta segundos en agua destilada.
- 6.º Reducción en formol del 1 al 10 por 100.
- 7.º Virado en cloruro de oro al 1 por 500, algunos minutos en frío y después a 40º, hasta que las secciones adquieran color purpúreo oscuro.
- 8.º Fijación en hiposulfito de sosa del 5 al 15 por 100.
- 9.º Lavado, deshidratación y montaje.

Modificación de Cajal al método de Bielschowsky:

- 1.º Fijación de dos o tres días a un mes en la mezcla formol-bromuro.

| | |
|--|---------|
| Agua destilada | 100 cc. |
| Formalina (Merck o Kahlbaum) | 15 » |
| Bromuro de amonio. | 2 g. |

2.º Los cortes por congelación, que deben medir 25 a 35 micras, se recogen y conservan en el mismo líquido fijador.

- 3.º Refuerzo de cuatro o más horas en frío y mejor en estufa en

| | |
|----------------------------|--------|
| Agua destilada | 70 cc. |
| Formalina neutra | 30 » |

4.º Tras tres rápidos lavados en agua destilada abundante para descartar el exceso de formol-bromuro, se sumergen en

| | |
|------------------------------------|---------------|
| Agua destilada | 10 a 12 cc. |
| Oxido de plata amoniacal | 10 » |
| Piridina pura | 7 a 10 gotas. |

Primero cinco a diez minutos en frío y después en caliente, hasta que tomen color tabaco.

El óxido de plata amoniacal se prepara precipitando 20 cc. de la disolución de nitrato de plata al 10 por 100 con 22 gotas de sosa al 40 por 100, lavando varias veces en agua destilada y añadiendo después 120 cc. de agua dulce y 4 cc. de amoníaco.

5.º Calientes todavía los cortes, se lavan rápidamente en mucha agua y se sumergen en formalina al 5 por 100.

- 6.º Lavado en agua común abundante.

7.º Virado en cloruro de oro amarillo al 1 por 500 durante unas horas en frío o diez a veinticinco minutos a 37º.

8.º Fijación en hiposulfito de sosa al 6 por 100 con algunos centímetros cúbicos de alcohol.

- 9.º Nuevo lavado, deshidratación, aclaramiento. Bálsamo.

Coloraciones en masa. — Casi todos los métodos descritos hasta ahora se aplican de preferencia en los cortes; pero hay métodos que serán descritos en la parte especial, que sólo proporcionan buenos resultados cuando las reacciones colorantes tienen lugar en el espesor de los tejidos antes de ser cortados (métodos de Golgi, Cajal etc., etc.). Por otra parte, aun en los casos en que podemos elegir, en investigaciones embriológicas, y en todos los casos en que se necesite obtener series enteras con los cortes de un trozo, se facilita extraordinariamente el trabajo tiñendo antes de cortar. La coloración en cortes tiene, por el contrario, la ventaja de poder aplicar muchos más colorantes y vigilar la obtención del tono debido.

Para las coloraciones en masa se utilizan, sobre todo, distintas fórmulas de carmín y hematoxilina, haciéndolas actuar veinticuatro horas. Entre las fórmulas con carmín, el carmín lítico de Orth tiene la desventaja de macerar algo las piezas pequeñas por su alcalinidad, debiendo preferirse el paracarmín y el carmalumbre de Mayer. Romeis aconseja especialmente el

Carmin borácico de alcohol:

4 g. de borax y 2 a 3 g. de carmín son triturados en un mortero; se disuelven en 93 cc. de agua destilada y se añaden 100 cc. de alcohol de 70 por 100; después de agitar con frecuencia durante veinticuatro horas, se decanta y se filtra.

Trozos de 0,5 a un centímetro, fijados de preferencia en sublimado y lavados en alcohol de 70 por 100, son mantenidos en el líquido veinticuatro horas; después se introducen sin lavado previo en alcohol de 70 por 100 con 0,5 a 1 por 100 de ácido clorhídrico hasta que no suelten más color (veinticuatro horas o más). Alcohol de 70 por 100 y sucesivos hasta incluir.

Las fórmulas de hematoxilina al alumbre ordinario de Böhmer, Ehrlich, Hansen, etc., dan también excelentes coloraciones, actuando veinticuatro a cuarenta y ocho horas y diluyendo según la intensidad de la madurez. Las fórmulas de R. Heidenhain y O. Schultze al cromato potásico y ácido ósmico, respectivamente, que se encontrarán en los tratados de técnica, están hechas especialmente para las coloraciones en masa.

Coloraciones vitales. — Todos los métodos de coloración expuestos anteriormente se aplican después de la fijación, es decir, a elementos muertos; los que nos ocupan ahora actúan sobre las células vivas, introduciendo las materias colorantes en el sistema circulatorio del animal vivo (coloración vital), o poniéndolas en contacto con las células todavía vivas de un animal recién muerto (coloración postvital).

Con colores básicos. — La coloración en vivo, mediante el azul de metileno (un azul especial suministrado por la casa Grübler, de Leipzig), de las fibras nerviosas fué descubierta por Ehrlich en 1886. Más adelante (1887) halló O. Schultze que el azul de metileno es susceptible de colorear también muchas granulaciones intraprotoplásmicas. En fin, el mismo Ehrlich propuso, en 1894, el rojo neutro como el color por excelencia para la coloración vital de los gránulos de muchos elementos; pero puede conseguirse también con otros colores, tales como la tionina, la dimetiltionina, el violeta de metileno, el azul de metilo, el violeta neutro, etc. En casos especiales úsase el Nilblau-sulfat, el violeta de metilo, la safranina y el azul de toluidina.

Nótese que todos los colores capaces de teñir en vivo pertenecen a la categoría de las anilinas básicas y muchos de ellos al llamado grupo colorante de Lauth (azul de metileno, tionina, azul de toluidina, etc.).

De ordinario empléanse estos colores en soluciones muy diluídas (de 1 por 250 a 300, hasta 1 por 100.000 o más), ingiriéndose en el organismo, ya por inyección subcutánea, ya por inyección intravenosa, ya, en fin, por inyección intersticial. Prefiérense al efecto pequeños animales (rana, ratón, cobaya, etc.). El examen, que se demora varias horas después de la inyección, practícase en fresco, poniendo en portaobjetos trozos pequeños, disociados, del tejido coloreado o en preparaciones fijadas y teñidas.

El mecanismo de la coloración vital no es bien conocido. De ordinario colaboran en el resultado procesos de oxidación y reducción. Así, el azul de metileno redúcese en presencia de la alcalinidad de los tejidos, convirtiéndose en leucobase inco-

lora, que se reoxida en contacto del aire; el color se restablece con selección, es decir, precisamente en determinados puntos de las células o de las fibras nerviosas. La selección suele operarse de estas dos maneras: directamente, es decir, por imbibición de la partícula viva exenta de capacidad reductriz, e indirectamente, o sea por fijación tardía del color, previamente convertido en leucobase y regenerado en contacto del aire.

Los citados colores, y muy singularmente el rojo neutro, aprovechanse para revelar en las células vivas de muchos tejidos, y singularmente en los epitelios, glándulas, corpúsculos sanguíneos y conjuntivos, etc., diversos tipos de finos gránulos, así como cavidades vacuoladas e inclusiones.

El método de Ehrlich para la coloración de las células y fibras nerviosas a base del azul de metileno será expuesto en la técnica del sistema nervioso.

Con colores ácidos. — Los colores más usados son el litio carmín (5 por 100 en una disolución saturada de carbonato de litina), y el *trypanblau* (al 1 por 100). Después de repetidas inyecciones de cantidades variables, según el animal y el colorante, o de hacer vivir los animales acuáticos en agua con el color, se les sacrifica y se extraen los órganos, que se fijan de preferencia en formol o en sublimado (cuidando la acción del yodo en la extracción del sublimado excedente), y se cortan y tiñen con las técnicas corrientes.

Los colores se encuentran depositados en forma de granulaciones del color en todas las células del sistema retículoendotelial, las mismas que en general practican la fagocitosis de los elementos extraños que circulan en el medio interno.

INYECCIONES

Las inyecciones histológicas tienen por objeto hacer perceptibles los conductos vasculares y glandulares, mediante la introducción de materias coloradas coagulables.

En el arte de las inyecciones hay que estudiar dos cosas: las masas de inyección y los instrumentos inyectoros.

Masas de inyección. — Muchas son las propuestas, pero no todas reúnen las condiciones requeridas, que son: ser transparentes, fácilmente solubles y no trasudar de los vasos.

He aquí las dos fórmulas que dan mejores resultados:

Masa al carmín, según Ranvier. — Con dos gramos y medio de carmín y unas gotas de agua se hace una pasta, que se disolverá en la menor cantidad posible de amoníaco. Esta disolución se echa gota a gota en otra de 5 g. de gelatina, disuelta al calor en la cantidad de agua que esta substancia absorba durante algunas horas de hidratación. Hecha la mezcla, no falta más que neutralizar el exceso de amoníaco con una solución de ácido acético; la desaparición del olor amoniacal nos advertirá de la neutralización.

Masa al azul de Prusia. — En el comercio de objetos de micrografía se halla un azul de Prusia, que, a favor de largo tratamiento por el agua destilada, y en virtud de un cambio químico no bien dilucidado, se ha hecho perfectamente soluble en agua. De la solución acuosa saturada de este azul de Prusia se tomarán 6 ó 7 g., que se mezclarán con 5 g. de gelatina disuelta al calor en su agua de absorción.

La *tinta china* y el *nitrate de plata* suministran también masas de inyección aplicables a ciertos casos. Así, cuando se trata de inyectar el hígado, podrán llenarse las arterias con la masa de carmín, las venas con la masa de azul de Prusia y los conductos biliares con una solución de tinta china.

La demostración del endotelio de los capilares exige la inyección de los vasos con una solución de nitrate de plata al 1 por 300, adicionada o no de gelatina.

Instrumentos inyectoros. — Tales son las jeringas ordinarias usadas en las salas de disección, y las especialmente destinadas a inyecciones finas, construídas según las indicaciones de Robin, Ranvier, Lacaze-Duthiers, etc. Todos estos aparatos (que van provistos de los accesorios indispensables, tales como cánulas, tubos intermediarios con llave, mandrines), dan excelentes resultados, con tal que el operador adquiriera alguna habilidad.

En ciertos casos se preferirán los inyectoros de presión

continua, entre los cuales debe mencionarse el de Latteux (figura 64), que consiste en una bomba (A), de paredes resistentes, destinada a reservorio de aire, de la cual emergen cinco tubos: dos terminados en los frascos que contienen las masas de inyección E; uno que aloja el manómetro (A); otro que conduce

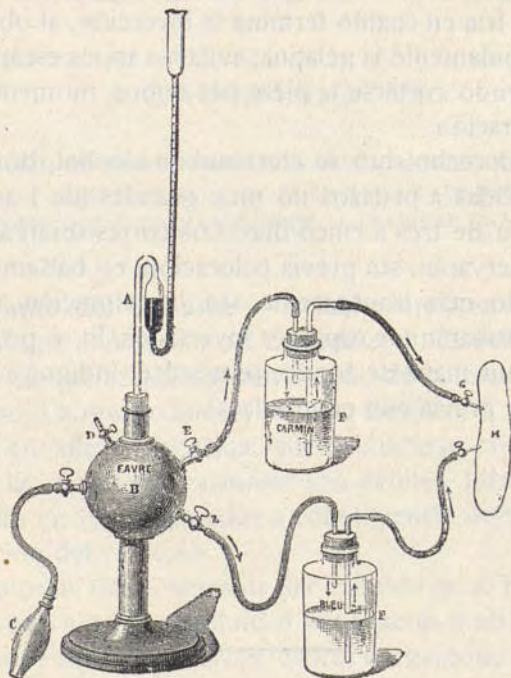


Fig. 64. — Aparato inyector de presión continua. B, reservorio de aire; A, manómetro; C, pera de caucho, donde se hace la presión; F, frascos con las masas de inyección, que se mantienen calientes a favor de un baño maría.

a la pera de caucho, donde se ejerce la presión (C), y el último (D), que sirve para dar acceso al aire exterior en el reservorio. Por el examen de la figura 64 se vendrá fácilmente en conocimiento del mecanismo del aparato; así, la presión ejercida en la pera del caucho se transmite al reservorio, y de éste a la cámara de aire de los frascos, en donde la masa de inyección se escapa hacia la cánula final, merced al tubo que enlaza ésta con el fondo de la vasija.

En los mamíferos de talla media (perro, gato, conejo, conejillo de Indias), y con más motivo en los de gran tamaño, toda inyección histológica debe ser parcial, tanto para ahorrar materia de inyección cuanto para asegurar la penetración de ésta en los capilares más finos. Durante la operación convendrá que el órgano esté sumergido en agua caliente, que se cambiará por fría en cuanto termine la inyección, al objeto de solidificar rápidamente la gelatina; evítanse así los escapes de líquido, pudiendo cortarse la pieza, sin temor, momentos después de la operación.

El endurecimiento se efectuará en alcohol, donde las piezas, reducidas a pedazos no muy grandes (de 1 a 2 cc.), permanecerán de tres a cinco días. Los cortes serán algo espesos y se conservarán, sin previa coloración, en bálsamo del Canadá. Cuanto más transparente sea la coloración, más limpiamente resultarán los capilares inyectados. Si, a pesar de todo, se desea un matiz de fondo, se usará el índigocarmín diluído (inyección previa con carmín laca).

D. — CONSERVACIÓN DE LAS PREPARACIONES

CAPÍTULO VI

CONSERVACIÓN EN EL BÁLSAMO DEL CANADÁ Y OTROS LÍQUIDOS EN LA GLICERINA. — ADVERTENCIAS SOBRE EL EMPLEO DE LOS MÉTODOS. — GROSEROS ERRORES QUE PUEDEN COMETERSE AL EXAMINAR UNA PREPARACIÓN.

Bálsamo del Canadá. — Actualmente apenas se emplea otra cosa que el *bálsamo del Canadá seco*, disuelto en xilol en cantidad tal que se obtenga un líquido de consistencia de jara-be espeso. La *resina damar*, disuelta también, a gran concentración, en xilol o bencina, suele utilizarse corrientemente. Cuando las soluciones resinosas son débiles, fórmanse burbujas de aire en los preparados a consecuencia de la desecación y retracción del vehículo.

Todo corte debe, antes de ser incluido en el bálsamo, deshidratarse en alcohol absoluto o muy fuerte, y aclararse en una esencia, que será la de clavos, cedro, bergamota, orégano, trementina o el mismo xilol.

No es indiferente la elección de una esencia. Siempre que no haya inconveniente en *disolver la celoidina de un corte, la esencia preferida será la de clavos*, por dos razones: porque aclara rápidamente y porque no abarquilla ni retrae los cortes. Para los cortes de piezas no incluídas, es decir, para las exclusivamente induradas en alcohol, será asimismo preferida.

Mas cuando *sea fuerza retener la celoidina, el aclarador soberano será la creosota*, substancia que goza de tres valiosas propiedades: no arruga los cortes, transparenta rápidamente y no disuelve la celoidina. Una buena esencia para estos casos es también la de orégano.

Los cortes *teñidos con las anilinas* se aclararán en las esencias que no disuelven estos colores, a saber: la de bergamota, trementina, xilol, etc. Su empleo exige perfectas deshidrataciones en el alcohol de 96° o absoluto, a menos de aclarar con carbolxilol (1 × 3).

Para mayor claridad, he aquí el orden de las operaciones del montaje en el bálsamo:

1.º Deshidratación de los cortes, que se pasarán al efecto por dos o tres pocillos de porcelana llenos de alcohol de 96° y mejor en el absoluto.

2.º Rápida inmersión de los mismos en esencia de clavo, creosota o bergamota, etc. Un líquido que da buenos resultados también es esta mezcla propuesta por Río-Hortega: ácido fénico, 10; creosota, 10; xilol, 80.

3.º Después de algunos minutos de permanencia, y cuando la transparencia de los cortes sea perfecta (las manchas opacas indican presencia de agua y hay que volver a deshidratar), se trasladan a un portaobjetos.

4.º El exceso de esencia se escurre del cristal, que permanecerá algunos minutos en posición oblicua. Con igual fin cabrá también enjugar los cortes con papel secante bien limpio (1).

5.º Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Glicerina. — La *glicerina*, como materia conservadora, tiende a abandonarse, sucediendo lo mismo con la glicerina gelatinada, mezcla de Farrant, líquidos salinos, etc.

Toda preparación a la glicerina se altera tarde o temprano, por lo cual la glicerina sólo debe servirnos para estudiar temporalmente ciertos preparados, cuyos finos detalles exigen, para su cómoda percepción, vehículos de menor índice de refracción que el bálsamo.

El montaje se hace de una o dos maneras: o por el procedimiento de la célula y betún de Judea, o por el del lacre y parafina.

(1) Si se emplea la creosota o la esencia de clavos convendrá, después de escurrida del portaobjetos, tratar rápidamente los cortes por el xilol; de este modo se evita el exceso de transparencia y ladecoloración del teñido que un resto de aquellas sustancias podría producir en la preparación.

Montaje y cierre al betún. — Comiéndase por trazar con betún semilíquido, sobre un portaobjetos, un círculo de cemento, que se deja secar. Este círculo se hace con ayuda de un pequeño instrumento, llamado *rueda giratoria*. El cemento más a propósito es una mezcla, a partes iguales, de betún de Judea, disuelto en esencia de trementina, y de *Gold-size*, o cemento de los doradores. Obtenido el círculo o *célula*, se colocan en su centro la preparación y la glicerina; se cubren con una laminilla, se aprietan para rechazar el excedente de vehículo, y una vez limpio de glicerina el cubreobjetos, se hace en torno de éste otro círculo de betún. Yo suelo reforzar esta cementación con otra que presta gran solidez al cierre; consiste este cemento complementario en una mezcla de color al óleo para pintores (blanco de España, bermellón, etc.), con un barniz secante cualquiera o con el mismo *Gold-size* adicionado, para que tenga una consistencia apropiada, de unas gotas de esencia de trementina.

Montaje al lacre y parafina. — Este cierre, preconizado por Ranvier y muy usado en nuestros laboratorios (López-García, Del Río, etc.), es también muy sólido. Colócase la preparación y glicerina en el portaobjetos, cúbrese el todo con una laminilla cuadrada o cuadrilonga, y limpio el excedente de vehículo se practica, con parafina dura y con ayuda de un hierro candente, una primera cementación marginal. Solidificada la parafina, se pasa por el borde del cubreobjetos un pincel cargado de una solución espesa de lacre en alcohol.

El primer método de cierre y montaje conviene especialmente para los cubreobjetos redondos y las preparaciones deleznales que la menor presión pudiera destruir; el segundo método, más expedito, es más adecuado para los cubreobjetos cuadrados y las preparaciones extensas y poco vulnerables.

Líquido de Apathy. — Aun cuando actualmente, según dejamos dicho, se recurre casi exclusivamente al bálsamo o la resina damar para conservar los cortes teñidos, hay ocasiones en que es preciso aplicar líquidos en cuya composición no entren esencias ni alcoholes. Para estos casos, además de la glicerina podremos emplear el líquido de Farrant, y predilecta-

mente el licor siruposo de Apathy, que se compone, según dejamos dicho más atrás, de

| | |
|-------------------------------|----|
| Jarabe simple. | 50 |
| Goma arábiga espesa | 50 |

A la mezcla podrá agregarse un cristal de timol.

Este licor, que se endurece rápidamente en el borde del portaobjetos, evita el previo empleo de la deshidratación, fatal a la coloración de la grasa con el Sudán III.

Advertencia importante acerca del ensayo de los métodos y, singularmente, de los procedimientos tintoriales. — Cosa común es oír lamentarse a los principiantes del fracaso de los métodos empleados. Reconociendo que existen técnicas algo inconstantes, importa, sin embargo, notar que, en la inmensa mayoría de los casos, los resultados nulos o deficientes se deben a no haberse atendido severamente a los detalles operatorios aconsejados por el autor y a no haber estudiado a fondo las condiciones esenciales del éxito. Para evitar al neófito fracasos lamentables allá van unos cuantos consejos:

1.º Todo método será aplicado al principio, no sólo con sujeción estricta a la fórmula dada por el autor, sino también sobre los mismos objetos de estudio (tejidos, especies animales, fases evolutivas, etc.) empleados por él.

2.º Deben usarse reactivos puros y, a ser posible, de las marcas aconsejadas por el creador del método.

3.º De gran utilidad será, si ello es posible, comparar las propias preparaciones con alguna de las ejecutadas por el autor.

4.º En las primeras probaturas, las técnicas complicadas y difíciles fracasan a menudo, a causa de la falta de acomodación mental del alumno, que desdeña, quizá por nimias o inútiles, condiciones esenciales del buen resultado. Adueñarse de ellas es obra de tiempo y de paciencia.

5.º Pocos métodos existen, sobre todo entre los tocantes al sistema nervioso, cuya aplicación sea absolutamente general. Es, pues, preciso *acomodar el método al nuevo objeto de estudio* (variación de animal, de fases evolutivas, etc.), introduciendo

do en la fórmula algunas modificaciones de detalle. Al ensayar por tanteo estas mudanzas, se procurará examinar metódicamente los efectos provocados por la *variación cuantitativa o cualitativa de un solo factor* (concentración de las disoluciones, temperatura, tiempo de acción de los reactivos, adición a los fijadores de nuevas sustancias, etc.). El cambio simultáneo de varias condiciones representa siempre una pérdida enorme de tiempo y de labor.

6.º Resistirá el principiante, deseoso de mejorar los métodos clásicos, a la tentación, demasiado común, de *hinchar inútilmente las fórmulas*, añadiendo reactivos o manipulaciones superfluos. A docenas podrían citarse ejemplos de estos pretendidos perfeccionamientos, promovidos por la pueril vanidad de crear técnicas nuevas o por la suposición, no menos infantil, de que el autor estudió muy a la ligera el valor de las operaciones esenciales del método original.

Groseros errores que puede cometer el observador novel al examinar una preparación microscópica. — Todo micrógrafo en ciernes debe tener presente este hecho vulgar: que la atmósfera está llena de partículas en suspensión, y que estas partículas, de forma y naturaleza harto diversas, se depositan, en más o menos cantidad, durante todas las manipulaciones histológicas: operaciones de disección, de sección microtómica, de coloración, de aclaramiento y montaje. Para descartar, pues, errores bochornosos, el principiante se adiestrará previamente en reconocer y distinguir las *gotas de grasa*, las *burbujas de aire*, los *pelos*, los *filamentos de lana, algodón, cáñamo y seda* (que suelen caer en gran número sobre el preparado), y hasta diferenciar, mediante análisis comparativo, los pelos de gato, conejo, perro y hombre. La misión del maestro consiste en evitar a sus discípulos esta clase de groseras equivocaciones. Por esto no entramos aquí en detalles acerca de ellas.

PARTE SEGUNDA

ANATOMÍA GENERAL

CONCEPTO Y DIVISIÓN DE HISTOLOGÍA O ANATOMÍA GENERAL. — ESTEQUIOLOGÍA. — CITOLOGÍA. — HISTOLOGÍA. — ORGANOGRAFÍA MICROSCÓPICA

La Histología es rama de la Anatomía. — La *Anatomía o Morfología*, como muchos la llaman, es la ciencia biológica que trata de la materia y de la forma, tanto exterior como interior, de los seres vivientes.

Esta ciencia, la primera de las que constituyen el grupo de las biológicas, alcanza tanta extensión que ha sido forzoso dividirla en numerosas ramas, atendiendo unas veces al reino, grupo o especie de los seres que investiga (anatomía vegetal, anatomía animal, anatomía humana, etc.), considerando otras el valor relativo y grado de generalidad de los hechos morfológicos que forman la materia de su estudio (anatomía descriptiva, general, comparada, etc.).

Pero entre las divisiones posibles, conforme a este último criterio, ninguna más importante que la de *Anatomía general* y *Anatomía descriptiva*.

No discrepan gran cosa estas dos ramas anatómicas por el objeto, sino por el método. La *Anatomía descriptiva* estudia las partes especiales a cada ser o grupo de seres muy afines, aquellas disposiciones de estructura poco o nada repetidas dentro de un mismo organismo, y que exigen, por no asemejarse apenas entre sí, una descripción individual; tales son: los *órganos*, los *aparatos* y el *organismo en conjunto*.

La *Anatomía general* o *Histología* investiga las partes comunes o repetidas dentro de un mismo ser, y generales a mu-

chos organismos; aquellas disposiciones de estructura que, según la feliz expresión de Bichat, «una vez conocidas para una región del cuerpo, lo son también para las demás y aun para la mayor parte de los seres». Tales factores generales de construcción son: los *principios inmediatos*, las *células* y los *tejidos*.

Un ejemplo aclarará todavía el concepto diferencial de estas dos ramas anatómicas. El estudio de los huesos puede hacerse de dos maneras: inquirendo todas aquellas propiedades que los distinguen, tales como la forma, posición, magnitud, conexiones, etc., y éste es el método de la *Anatomía descriptiva*; o considerando solamente cuanto dichos organismos tienen de común, que no puede ser otra cosa que su materia (los principios inmediatos: osteína, sales, etc.) y su trama íntima (células óseas, conductos calcóforos, lagunas óseas, etc.), y éste es el método de la *Anatomía general*.

Cabría, pues, en síntesis, definir la *Anatomía general* o *Histología* diciendo: que es *la rama de la Anatomía que estudia los materiales químicos y factores morfológicos más sencillos y generales componentes de los cuerpos vivos*. Ya hemos dicho que estos factores comunes de la organización, estos componentes repetidos dentro del organismo y en gran parte extensivos a todos los seres vivientes (los principios inmediatos, las células y los tejidos), constituyen el objeto de estudio de la *Anatomía general*, ciencia que no ostenta el calificativo de *general* por versar sobre abstracciones o generalidades, sino por ocuparse en la descripción de hechos generalizados.

No son en igual grado extensivos los conocimientos de esta ciencia. La *materia* (o sean los principios inmediatos) es más general que la *forma*, y la forma elemental (células) aparece más extendida que la complicada (tejidos). Esta consideración de la decreciente generalidad de los hechos anatómicos permite establecer el orden en que deben estudiarse las tres secciones de la Anatomía general o Histología: 1.º, los *principios inmediatos* o *estequiología* (de στοιχείον, elemento, y λόγος, tratado); 2.º, los *elementos anatómicos* o *citología* (de κύτος, célula, y λόγος, tratado); 3.º, los *tejidos* o *histología* (ἵστος, tejido, y λόγος, tratado).

Estequiología. — Principios inmediatos son aquellos cuerpos simples o compuestos, separables por medios puramente físicos, y de cuya mezcla, en proporciones determinadas, están construídas las células y tejidos. Lo que caracteriza, por tanto, a los principios inmediatos no es su naturaleza, pues los hay orgánicos e inorgánicos, ni su complejidad, pues los hay simples, como el oxígeno, y complicadísimos, como la albúmina, sino el doble atributo de ser cuerpos anatómicamente disociables y de constituir la materia de que están modelados los seres vivientes.

Los elementos químicos, de cuyas variadas combinaciones resultan los principios inmediatos y por consiguiente los seres vivos, llamados por esto *biogénicos*, son: el carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, cloro, silicio, fluor, potasio, sodio, magnesio, litio, calcio, hierro, cobre y magnesio.

En estos últimos años la Estequiología ha alcanzado tan pujante desarrollo que, siguiendo la ley bien conocida de la división del trabajo, se ha emancipado del viejo tronco anatómico para constituir, asociada a la fisiología general, de que es base y fundamento, la moderna *química biológica*.

Por consecuencia de ello, el estudio de esta ciencia requiere la aplicación y dominio de métodos propios, alejados de las prácticas de la micrografía usual, y sus conquistas, cada día más importantes, no pueden ser expuestas ya, ni siquiera en forma resumida, en un breve curso de Histología normal.

Estas razones, junto con la consideración de la conducta seguida por los más autorizados tratadistas de Histología, nos obligan a omitir en este libro los breves capítulos consagrados en anteriores ediciones a la Estequiología, consignando, sin embargo, al final de cada tejido, aquellas nociones de Histoquímica íntimamente enlazadas con la morfología histológica, y capaces de explicar, en cierta medida, los efectos de los reactivos y las propiedades fisiológicas de células y de materias amorfas.

Citología o elementología. — Comprende esta sección el estudio de las células consideradas en sí mismas, es decir, en

lo que tienen de común, y con abstracción de su modo de asociación y de sus actividades específicas.

Histología. — Esta parte de la Anatomía general indaga también las células o unidades vivientes, pero no de un modo general y abstracto, sino en sus especies o razas, y considerando, sobre todo, su modo peculiar de congregación y sus especializaciones fisiológicas.

La extraordinaria importancia de los tejidos y un abuso de lenguaje, cada vez más extendido, han conducido a estimar como sinónimas las voces *histología* y *anatomía general*. Por consiguiente, la expresión *histología* significará unas veces la *parte* (histología propiamente dicha), y otras el *todo* (anatomía general).

Organografía microscópica. — La identidad de la técnica de indagación ha servido, a falta de otras razones, para aproximar, bajo la pluma de casi todos los autores, materias tan esencialmente distintas como la textura de los órganos o partes especiales (terreno de la anatomía descriptiva) y la historia de los elementos o partes generales (terreno de la anatomía general).

Esta reunión de materias algo heterogéneas, si peca de ilógica, es realmente práctica y beneficiosa; por lo cual, y por seguir en esto la costumbre, añadiremos, con ocasión de la exposición de ciertos tejidos, algunas descripciones histológicas de órganos, o más propiamente algunas nociones de *organografía micrográfica*, invadiendo de este modo el campo de la anatomía descriptiva.

SECCIÓN PRIMERA

ELEMENTOLOGÍA

CAPÍTULO PRIMERO

CONCEPTO DE LA CÉLULA. — TEORÍA CELULAR. — MORFOLOGÍA CELULAR

Elementología o *citología* es la sección de la anatomía general que se ocupa de los elementos anatómicos o células.

Llámanse *elementos anatómicos* a las formas más diminutas, dotadas de vida individual, en que los tejidos se descomponen por disociación mecánica o anatómica. Estas últimas formas, las unidades vivientes de Virchow, no son otra cosa que las células.

Célula. — El concepto de célula o de elemento anatómico ha experimentado en el transcurso del tiempo algunas variaciones dependientes de los progresos incesantes de la técnica micrográfica. Los primeros observadores, cuyos estudios recayeron de preferencia en los vegetales, entendieron por célula un pequeño cuerpo vesicular, generalmente microscópico, compuesto de una membrana sólida y de un contenido líquido o semilíquido, donde parecía flotar un corpúsculo, el núcleo (Schleiden, Schwann, Henle, etc.). Más ade-

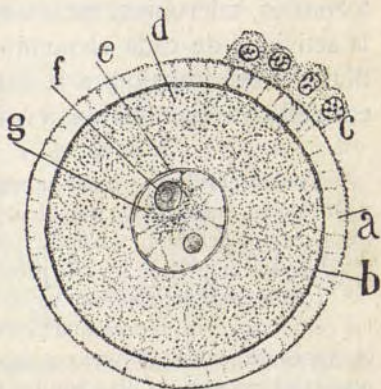


Fig. 65. — Óvulo casi maduro de coneja. *a*, membrana aislable o cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo.

lante, habiendo sido observadas células exentas de membrana y hasta privadas de núcleo, modificóse el concepto de elemento anatómico, definiéndolo: una masa de protoplasma, provista comúnmente de núcleo y dotada de vida propia. Pero estas reservas se apoyaban en observaciones imperfectas. Los nuevos medios ópticos, así como los métodos de teñido de que hoy disponemos, permiten reconocer el núcleo en casi todos los microorganismos que se imaginaban formados de una simple masa de protoplasma (moneras, mixomicetos, bacterias, etc.), y apreciar la existencia, si no de una membrana aislable, de una zona periférica de protoplasma, condensada y exenta de granulaciones. Por donde ha venido a consagrarse la antigua noción de célula, pudiendo definirse actualmente: *un corpúsculo, generalmente microscópico, dotado de vida individual y formado de tres partes esenciales: el protoplasma, la membrana y el núcleo.*

Las células viven, o en estado independiente y aislado (protozoarios, microbios, etc.), o agrupadas en colonias, en las que la actividad de cada elemento se subordina al principio de la división del trabajo y a la conservación y reproducción de la entidad colectiva (plantas y animales superiores).

Teoría celular. — Iniciada, según es bien sabido, por Tupin, Mirbel y Dutrochet, desarrollada notablemente por Schleiden, generalizada a todos los seres por Schwann, y completada bajo el aspecto genético por Remak y Virchow, comprende las tres proposiciones fundamentales siguientes:

Unidad anatómica de los seres. — Todos los organismos, tanto animales como vegetales, representan, en último análisis, o células sueltas o asociaciones de células. El óvulo es una simple célula, y de células más o menos transformadas resultan aún los tejidos más alejados en apariencia del tipo celular, tales como: el muscular, el vascular y el nervioso. Los materiales orgánicos situados entre los elementos anatómicos suelen considerarse como productos de excreción o desasimilación celular.

Unidad fisiológica. — La célula es un organismo en miniatura, un ser dotado de vida propia y encargado del desempeño de una actividad particular en la vasta federación del cuerpo de las plantas y animales. La función del órgano, por elevada y compleja que se la suponga, es siempre la resultante de los trabajos parciales ejecutados por las células.

Unidad de origen. — Las células no se engendran, como pensaban Schleiden y Schwann, en el seno de los tejidos vivos, por un acto de cris-

talización, sino en virtud de un fenómeno de *generación*, a la manera de los organismos independientes. Toda célula procede de otra célula anterior, por simple partición o segmentación del núcleo o protoplasma de ésta. El aforismo de Virchow *omnis cellula e cellula* es verdadero hasta en el terreno patológico, pues las producciones morbosas derivan siempre de la segmentación de las células normales. Retrogradando en la serie de las segmentaciones que precedieron a la aparición de cada célula, llegaremos al óvulo mismo, de cuyas dimensiones sucesivas resulta el organismo entero. Y como el óvulo y zoospermo proceden de otros elementos semejantes y pre-existentes, la persecución de la filiación celular nos conduciría a considerar todos los individuos de una misma especie como agrupaciones de pedazos, discontinuos en el espacio, pero continuos en el tiempo, de dos corpúsculos primitivos: el óvulo o zoospermo de la primera pareja animal.

El estudio de la célula abarca dos especies de caracteres: los anatómicos y los fisiológicos.

CARACTERES ANATÓMICOS

Individualidad. — En general, las células componen los tejidos completamente separadas unas de otras; el contorno celular márcase por la presencia de la membrana o por la interposición de sustancias amorfas. Hay casos, no obstante, en que no aparece tan evidente la individualidad celular: tal ocurre en los corpúsculos epiteliales de la piel, cuyos protoplasmas se hallan unidos por filamentos anastómicos.

*o se
se anastomosis filamentosas*

Si comparamos entre sí, desde el punto de vista de su individualidad, los diversos tipos de elementos constitutivos del reino animal, advertiremos una progresiva dependencia y solidaridad, conforme se asciende de los infusorios a los mamíferos. Bajo este aspecto cabría clasificar las células en cuatro categorías: *independientes, federadas, anastomosadas y plasmódicas.*

a) *Independientes.* — Son aquéllas que, al modo de infusorios y microbios, constituyen seres aislados que deben proveer por sí a su alimentación. En los vertebrados sólo los leucocitos pertenecen, y no enteramente, a esta categoría.

b) *Federadas.* — Son la mayoría de los elementos asociados para formar el cuerpo de plantas y animales (células nerviosas, musculares, epiteliales, cartilaginosas, etc.). Caracterízanse por exhibir membranas separa-

torias, carecer de anastomosis y alimentarse de jugos orgánicos preparados por otros elementos especialmente diferenciados para ello.

c) *Anastomosadas*. — Discrepan de los precedentes por presentar puentes o comisuras protoplásmicas, que pasan a través del cemento intercelular (elementos conectivos, células tegumentarias, corpúsculos endoteliales, etc.). La anastomosis crea colonias celulares, grupos que suman su acción fisiológica; acaso sirvan también para uniformar y facilitar los actos nutritivos de la colectividad asociada.

d) *Plasmodiales*. — En ciertos casos, los elementos funden sus protoplasmas en un todo continuo, generándose una masa celular gigante con numerosos núcleos, cada uno de los cuales rige y gobierna, para los efectos nutritivos y generativos, un territorio del material proteico común (*energida de Sachs*). Como ejemplos de células o colonias plasmodiales, citaremos: un infusorio parásito de la rana (*opalina ranarum*), que posee cuerpo colosal y numerosos núcleos; las *plasmodias de los mixomicetos*, que constituyen masas gelatiniformes macroscópicas continuas salpicadas de núcleos; la *capa plasmodial* de la placenta (Duval, Beneden, etc.), conjunto de corpúsculos ectodérmicos llegados del embrión y fundidos por sus contornos, etc. Probablemente poseen también carácter plasmodial la célula muscular estriada y los osteoclastos, todos ellos provistos de numerosos núcleos.

Volumen. — La talla de las células, generalmente microscópica, se mide por *micras* o *milésimas* de milímetro (μ). Esta unidad de medida resulta todavía grosera cuando se trata de evaluar el tamaño de ciertos microbios, pues no llega siquiera a media milésima; así que los microbiólogos y hasta algunos histólogos utilizan como unidad de tamaño la *décima de milésima*.

La mayor parte de las células de los mamíferos (células epiteliales, conjuntivas, nerviosas, cartilaginosas, óseas, etc.) ofrecen una talla oscilante entre 12 y 30 μ . Pero existen también células menores y mayores.

Los elementos más diminutos del organismo son los granos del cerebelo (6 a 7 μ), las células de los ganglios linfáticos (de 5 a 5 1/2 μ) y los hematíes de la sangre (7 μ). Figuran a la cabeza de los gigantes (en cuanto a longitud) las fibras musculares estriadas, cuya talla mide 2 a 6 cm. las fibrocélulas, que alcanzan más de una décima, y los prismas del cristalino, que llegan a varios milímetros. A pesar de semejantes

estaturas, estas células no son visibles a simple vista, a causa de su extrema delgadez. En cambio los elementos esféricos gigantes, como el óvulo (2 décimas de milímetro) y las células ganglionares motrices (cerca de una décima) se discernen ya, aunque trabajosamente, a simple vista, salvo el óvulo maduro de ave y reptil que afecta tamaño colosal (yema con su núcleo). De lo antecedente se infiere que para que un corpúsculo sea visible a simple vista es preciso que posea las tres dimensiones macroscópicas.

La dimensión de las células no está en razón ni directa ni inversa del tamaño de los animales. En general, cabe afirmar que, exceptuando los elementos nerviosos, las mayores estaturas celulares se hallan en las larvas de urodelo (tritón, galipato, salamandra, proteo, etc.) y en las de insecto (1).

Morfología celular. — Hay que distinguir la forma originaria y la forma definitiva o adulta.

Forma originaria. — Las células de tejido afectan, en las primeras fases de su evolución, una figura más o menos esférica y a menudo poliédrica. Así, las células conjuntivas son primitivamente esféricas, luego se hacen poliédricas y en el estado adulto estrelladas y laminares; los hematíes embrionarios son esféricos también, transformándose, andando el tiempo, en discoideos; las células nerviosas presentan primeramente figura redondeada, luego piriforme (*neuroblastos* de His) y últimamente estrellada, etc.

Forma definitiva. — Es sumamente variable y a menudo característica de cada tipo histológico. Las formas principales son: la *estrellada*, la *fusiforme*, la *discoidea*, la *prismática*, la *cúbica* y la *pavimentosa* o laminar poligonal. En algunas células consérvase la primera figura esférica, por ejemplo, en los leucocitos y medulocitos.

Ignórase el mecanismo en cuya virtud las células adquieren

(1) La talla de las células no traspasa jamás un cierto límite, impuesto quizá por las necesidades de la nutrición. Es indudable, como indica Bullot, que los cambios gaseosos se efectuarán mucho mejor en los corpúsculos pequeños que en los voluminosos, y que un espesor considerable del protoplasma hubiera hecho imposible una rápida penetración del oxígeno y de las materias asimilables.

sus formas definitivas. Se supone, no obstante, que influyen dos condiciones: la acción de tendencias evolutivas preestablecidas (no reductibles actualmente a procesos físicoquímicos) y la influencia mecánica del medio.

Por *procesos mecánicos*, es decir, por consecuencia de la presión de cuerpos exteriores, o del crecimiento de corpúsculos vecinos, o del choque de corrientes sanguíneas, puede en parte explicarse la forma aplanada de las células epidérmicas superficiales, la delgadez de los corpúsculos endoteliales de los vasos, la figura prismática de los elementos epiteliales del intestino, etc.

La presión osmótica y la densidad de las materias intercelulares son también condiciones capaces de influir en la morfología celular.

En virtud de *evoluciones protoplasmáticas* de naturaleza enigmática, que acaso puedan, con el tiempo, asimilarse a la *quimiotaxis* de los leucocitos, crecen y afectan una forma estrellada particular de los elementos nerviosos; su figura en huso, los musculares lisos; su disposición abarquillada, los elementos constitutivos de los tubos nerviosos, etc.

Consistencia. — Los elementos vivos poseen una consistencia blanda, semilíquida; pero los que han sufrido transformaciones químicas incompatibles con la vida celular, afectan a menudo una gran dureza. Mencionemos, a guisa de ejemplo, los elementos epidérmicos córneos, cuyo protoplasma se ha transformado en keratina, y los prismas cristalinos centrales metamorfoseados en globulina.

Elasticidad. — El protoplasma de las células vivas es poco elástico, aunque bastante extensible; pero el de las transformadas goza a veces de notable elasticidad (células córneas, hematíes, etc.).

Color. — Casi todas las células, examinadas aisladamente, aparecen transparentes y sin color; en masas algo espesas se presentan turbias y traslúcidas.

Pero se conocen corpúsculos cuyo protoplasma exhibe materias colorantes, ya disueltas, ya dispuestas en granitos. Por ejemplo: los hematíes se hallan teñidos por un albuminoide

amarillo (la *hemoglobina*); los artículos externos de los bastones albergan un principio colorante púrpúreo (la *fotoestesina*); las células melánicas encierran granos de un pigmento moreno (la *melanina*); las neuronas encierran una materia gris amarillenta.

CAPÍTULO II

ESTRUCTURA CELULAR

Examinada una célula típica, tal como el óvulo antes de comenzar su segmentación, nos presenta al examen micrográfico cuatro partes principales: la membrana, el protoplasma, el núcleo y el nucleolo.

A. — MEMBRANA.

Es una lámina transparente que envuelve exteriormente la célula, sobre la cual se diseña a menudo bajo la forma de un doble contorno.

Es preciso distinguir dos especies de membrana: la *cubierta fundamental* y la *cápsula de secreción*. Ningún elemento carece de la primera; en muchos no existe la segunda, pero en algunos preséntanse correctamente las dos.

La *cubierta fundamental* es una película finísima continuada con el protoplasma, del que puede separarse, bien mediante la disociación, bien bajo la influencia de las soluciones acéticas. Esta delicada membrana es la única visible en las células del cuerpo de Malpigio de la piel, en los leucocitos, mieloplaxias, células conectivas, corpúsculos nerviosos centrales, etc. (figura 66, *m*).

A causa de su extrema delgadez, muchos histólogos la han desconocido. Su estructura es ignorada; por más que algunos autores, M. Ide, por ejemplo, la reputen reticulada (membrana de las células de Malpigio).

La membrana fundamental es un órgano vivo de la célula destinada a contener el protoplasma y regular los fenómenos osmóticos. Cuando el cuerpo celular encierra vacuolas, el líquido de éstas queda protegido del resto del protoplasma por finísima película (*tonoplasto*).

V erosíblemente, y según veremos más adelante, la cubierta fundamental resulta de la reunión de partículas, especialmente diferenciadas, las cuales se condensan y reúnen en corteza durante el fenómeno de la división del cuerpo celular (*dermatosomas*).

Los autores que han negado la existencia de la membrana de ciertos corpúsculos (leucocitos, células nerviosas, etc.), no han reparado en que sin ella el protoplasma no podría retener los productos coloides solubles que contiene, ni se explicaría su relativa resistencia al influjo químico del medio.

La *cápsula* o *membrana de secreción* se halla en el óvulo, en las células cartilaginosa y en el epitelio intestinal. El mejor objeto de estudio de las dos membranas celulares es el óvulo (figura 65, a). Alrededor del protoplasma se distingue una zona o limbo transparente (*zona pellucida*), en la

cual, a favor de buenos objetivos de inmersión, aparecen ciertas estriaciones perpendiculares, interpretadas como conductitos que la atravesarían de parte a parte. Esta membrana es la *cápsula de secreción*, cuyo espesor aumenta con la edad del óvulo.

Inmediatamente debajo de la membrana de secreción o *zona pellucida* se discierne una lámina granulosa oscura (figura 65, b), íntimamente ligada al protoplasma y de espesor casi constante, cualquiera que sea la edad del óvulo. Esta fina película representa la *cubierta fundamental*.

Las células llamadas epiteliales con chapa del intestino re-

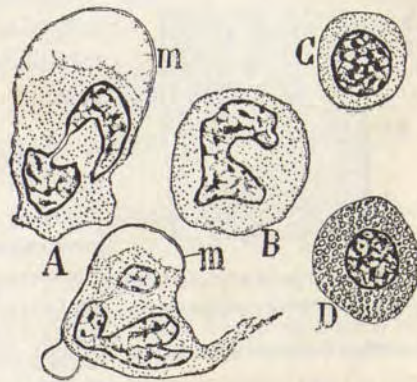


Fig. 66. — Leucocitos de la sangre teñidos en fresco mediante el verde de metileno. A, célula cuyo protoplasma retraído deja ver en *m* una membrana finísima; D, célula cuyo protoplasma está lleno de granitos de inclusiones (granulaciones eosinófilas).

velan también, aunque no de modo tan evidente, ambas membranas. La cápsula de secreción está representada por la chapa estriada, y la cubierta fundamental por la línea granulosa subyacente.

Fisiológicamente la *cápsula* representa un órgano muerto, mero producto de secreción celular, como parece probarlo el hecho de que, durante la proliferación, todas las partes de la célula madre, menos la cápsula, se dividen para engendrar los elementos hijos. Excepto el óvulo, en los demás elementos esta corteza denota un rebajamiento en la actividad nutritiva de la célula y la estabilidad o inmovilidad del protoplasma.

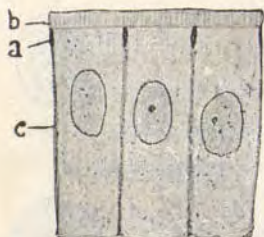


Fig. 67. — Grupo de células epiteliales del intestino esquematizadas. a, banda de cierre; b, chapa intestinal; c, cemento intercelular.

no, corpúsculos hepáticos, elementos endodermiales, etc. (fig. 67 a). Nosotros la hemos hallado también muy desarrollada en el esófago y piel del *Lumbricus* e *Hirudo*, donde forman elegante reticulación horizontal.

Membrana vegetal. — El corpúsculo vegetal posee recia cápsula de secreción, amén de finísima y apenas aparente cubierta fundamental. Semejante cápsula, muy refringente y a menudo homogénea, está constituida de celulosa y se caracteriza por varias reacciones interesantes: coloréase en azul por el cloroyoduro de cinc o el yodo y ácido sulfúrico, fija intensamente los colorantes ácidos y se disuelve en el reactivo cupro-amoniaco. Un producto algo semejante a la celulosa es la recia cubierta exterior de que están armadas las células cutáneas de los artropodos (quitina).

Flagelos, pestañas y látigos. — Como apéndices o accesorios de la membrana pueden considerarse ciertos filamentos libres, generalmente móviles, que erizan la cubierta celular de muchos prozotoarios y de algunas células epiteliales y corpúsculos seminales de vertebrados e invertebrados. Cuando tales apéndices son finísimos, numerosos y cortos, toman el nombre de *pestañas* (células epiteliales de las vías aéreas, etc.); llámense *flagelos* si son escasos y largos (bacterias, infusorios, flagelados, etc.); en fin, toman la designación de *látigos* cuando son únicos y larguísimo,

semejando, por sus ondulaciones y longitud, la cuerda terminal de una fusta (ciertos infusorios, como la *Euglena viridis*, los zoosporos de muchas algas, los *microgametos* de las coccidias, los zoospermos de los vertebrados, etc.) Como luego veremos, existen flagelos y pestañas que parten de un órgano de la célula: el *centrosoma* periférico, a su vez continuado con una epiteliofibrilla.

B. — PROTOPLASMA.

La voz *protoplasma* (de *πρῶτος*, primero, y *πλάσσειν*, formar), introducida en el lenguaje anatómico por H. Möhl, no expresa actualmente lo que significó en un principio. En vez de *primera formación*, designa ahora, por acuerdo general de los histólogos, esa masa transparente, granulosa, semisólida, que separa el núcleo de la membrana.

El protoplasma existe en toda célula viva, y representa acaso el factor más importante de la composición de la misma. Examinado a medianos aumentos y en corpúsculos tratados por los reactivos fijadores, aparece como una substancia incolora y delicadamente granujienta, donde apenas cabe distinguir ningún detalle de estructura. Pero los buenos objetivos de inmersión, sobre todo si se aplican al examen de objetos favorables, revelan un gran número de partes o unidades elementales.

Estas partes protoplásmicas, cuyo número crece de día en día al compás del perfeccionamiento de la técnica, representan órganos intracelulares diferenciados, destinados, en virtud del principio de la división del trabajo, a ejercitar actividades diversas, encaminadas al mantenimiento y multiplicación de la vida celular.

El número de estos organitos impone la necesidad de su clasificación, para la cual cabe escoger una base fisiológica. Con arreglo a su categoría funcional y a su grado de autonomía vital, podrían los citados órganos microscópicos clasificarse en estos dos grupos:

1.º Partes exentas de vida y que satisfacen de preferencia exigencias del orden vegetativo. Son éstas: el jugo celular o citoplasma, los fermentos, los granos cromáticos, las inclusio-

nes de origen exterior, y, en fin, vacíos intraprotoplásmicos, tales como las vacuolas y los tubos de avenamiento, etc.

2.º Partes pequeñísimas dotadas de vida propia, pero subordinada al conjunto orgánico de la célula, capaces de asimilación y crecimiento, y susceptibles de multiplicación. A este orden pertenecen: el *retículo* de las células poco diferenciadas, las *fibrillas* de las células diferenciadas (miofibrillas, neurofibrillas, etc.), las *radiaciones* de las figuras mitóticas, el *aparato reticular* de Golgi, la *esfera atractiva* y *centrosoma*; las *mitocondrias* y verosíblemente también las *granulaciones glandulares primarias*. En el núcleo habitan las *cromiolas* o granos de cromatina.

Retículo (*espongioplasma* de Hanstein, *mitom* — de $\mu\tau\omicron\varsigma$, hilo — de Flemming). — En el protoplasma hay una parte sólida, contráctil, probablemente fibrilar, que no puede discernirse claramente en todas las células, ora por consecuencia de la insuficiencia de nuestros medios ópticos, ora por causa de la abundancia de inclusiones. Practicando el examen en elementos de gran talla, tales como los gigantes de la médula espinal, las robustas células del intestino de la cochinilla de humedad, las no menos voluminosas de las larvas del urodelo o de insecto, se reconoce fácilmente que dicho protoplasma fundamental está representado por trabéculas refringentes, flexuosas, más o menos robustas, que, arrancando de la membrana nuclear, donde parecen insertarse, se terminan, después de un curso intrincado, debajo de la cubierta celular. No es posible perseguir totalmente el curso de cada fibra ni discernir con entera claridad sus relaciones; de aquí ha nacido la diversidad de dictámenes relativamente a la estructura del retículo. En algunos casos, las fibras parecen engendrar una red; pero esta disposición (aceptada como hecho positivo por Klein, Frohmann, Heitzmann, Carnoy, etc.) no resulta nunca tan evidente que no deje lugar a dudas. Es innegable que en la hipótesis de un armazón formado por filamentos independientes podría explicarse también la apariencia de red, suponiendo íntimos contactos y entrecruzamientos entre aquéllos.

Kinoplasma y *ergastoplasma*. *Epiteliofibrillas*, *miofibrillas*

y *neurofibrillas*. — El armazón celular que dejamos estudiado puede considerarse como la forma general y primitiva del esqueleto del protoplasma, del *trofoplasma*, para emplear una expresión de Strasburger, a excepción de los puentes interepiteliales, que parecen disposiciones inconstantes.

Mas en los corpúsculos adultos y adaptados al desempeño de actividades especiales, existen, además del citado armazón primordial, más o menos velado o modificado, otros filamentos que podrían llamarse *armazón funcional*, porque están dotados de propiedades químicas especiales y realizan actos fisiológicos específicos, frecuentemente de orden motor.

Estos esqueletos o urdimbres funcionales han recibido nombres diversos, según las células en que se hallan y el papel fisiológico que se les asigna. A estas categorías de filamentos pertenecen:

1.º Las *epiteliofibrillas*, cuyo aspecto varía, según la función encomendada a los elementos epitelícos, y cuya disposición ha sido estudiada estos últimos años por Tello y por Río-Hortega, utilizando el método de Achúcarro. En algunas células, como las epiteliales del cuerpo de Malpigio, son éstos los únicos filamentos que se conocen, aunque no puede excluirse la existencia de un retículo primordial. En las células epiteliales de la piel (fig. 68) se ven partir del armazón protoplásmico finos hilos, los cuales, después de atravesar el cemento intercelular, se prolongan con los filamentos de los elementos vecinos. La impresión que el examen de este armazón produce es la que suscitaría la existencia de haces de filamentos que cruzasen el protoplasma sin anastomosarse en su camino (*epiteliofibrillas* de algunos autores).

Hilos comunicantes se han hallado también en los epitelios

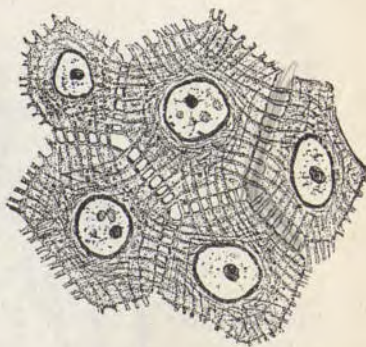


Fig. 68. — Células epidérmicas del cuerpo de Malpigio de la piel. Adviértese en el protoplasma la existencia de hilos que pasan de un elemento a otro.

prismáticos. Así, según Heidenhain, en la salamandra los corpúsculos epitelícos del intestino están unidos mediante un sistema de hilos tanto más largos cuanto más se alejan de la superficie celular libre. Puentes análogos han sido observados por nosotros en los endotelios.

En otros tipos celulares tales filamentos afectan disposición de haz intraprotoplásmico, continuándose con las pestañas (epitelio vibrátil).

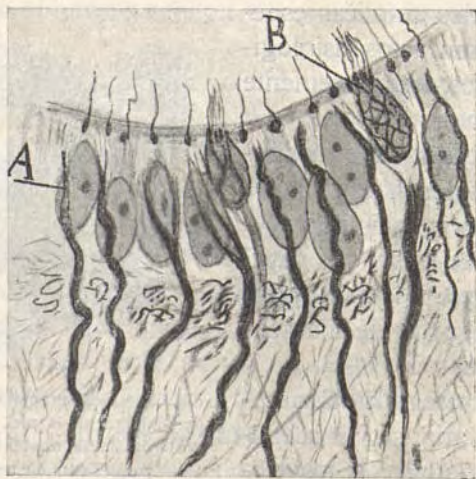


Fig. 69. — Células ependimales del gato de mes y medio. Médula espinal. Nótese que todas las células pluriflageladas, *B*, poseen una red de epiteliopibrillas perinucleares en continuación con las pestañas.

Según hemos mostrado recientemente (1919), las epiteliopibrillas del epéndimo de los centros nerviosos se disponen en red perinuclear, de donde parten filamentos que enlazan con los diplosomas portadores de flagelos (fig. 69, *B*.)

En fin, en las células epiteliales de la médula espinal (embrión de pollo) encuéntrase epiteliopibrillas precoces, dispuestas en mallas longitudinales residentes en la periferia del protoplasma, en una suerte de *exoplasma* (Cajal, 1915).

Al hablar de los epitelios daremos más pormenores sobre estas formaciones fibrilares, que son actualmente, con las neu-

rofibrillas, los armazones filamentosos mejor conocidos, gracias a la invención de coloraciones específicas intensas.

2.º El *kinoplasma* de Strasburger, es decir, esos hilos radiados constitutivos del huso acromático durante la mitosis, y los que se disponen en corona en torno de las esferas atractivas durante los fenómenos de la profase mitótica.

3.º El *ergastoplasma* de Bouin y Garnier, bajo cuya denominación se comprenden principalmente esas formaciones bacilares de composición química peculiar, constantes en la porción basal de protoplasma de muchas células glandulares (glándula submaxilar, riñón, etc.).

4.º Las *miofibrillas*, hilos finísimos paralelos, dotados de estructura articulada y actividad contráctil, residentes en las fibras musculares estriadas o de la vida de relación.

5.º Las *neurofibrillas*, aparato filamentososo reticulado, característico de la célula nerviosa (fig. 70).

6.º Añadamos aún las *gliofibrillas* de las células de neuroglia y las *inofibrillas* o hebras primitivas de los corpúsculos conectivos.

Ectoplasma y endoplasma. — En algunas células diferenciadas de los animales superiores distingúense en el protoplasma dos zonas: una exterior, más o menos delgada y granulosa, desprovista de inclusiones, y otra profunda, donde se contienen las inclusiones y las partes funcionalmente diferenciadas. La zona exterior o cortical ha tomado el nombre de *ectoplasma* y de *endoplasma* la profunda o principal.

Ambas zonas del protoplasma aparecen muy bien diseñadas en los protozoarios, en los cuales el ectoplasma exhibe textura compacta y activos movimientos amiboides; mientras que el endoplasma, relativamente pasivo, contiene las inclusiones, el núcleo y la vesícula pulsátil (fig. 71, *a*, *b*).

Esfera atractiva y centrosoma. — Los trabajos emprendidos hace algunos años por van Beneden, Boberí, Flemming y Rabl, tocantes a la maduración y conjugación del óvulo, han permitido hallar en el protoplasma un nuevo órgano, llamado *corpúsculo polar* por E. van Beneden, *centrosoma* por Boberí, *centriolo* de Heidenhain, *diplosoma* (cuando forma pareja) de

otros autores. Se trata, generalmente, de un corpúsculo esférico de pequeñísima talla, muy refringente y poco afin de las materias colorantes de la cromatina; yace a menudo cerca del núcleo, casi en contacto con la membrana de éste. En ciertos casos aparece rodeado de una masa de protoplasma, correcta-



Fig. 70. — Reticulo específico (neurofibrillas de la célula nerviosa). Conejo de pocos días; A, neurona grande; B, neurona pequeña.

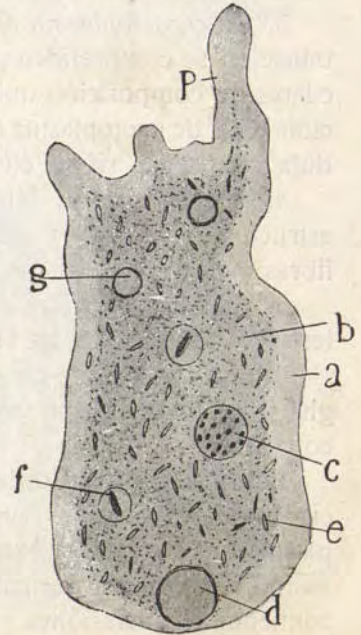


Fig. 71. — Un amibo (según Delage). a, ectoplasma; b, endoplasma; c, núcleo; d, vesícula pulsátil; g, vacuolas gaseosas; f, vacuolas alimenticias; e, productos secretorios.

mente limitado del resto del cuerpo celular (*esfera atractiva* de van Beneden, esfera de *centroplasma* de Heidenhain) y, a distancia, de una radiación de filamentos (*aster*).

En un principio habíase creído que el centrosoma representaba un órgano peculiar del óvulo en vías de segmentación; pero los estudios de van Beneden, de Rabl, de Flemming, de M. Heidenhain, de Lenhossék, Bremer, Dehler, Zimmermann, Henneguy, Achúcarro, Río-Hortega, etc., han generalizado a

casi todos los elementos la existencia de este singular corpúsculo, cuya misión principal parece ser iniciar el movimiento de segmentación kariokinética de la célula y presidir a la contracción y metamorfosis del armazón protoplasmático.

La falta del centrosoma en las células de los vegetales superiores, que se dividen mitóticamente, como las animales, y su presencia en otras que dejaron de hacerlo en el estado adulto (células ganglionares, nerviosas), hacen dudosa la significación de este corpúsculo, aunque su relación con la mitosis sea indudable.

El centrosoma ha sido estudiado por Fleming (1891) en las células linfáticas, epiteliales, endoteliales y conjuntivas de las larvas de la salamandra; por Solger (1892) en las células pigmentarias del sollo (donde sólo se hallaría la esfera atractiva con radiaciones); por Martín Heidenhain (1893), y con ayuda de un método particular de teñido (hematoxilina y decoloración con percloruro de hierro), en las mieloplaxias de la médula ósea y linfocitos del conejo; por Bremer (1895) en los glóbulos rojos nucleados de los vertebrados inferiores; por V. Lenhossék (1895) en las células de los ganglios raquídeos de la rana y en las fibras musculares lisas (1899); por Dehler (1895) en los corpúsculos simpáticos de este mismo animal; por Zimerman, Lenhossék, Henneguy, etc. (1900 a 1905), en diversos corpúsculos glandulares y epiteliales; por Achúcarro y nosotros en las células neuróglícas, y por Holmgren (1899), Sjövall (1905) y Río-Hortega (1917) en las células nerviosas adultas, etc., etc.



Fig. 72. — Leucocito de larva de salamandra maculosa, según Fleming. En el protoplasma, cerca del núcleo, se ve el centrosoma.

Número de centrosomas. — Se creyó en un principio que toda célula contiene un centrosoma específico, situado cerca del núcleo, y, en efecto, así ocurre en algunos elementos (figura 72); después se vió que muchas poseen más de uno y que no es rara la existencia de tres o más. En los gruesos corpúsculos de núcleo arriñonado o dispuesto en cadena complicada, de que son buen ejemplo las mieloplaxias de la médula ósea (*megalocariocitos*), los centrosomas o centriolos son nu-

merosos, oscilando entre 5 y 12 o más por grupo y llegando a alcanzar de 200 a 300 (Heidenhain, fig. 74, a).

El tamaño del centrosoma es pequeñísimo, exigiendo para su percepción el empleo de los mejores apocromáticos, amén de procederles específicos de teñido. Según Heidenhain, su diámetro suele ser de $0,4 \mu$, igualando poco más o menos el volumen de los gránulos de los cromosomas y de los más delicados organitos intraprotoplásmicos.

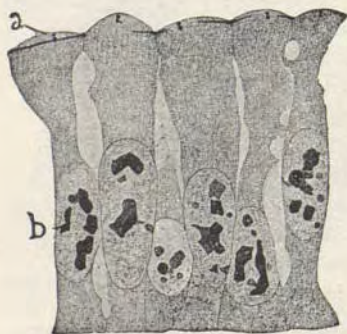


Fig. 73. — Células epiteliales del intestino de un embrión de pato. a, centrosomas superficiales; b, núcleo. (Según Heidenhain.)

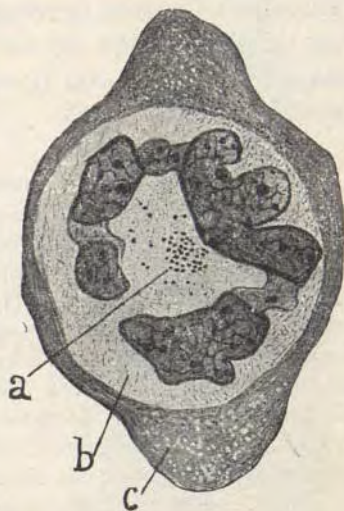


Fig. 74. — Mieloplaxia (*megalocariocito*) de la médula ósea del conejo. a, grupo de centrosomas situados en la concavidad del núcleo; b, exoplasma profundo; c, exoplasma superficial. (Según Heidenhain.)

Forma. — De ordinario es esférica y, según dejamos apuntado, reúnen a menudo en pareja o diplosoma (fig. 75, a). Excepcionalmente afectan figura de bastoncito o de doble bastón (espermátidas de ciertos insectos, ciertas neuronas, etc.).

Situación. — En general, habita el centrosoma en la proximidad del núcleo, aunque a variable distancia. En los leucocitos y mieloplaxias, cuyo núcleo presenta escotaduras, este órgano habita en la concavidad nuclear (figuras 72 y 74). Mas es también frecuente sorprenderlo lejos de este órgano y aun en la frontera celular. Así, en los epitelios, y particularmente

en los de tipo prismático, dicho organito, dispuesto en diplosoma, yace (figuras 73 y 76) en el cabo superficial de la célula, no lejos de la superficie libre y orientado axialmente, es decir, con el eje paralelo al de la célula. En algunos protozoos el centrosoma es intranuclear.

Centrosomas con pestañas. — Una curiosa observación, sugeridora de concepciones interesantes tocantes a la significación del centrosoma, ha sido hecha por Zimermann, recibiendo confirmación de numerosos autores. En las células epiteliales del riñón del torpedo, en las células homólogas de la salamandra y de otros vertebrados, en el epitelio espiral de la *cochlea* del conejo de Indias, en el epididimo, en las endodermiales, etc., aparecen células epiteliales, de cuyo diplosoma, superficialmente emplazado, brota largo y sutilísimo flagelo, tan sutil que resulta a menudo difícilísimo de percibir. Este flagelo, verosímilmente inmóvil, flota en el líquido inmediato y tiene su punto de implantación en el centriolo más periférico (fig. 75, a).

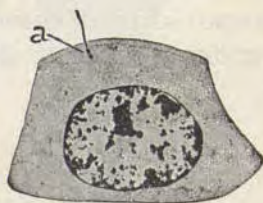


Fig. 75. — Célula epitelial de los tubos renales de la larva de salamandra. a, diplosoma o doble centrosoma, uno de los cuales emite un flagelo. (Según Meves.)

Como más adelante veremos, el filamento caudal de la cola de los zoospermos va también unido a un centrosoma que presidió a su formación (fig. 77, c).

Lenhossék y Henneguy emitieron la hipótesis de que el centrosoma representaría el centro kinético de la célula, el órgano que regula la acción de los apéndices móviles (pestañas, flagelos, etc.), de todo corpúsculo epitelial o espermático. Para Lenhossék y Henneguy los centriolos existen tanto en los corpúsculos de flagelo solitario, estudiados por Zimermann, Meves, Heidenhain, etc., como en las células de pestañas vibrátiles de los vertebrados, sólo que en éstas hallanse constituídas por el gránulo basal, subpestañoso, cuya morfología y reacciones coincidirían enteramente con la de los centriolos.

Esta hipótesis es muy discutida en la actualidad, pues se ha visto coexistir el corpúsculo basal de las pestañas de las células cilíadas con un auténtico centrosoma, y, por otra parte, el corpúsculo basal de los cilios no experimenta modificación alguna durante la mitosis de las células cilíadas.

Granulaciones glandulares. — Investigaciones modernas, en las cuales han tomado parte muchos fisiólogos e histólogos (R. Heidenhain, E. Schültze, Lavdowsky, Nussbaum, Ebstein, Grutzner, Langley, Kune y Lea, Nicolai, E. Müller, M. Heidenhain, etc.), han revelado en las células glandulares productoras de fermentos, así como en las glándulas serosas y mucosas, dos órdenes de granulaciones: las *finas o gránulos primarios* y las *gruesas o esferas de zimógeno*. Acerca de ellas daremos detalles cuando tratemos del tejido glandular y al describir la estructura de algunos epitelios.

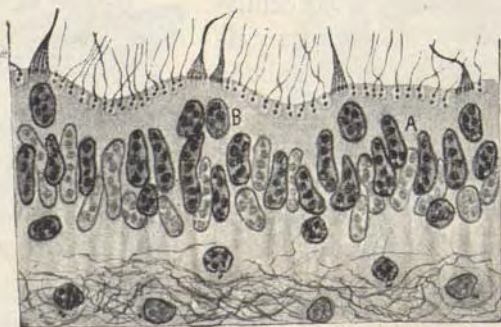


Fig. 76. — Células espendimales de la médula espinal del buey. Nótese que cada flagelo arranca de un diplosoma. (Tomada de Río-Hortega.)

Plasmomas o leucitos de las células vegetales. — Las células vegetales jóvenes encierran, al modo de los corpúsculos glandulares mencionados, diversas granulaciones específicas dotadas de vida relativamente autónoma, puesto que son capaces de crecer por asimilación y de multiplicarse por escisión. La misión principal de estos *leucitos* o *plasmomas* consiste en sintetizar principios inmediatos, tales como la *clorofila*, el *almidón*, las *materias colorantes*, las *grasas*, etc. Según cuál sea el principio inmediato elaborado, toman dichas esferas las designaciones de *cloroblastos*, *amiloblastos*, *hidroleucitos*, etc.

Como los plasmomas glandulares antes señalados, pasan los leucitos vegetales por dos fases: la de *granulación primitiva* o partícula proteica viviente, pequeñísima, dotada del poder de multiplicación y sin diferenciación química apreciable, y la de *elaboración química*, durante la cual el gránulo crece, adquiere propiedades específicas y pierde su virtud prolifera-

ratoria, convirtiéndose al fin en una inclusión celular, despojada de todo resto de protoplasma viviente.

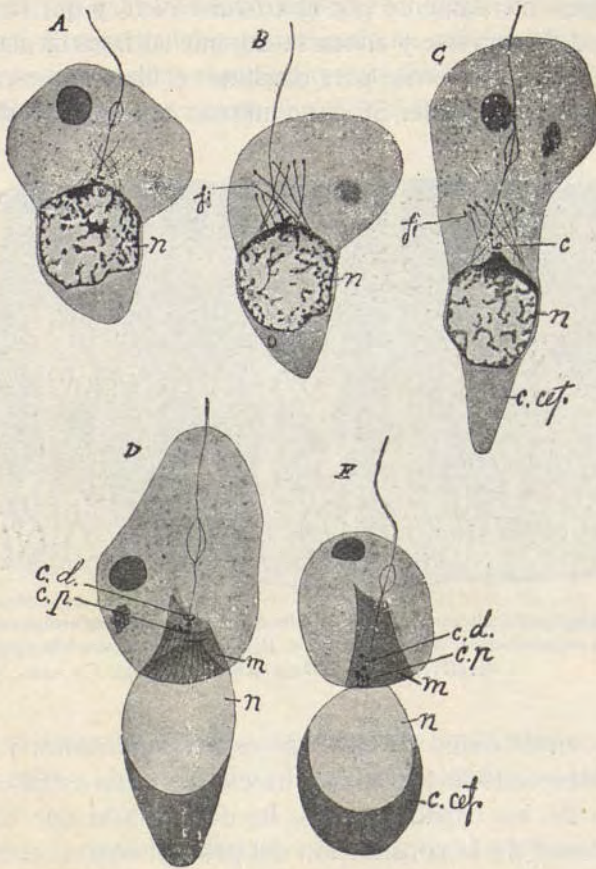


Fig. 77. — Espermátida de *Helix pomatia* en diversas fases de su evolución según Korff. En las fases tempranas A, B, C, etc. se advierte un diplosoma cuyo centriolo, más periférico, emite largo flagelo. En las fases D, E, F, etc., nótese que el centriolo profundo produce otra prolongación que crece dentro del protoplasma hasta tocar el núcleo. (Tomado de Korschelt y Heider.)

Tanto los plasmosomas de la célula animal como los leucitos de la vegetal deben estimarse como porciones separadas o independientes del protoplasma, que se diferenciaron para la producción de principios inmediatos, y que sucumben al transformarse en productos celulares específicos.

Mitocondrias. — Con ayuda de un proceder de coloración específico, Benda descubrió en las células testiculares de diversos animales unos granos esparcidos por el protoplasma, coloreables intensamente por el *kristal-violett*, y que tienen la propiedad de reunirse y alinearse durante las fases tardías de la formación del zoospermo para constituir el filamento espiral de éste. Más tarde, van der Stricht confirmó la existencia de tales

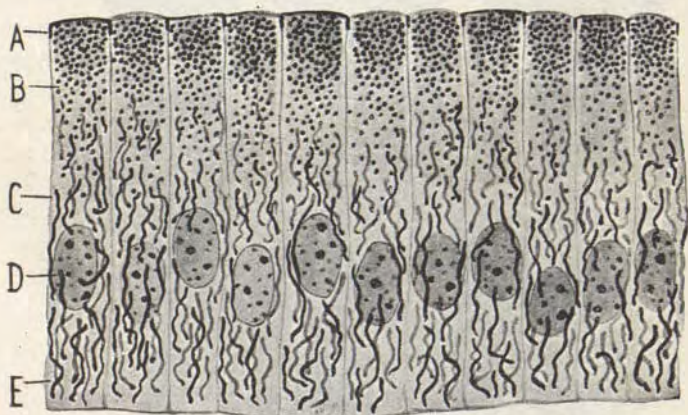


Fig. 78. — Condrioma o mitocondrias de las células epiteliales de un conductillo excretor de una glándula salivar humana. A, banda de cierre; B, mitocondrias; C, condriocotes; D, núcleo. (Preparación y dibujo de Río-Hortega.)

gránulos en el óvulo de diversas especies animales; y, finalmente, Meves (1908-1913), que ha efectuado un estudio concienzudo de los citados granos, ha demostrado que son un factor normal de la constitución del protoplasma de todas las células del embrión y de gran parte de los corpúsculos adultos. En fin, en estos últimos años, los discípulos de Benda y Meves descubren las mitocondrias en casi todos los elementos histológicos. Para Nageotte (1911), hallaríanse hasta en los tubos nerviosos, las neuronas y las células de neuroglia. Achúcarro, Río-Hortega, nosotros las hemos confirmado también en estos últimos elementos y en otros donde era dudosa su existencia, con ayuda de nuevos métodos de teñido (figuras 78, 79, 80 y 81).

Lo que presta particular interés al estudio de las mitocondrias es que durante las mitosis que preceden a la formación del zoospermo (espermatidas) se disponen en curiosas figuras que semejan a las de las cromosomas y que revelan que la naturaleza, al repartir tales gránulos en las células hijas, procede con la misma pulcra exactitud que al distribuir en los núcleos hijos filamentos cromáticos (fig. 82). Estas curiosas figuras, de

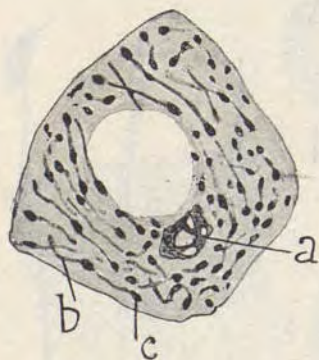


Fig. 79. — Célula del páncreas notablemente ampliada para mostrar el detalle de los condriomitos y mitocondrias. *a*, aparato de Golgi; *b*, condriomitos; *c*, espesamientos de éstos. Método del formol-urano.

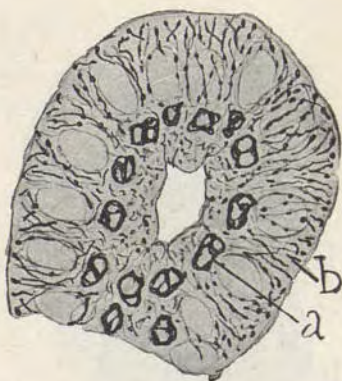


Fig. 80. — Condrioma de las células epitelicas de un fondo de saco pancreático *a*, aparato de Golgi; *b*, condriomitos (urano-formol).

que hablaremos más adelante, han sido estudiadas por Meves en las células de invertebrados (espermatozoides de la *Paludina vivípara*, etc.).

Las mitocondrias afectan, a veces, forma de grano redondo; pero, más a menudo, como Meves hace notar, adoptan la figura de bastoncitos de variable longitud. De ahí la designación de *condriomitos* y *mitocondrias* (1), designación que Meves (1911) ha sustituido por la de *plastosomas* y *plastocontes*. Según Benda, las de forma de grano yacerían en el espesor de filamentos incoloreables, aserción que no se ha confirmado,

(1) *Mitocondrias* quiere decir granos formadores de hilos, y *condriomitos*, hilos resultantes de la aglomeración de gránulos. *Condrioma* significa el conjunto del aparato mitocondrial de una célula.

antes bien, si hemos de fiar de las observaciones de Meves, Heidenhain y otros, encuéntrase libres en los espacios del espongioplasma. Asimismo Retzius (1913), que las identifica con los *microsomas* de Flemming, las dibuja como empotradas en el espesor de filamentos pálidos. En ocasiones, los condriomitos se organizan en un sistema de redes o asas que rodean la esfera atractiva.



Fig. 81. — Condriomitos de las células intestinales de un embrión de pollo a los dos días de la incubación. *a*, condriomitos o hilos mitocondriales; *b*, núcleo. (Según Meves.)

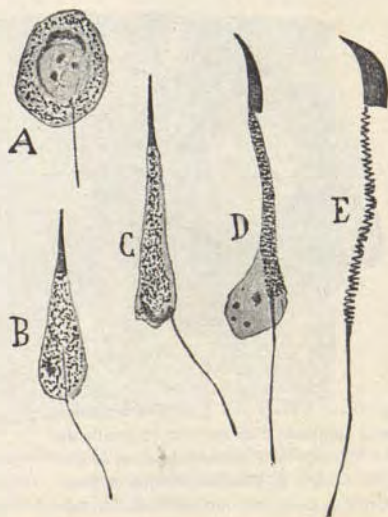


Fig. 82. — Evolución de las mitocondrias del ratón durante la transformación de una espermátida en zoospermo (según Benda y Waldeyer). Los gránulos mitocondriales sueltos en *A*, *B*, *C*, se disponen en series en *D*, y en la fase *E* se transforman en un filamento espiral.

Las mitocondrias contienen una substancia química especial, según resulta de su coloración específica por el método de Benda (*kristal-violett*), previa enérgica fijación en el líquido de Flemming, y de su afinidad, en condiciones técnicas especiales, por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain o por la plata coloidal (véanse métodos de Meves, Regaud, Achúcarro, Río-Hortega, etc.).

Las interesantes figuras kinéticas descubiertas por Meves

durante la división de los espermatoцитos; la circunstancia de habitar tales filamentos en todas las células vivas, y, en fin, el hecho demostrado por este sabio (1909) de que los *condrosomas* (granos de la substancia mitocondrial) del zoospermo y el óvulo participan en la fecundación, repartiéndose en el embrión por el protoplasma de todos los elementos, dan al *condrioma* una dignidad fisiológica muy superior a la de las inclusiones

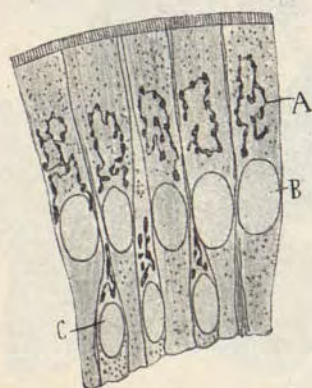


Fig. 83. — Aparato reticular de Golgi de las células epiteliales del intestino de la lombriz. A, aparato reticular; B, núcleo; C, células basales. (Método del nitrato de plata reducido.)

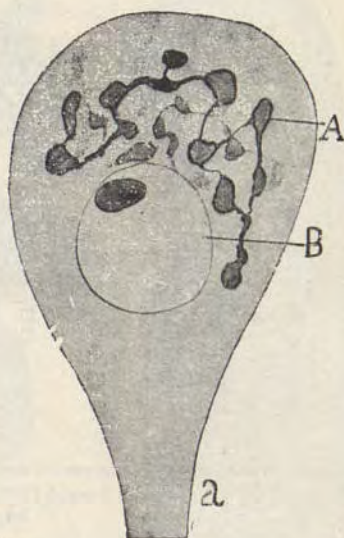


Fig. 84. — Célula nerviosa de la lombriz de tierra. A, aparato reticular; B, núcleo; a, expansión nerviosa.

ordinarias de la célula, y prestan cierta verosimilitud a la hipótesis, sugerida por Meves, de que dichos órganos intraprotoplásmicos, además de su actividad funcional (secreciones) e histogénica (formación de las fibrillas intraprotoplásmicas), son portadores de la materia de la herencia, con igual título que la cromatina nuclear.

✕ **Aparato reticular interno de Golgi.** — Con ayuda del método del cromato de plata, algo modificado, encontró dicho

sabio, hace algunos años, en el endoplasma de células nerviosas ganglionares (ganglios raquídeos) un sistema de trabéculas anastomosadas, dispuestas en red perinuclear independiente. Las investigaciones posteriores de Holmgren (1901 a 1904), de Negri, Kopsch, Misch, Soukanof, Verson; las nuestras (1903-1915); las de Perroncito, Duesberg, Fañanás, Río (1903), y

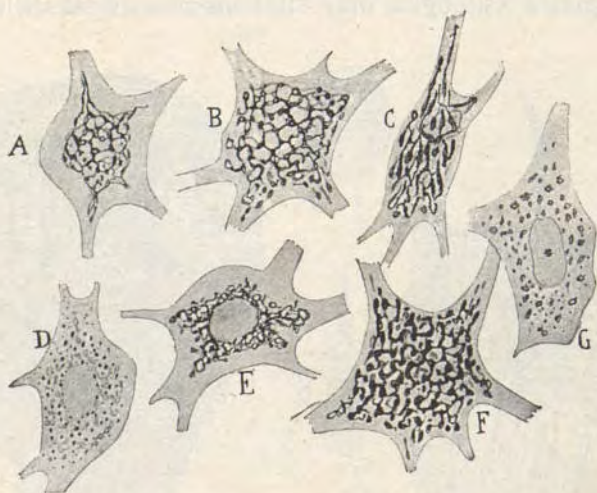


Fig. 85. — Variaciones morfológicas del aparato reticular de Golgi, en las neuronas motrices del conejo. (Método del formol-urano.) Nótese que en ciertas neuronas *D*, *G*, la red hállase fragmentada.

Tello (1904), prueban que este aparato no es privativo de los elementos nerviosos, sino que se le encuentra también en numerosas células de tejido (elementos epitelícos intestinales, glandulares, cutáneos, células de Schwann, etc.), y acaso en todas las unidades vivientes de los animales. Nosotros lo hemos sorprendido en la mayoría de las células de los vermes, y Sánchez (1904), en no pocos elementos de los crustáceos. En fin, antes que Golgi habíamos descubierto nosotros en los músculos de los insectos (1890) un aparato reticular, que después se ha identificado con el de Golgi.

La posición, figura y complicación de este singular aparato reticular, varían mucho con la jerarquía del tejido y con la es-

pecie animal. En las células nerviosas de los vertebrados afecta, según demostró Golgi (fig. 85), forma de red perinuclear completa y complicadísima; mientras que, según resulta de numerosas observaciones nuestras, en los ganglios de los invertebrados semejante sistema sólo cubre un sector limitado de núcleo (figura 84); en fin, en las células glandulares y epiteliales de vertebrados e invertebrados (Negri, Holmgren, Cajal), su disposición es muy sencilla, reduciéndose a unas cuantas circunvoluciones y residiendo en la región del protoplasma situada entre el núcleo y la superficie libre (figuras 86 y 87, *a*). Ade-

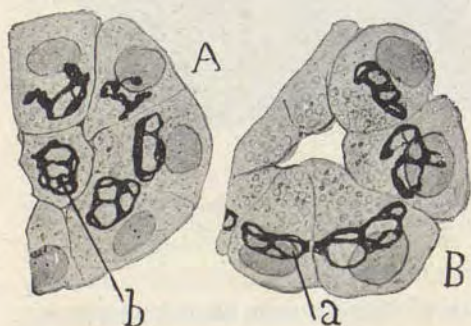


Fig. 86. — Aparato de Golgi. *a*, de las células secretoras de la glándula submaxilar del conejo de ocho días. Nótese que el aparato está vuelto hacia la luz glandular.

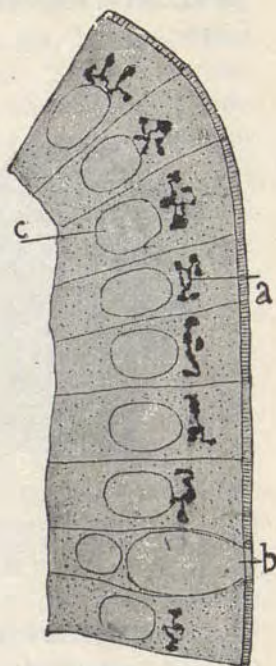


Fig. 87. — Epitelio del conejo de Indias recién nacido. *a*, aparato reticular.

más, las anastomosis son más raras, advirtiéndose claramente los cabos del retículo acabados en punta roma (figuras 83 y 87).

En ningún tejido se presenta el aparato reticular tan complicado como en la célula muscular estriada, conforme veremos más adelante. Notemos solamente ahora que está dispuesto en un sistema intrincadísimo de redes horizontales unidas por filamentos longitudinales.

Ignórase la significación del aparato reticular de Golgi, que

algunos autores han estimado erróneamente como un sistema de conductos comunicantes con los espacios linfáticos, y en donde penetrarían expansiones de células extrañas (teoría del *trofo-espongio* de Holmgren). Pero esta opinión resulta inadmisibles desde que se sabe que tales cordones no comunican jamás con el exterior, ni se aproximan siquiera a la superficie celular.

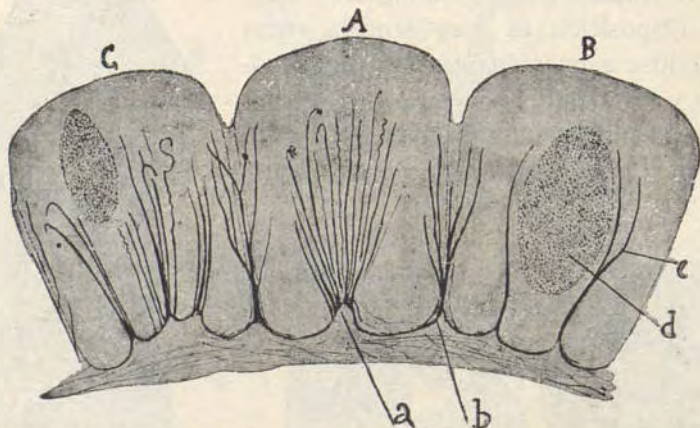


Fig. 88. — Células epiteliales del intestino del *Porcelio ornatus*. a, b, embudos subepiteliales de que brotan los conductitos nutritivos. (Según D. Sánchez).

Investigaciones nuestras, efectuadas con un método especial (1) y ampliadas por Tello (1912), Fañanás (1913), Río-Hortega (1914) y Sánchez y Sánchez, y por nosotros mismos (2), nos han conducido a pensar que el aparato de Golgi se compone de dos cosas: un sistema de huecos continuos, limitados o no por fina cutícula o capa cortical, y un contenido granuloso, cuya masa y distribución experimentan grandes mudanzas, según el estado fisiológico del protoplasma. Métodos hay, como la fórmula al *ácido ósmico* de Kopsch, la del *ácido arsenioso* de Golgi (1911) y la nuestra del *formol-urano* (1912),

(1) Cajal: «Fórmula de fijación para la demostración del aparato de Golgi», etc. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

(2) Cajal: «Algunas variaciones fisiológicas y patológicas del aparato reticular de Golgi». *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XII, 1915.

que tiñen exclusivamente el contenido granuloso, mostrando a menudo cordones sueltos y redes discontinuas, a causa, sin duda, de la desigual distribución de aquél, en el sistema de oquedades intraprotoplásmicas; mientras que el antiguo método de Golgi, así como el de Veratti (cromato de plata), impregnan quizá exclusivamente el sistema de cavidades donde se aloja dicho material granujiento, dando, por tanto, un sistema reticular casi continuo y poco varicoso. Sobre la significación fisiológica de dicha masa granular, nada preciso puede afirmarse. Cabe no más conjeturar que representa una reunión de organitos, dotados de cierta autonomía vital y en posesión de importantes atributos fisiológicos, según lo demuestra el hecho, descubierto por Perroncito (1911) y comprobado por Deineka (1912), Fañanás (1913), Tello (1913) y Cajal (1915), de que durante la mitosis el citado aparato se disgrega, produciéndose cordones y granos sueltos que, a modo de los cromosomas, experimentan fenómenos divisorios. También parece desempeñar un papel importante en los fenómenos de crecimiento y secreción del protoplasma (Cajal, Tello (1913).

En fin, notemos una particularidad no desprovista de interés. En todo corpúsculo epitelico el aparato de Golgi ocupa el *polo mundial* de la célula, es decir, aquella porción del protoplasma orientada hacia el mundo exterior y, por tanto, opuesta a la situación del mesodermo. Esta orientación varía solamente para los corpúsculos que, en el curso de la ontogenia, emigraron de su yacimiento originario (células conectivas, nerviosas, óseas, cartilaginosas, etc.).

Jugo celular, enquilema o hialoplasma. — Es la materia líquida o semilíquida, perfectamente amorfa, alojada en los espacios del retículo. Después de la muerte, y bajo la acción del alcohol, ácido crómico, ósmico, etc., el enquilema sufre coagulaciónes que le prestan aspecto granuloso.

Inclusiones. — Así se designan las materias inertes enclavadas en los huecos del protoplasma o en los intersticios del retículo.

Los autores distinguen las inclusiones en dos clases: materias de origen intracelular, que representan verosíblemente el

resultado de la actividad secretoria del protoplasma, y materias de origen exterior, o sean cuerpos extraños englobados, por el protoplasma a favor de su contracción amiboide.

Materias de origen intracelular. — A esta categoría corresponden las gotas de grasa de las células adiposas, hepáticas y cartilaginosas; los fermentos de las glándulas estomacales y pancreáticas; las partículas melánicas de los corpúsculos de la

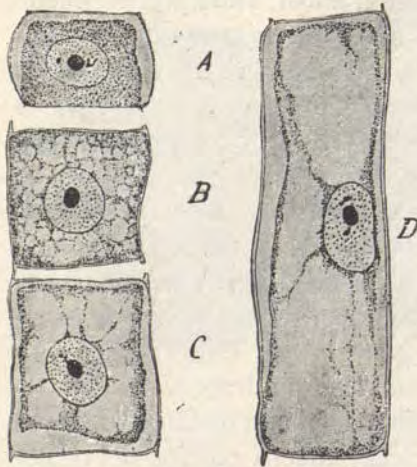


Fig. 89. — Evolución de las vacuolas en las células vegetales. A, B, C, D, fases de crecimiento y vacuolización del protoplasma (Prenant).

coroides; las esferas de eleidina o keratohialina de los elementos superficiales del cuerpo de Malpighio de la piel; las gotas de mucina de las células epiteliales caliciformes del intestino; los granitos proteicos, neutrófilos y eosinófilos de los leucocitos; en fin, todos los encymas y sustancias elaboradas por los plasmosomas o granulaciones vivas del protoplasma. La inclusión representa, conforme veremos más adelante, el término final de la trans-

formación de las granulaciones intraprotoplásmicas primitivas.

En las células vegetales existen también numerosas inclusiones de origen plasmosomático, tales como los *granos de almidón*, de *aleurona*, las gotas de *grasa*, de *materias colorantes*, las *vesículas acuosas*, los *bastoncitos* y *agujas* de materias proteicas cristalizadas, etc.

Vacuolas. — El jugo celular constituye extensos depósitos en las células vegetales (fig. 90, a). Además del líquido que infiltra el retículo propiamente dicho, éste se retrae en muchos parajes, limitando vastos espacios donde se alojan el enquilema y diversas inclusiones (gotas de grasa, clorofila, aleurona, granos de almidón, etc.). Estos espacios, llamados *vacuolas*, crecen en

amplitud conforme se desarrolla la célula, según puede verse en la figura 89, en la cual, *A*, *B*, *C*, *D* representan diversas fases de la vacuolización del protoplasma.

Las *vacuolas* son raras en el protoplasma de las células animales. No obstante, si se examinan leucocitos vivos o protozoarios, no dejaremos de advertir algún hueco lleno de líquido transparente, que cabe identificar con las vacuolas vegetales.

Conductitos nutritivos intraprotoplásmicos. — Nuestras investigaciones y las de Sánchez han revelado la existencia, en células epiteliales de los invertebrados, de un sistema de finísimos tubos, que desde los espacios linfáticos o lagunas del tejido conectivo penetran en el espesor del protoplasma, donde acaban frecuentemente mediante fondos de saco, y menos a menudo por anastomosis con los conductos vecinos (figura 88).

En la sanguijuela y el *Lumbricus* (piel e intestinos) se ven expansiones nacidas en el tejido conectivo subcutáneo, las cuales corren por el cemento interepitelial, formando como una empalizada en torno de las células. Holmgren, que ha confirmado este hallazgo nuestro en el *Hirudo* y otros invertebrados, lo interpreta como un sistema de tubos frecuentemente penetrantes en el protoplasma. Creemos, sin embargo, más fundada la opinión de Río-Hortega, para quien las citadas expansiones serían haces conectivos que envolverían los corpúsculos epiteliales en forma de cesta (*tejido conectivo interepitelial* de este autor), sin abordar el espesor de la célula.

Tubos excretores o de avenamiento (drainage). — En ciertas células secretorias existen, según descubrimos Retzius, Müller y nosotros, un sistema de tubos intraprotoplásmicos ramificados, que desaguan por un tallo en el interior de la luz glandular. Semejantes huecos tienen por misión conducir el producto segregado desde todos los territorios del protoplasma celular al interior del tubo glandular. Su disposición puede, pues, compararse con las corrientes de avenamiento o *drainage* de los terrenos encharcados. En la figura 93, *a*, mostramos la



Fig. 90. — Célula de los pelos estaminales de la *Tradescantia virginica*. Examen en vivo. *a*, gran vacuola llena de jugo celular; *b*, cordones protoplásmicos; *c*, granos de inclusión; *d*, membrana de cubierta.

disposición de tales huecos en los elementos semilunares de la glándula submaxilar.

Fenestramientos protoplásmicos. — Nuestras observaciones (1903), efectuadas con el método del nitrato de plata reducido y confirmadas por numerosos sabios (Levi, Marinesco, Dogiel, etc.), han puesto de manifiesto una curiosa disposición, que sólo se observa en los voluminosos corpúsculos sensitivos de los vertebrados. Consiste en el acribamiento de las regiones marginales del protoplasma, que se dispone, ora en forma de gruesos cordones superpuestos en asas o arcadas irregulares (fig. 92), ora en forma de red delicadísima de tres dimensiones. En las mallas de esta red alójanse

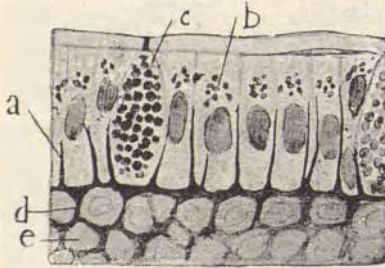


Fig. 91. — Corte del epitelio cutáneo del *Lumbricus*. a, expansiones interepiteliales; d, espacios intermusculares de donde parten; b, aparato de Golgi débilmente diseñado.

ciertas células llamadas satélites y que pudieran compararse con las neuróglías halladas por diversos autores en las neuronas gigantes de los cefalópodos. Levi (1903), que ha estudiado tales fenestramientos en los ganglios sensitivos de los peces, supone que semejante disposición, propia de corpúsculos colosales, obedece a fines nutritivos; es decir, a la facilitación de los cambios químicos entre el protoplasma y el ambiente. En fin, la disposición de las redes, brotes protoplásmicos y otras disposiciones varían en los estados patológicos.

Diferenciaciones celulares en los protozoarios (fig. 71). — Cuando se compara un protozoario (amibo, infusorio, etc.), formado, según se sabe, de una sola célula, con los elementos asociados de los animales superiores, llaman la atención algunas diferencias estructurales, imputables al género de vida y modo alimenticio de entrambas categorías celulares. En general, el protozoario aparece más complicado que la célula de tejido, porque tiene que ejercitar él solo todas las actividades fisiológicas repartidas en los diversos órganos de los metazoarios. Así, en los amibos e infusorios se encuentran apéndices contráctiles destinados a la reptación y natación; vacuolas alimenticias a manera de estómagos, en donde, bañadas por una secreción ácida, sufren transformación las presas engullidas; una vesícula pulsátil, especie de corazón sometido a contracciones (diástole y sístole), mediante las cuales circula el enquilema a lo largo de un sistema de conductores intraprotoplásmicos (fig. 71, d). En fin, en ciertas especies existen boca, esófago y ano (simples cavidades intraprotoplásmicas) y hasta dos manchas pigmentadas rojas, colocadas cerca del látigo, semejantes a ojos rudimentarios (ciertos infusorios flagelados y zoosporos de algas), amén de algún órgano defensivo.

Si semejantes diferenciaciones faltan o están en vías de atrofia en las células de tejido del hombre y vertebrados, ello depende del carácter simbiótico de estos elementos. En efecto, los organismos superiores son comparables a una asociación simbiótica de unidades fisiológicas profesionalmente diferentes; las cuales, por efecto de la vida en común (división del trabajo y alimentación comunal mediante un líquido nutritivo preparado por una categoría especial de corpúsculos), atrofiaron los órganos de prehensión, digestión y alimentación, indispensables a la vida nómada y autónoma. De donde resulta un fenómeno análogo a la simplificación maquina del obrero, en quien la dura ley de la división del trabajo produce la atrofia de muchos órganos, singularmente de los más nobles, en beneficio de la hipertrofia de unos pocos, los ejecutantes de la función especial.

Concepciones teóricas sobre la construcción del protoplasma. — *Teoría del retículo.* — Frohman, Heitzmann, Klein, Leydig, Carnoy, etcétera, consideran formado el protoplasma por una rejilla de finos hilos sumergida en un líquido transparente. Los microsomas o granitos incluidos en el cuerpo celular representarían los nudos de la red.

Teoría filar. — Según Flemming, el protoplasma se compone de hilos (*mitom*), y de substancia interfilar (*paramitom*). Estos hilos, ya cortos, ya largos, ya escasos, ya abundantes, se hallarían, no anastomosados, sino entrecruzados. Dentro del *mitom* residirían ciertos gránulos o *microsomas*. Esta teoría, basada en hechos precisos de observación, ha sido modernamente (1913) defendida por G. Ret-

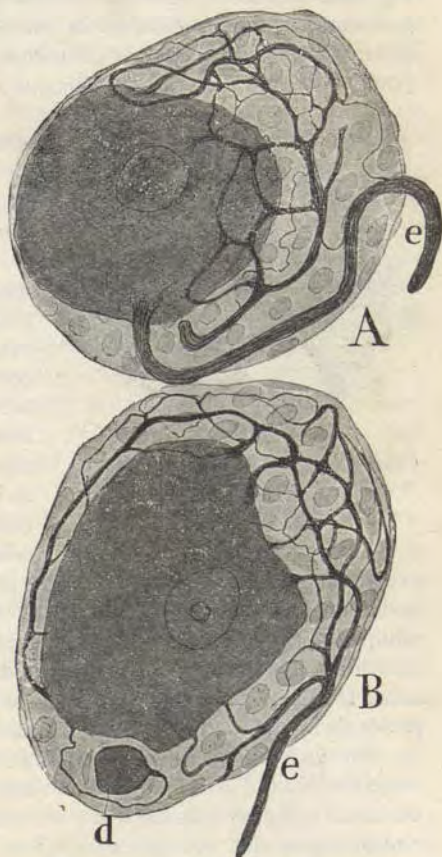


Fig. 92. — Dos tipos de células fenestradas de los ganglios sensitivos del cordero (método del nitrato de plata reducido). A, célula en que la porción fenestrada es independiente del axon; B, otra en que el sistema fenestrado concurre en el axon; e, axon.

zius, que la ha perfeccionado e ilustrado por nuevas investigaciones en el óvulo, células nerviosas y otros elementos.

Según Retzius, todo protoplasma contendría tres factores esenciales: el *hialoplasma* (*paramitom* o masa interfilar); un *armazón de filamentos ramificados*, flexuosos, pero no anastomosados (*mitom* de Flemming), correspondientes a los *plastocones* de Meves; y ciertos *granos* dispuestos en serie y alojados en el espacio del *mitom* (*microsomas* de Flemming, correspondientes a los *gránulos* de Altmann o *plastosomas* de Meves).

Además de este esqueleto, las células altamente diferenciadas, como las musculares, nerviosas, etc., tendrían otros sistemas de fibrillas (*miofibrillas*, *neurofibrillas*, etc.).

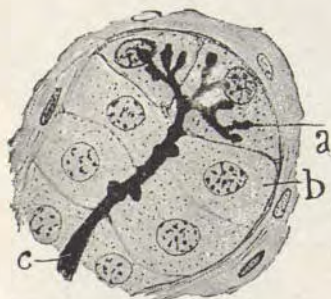


Fig. 93. — Vesícula terminal de la glándula submaxilar. a, terminaciones intracelulares de un conducto secretor.

Teoría alveolar. — Bütschli ha imaginado, para explicar el aspecto filamentoso y reticulado del protoplasma, una estructura esponjosa comparable a la de la espuma del jabón. Los alvéolos tendrían forma poliédrica y estarían formados de láminas de extraordinaria delicadeza. En su interior se albergarían gotas de líquido con materias orgánicas en disolución. Fúndase esta opinión en un

experimento curioso: si se mezcla una solución de sal o de azúcar con aceite de olivas, fórmase una espuma que, examinada al microscopio, presenta tabiques alveolares de aceite y cavidades o espacios cerrados llenos de la solución salina o azucarada. La estabilidad y relativa consistencia celular, como la de las espumas, procede de que el protoplasma y núcleo se componen de emulsiones de diversas sustancias.

Teoría granular. — El protoplasma estaría compuesto de gránulos dotados de vida individual, que dicho autor designa *bioblastos*, a cuyo cargo correrían todas las manifestaciones fisiológicas de las células. Estas no serían otra cosa que colonias o zoógleas de bioblastos reunidos en masa, gracias a la presencia de una materia gelatiniforme intersticial (sustancia intergranular). El bioblasto se engendraría por partición como las células. *Omne granulum ex granulo* es la máxima de Altmann. Destruídas las células, sucumbirían los bioblastos. Los microbios, singularmente los micrococos, serían bioblastos independientes.

Teoría micelar. — Naegeli ha imaginado, para explicar las propiedades físico-químicas de los cuerpos organizados, y particularmente de las células, una teoría química llamada teoría de las *micelas*.

Son las micelas moléculas orgánicas voluminosas, invisibles al microscopio y construídas de muchas moléculas químicas pertenecientes a cuer-

pos proteicos diversos. El agua entra constantemente en la constitución de la micela, formando en torno de ésta una atmósfera de espesor variable. Cuando los albuminoides se desecan, esta atmósfera se pierde, poniéndose las micelas casi en contacto; una nueva hidratación restablece las capas acuosas perimicelares y las micelas se separan dando lugar al fenómeno de la hinchazón y disolución del material albuminoide. Entre las micelas habría un líquido nutritivo.

En el núcleo y protoplasma activos las micelas hállanse reunidas en cadenas de varias formas, que pueden juntarse entre sí, constituyendo reticulaciones complicadas. Estas redes pasarían de una célula a otra, engendrando un vasto sistema de cordones micelares comunicantes. Las micelas se multiplicarían por escisión.

La teoría micelar, más o menos transformada, ha sido acogida por Weissmann y O. Hertwig para explicar la transmisión de las cualidades hereditarias en el fenómeno de la fecundación (*idioblastos* de Hertwig, *bióforos, determinantes, ides e idantes*, de Weissmann).

Recientemente, con algunas modificaciones, la han adoptado Albert y A. Mary (1917). Los aforismos siguientes: nada se transforma; todo se agrega y desagrega; nada muere; todo se disocia, resumen la teoría de estos autores, para quienes las *micelas* serían los elementos últimos indestructibles de las colonias celulares.

Teoría de Wiener. — Partiendo de la relatividad de nuestros conocimientos histológicos, cuya frontera, siempre creciente, está trazada por el poder amplificante y resolutivo del microscopio, Wiener supone la existencia en los seres vivos de una serie de individualidades de volumen decreciente, caracterizadas por ser asiento de fenómenos nutritivos y poseer capacidad de reproducción. Así, en los animales gozan de individualidad y capacidad reproductiva: 1.º, el animal; 2.º, el órgano; 3.º, el tejido; 4.º la célula, y 5.º, las protomeras o granulaciones vivas de la célula, etc. Y como no es racional suponer que esta serie de individualidades vivientes cese allí donde la limitación del microscopio cierra el paso a la observación, es fuerza admitir elementos más pequeños todavía que las granulaciones visibles y vivientes del protoplasma, hasta llegar a los más diminutos, capaces todavía de aptitud divisoria. Estas unidades últimas, metamicroscópicas o invisibles, representarían las verdaderas unidades fisiológicas del organismo, las *plasmomas*, de que se compondrían las más pequeñas partículas apreciables al microscopio.

Esta teoría ha sido acogida favorablemente por M. Heidenhain (1908).

Este autor distingue en la célula dos categorías de corpúsculos: la *histotoma*, unidad fisiológica de segundo orden (*centrosoma, retículo protoplásmico*, los *chromosomas*, las *granulaciones primitivas*, etc.), perfectamente visible al microscopio; y las *protomeras* o *bióforos*, últimas unidades fisiológicas de dimensión ultramicroscópica, habitantes en el espesor de las histomeras. La máquina vital, es decir, la estructura fisiológica de la célula,

tiene su límite infranqueable en la *protomera* o *bióforo*. Más allá comienza el mundo físico-químico, es decir, los complicados edificios coloidales y el dominio anorgánico de las moléculas, átomos, iones y electrones.

Nosotros mismos hemos aceptado, bajo la designación de *teoría cito-colonial* (1907), una concepción semejante a la de Heidenhain, al objeto de explicar el mecanismo de crecimiento y reproducción del retículo nervioso, durante el proceso de la regeneración. Y corroborando la doctrina, hemos demostrado que las *neurobionas* del cilindroeje, separadas violentamente de éste, son capaces de vivir cierto tiempo, crecer, multiplicarse, generar formas nuevas sin el concurso del cuerpo celular ni de la influencia de la corriente nerviosa (1). La demostración de esta autonomía para ciertos *organitos* celulares es técnicamente difícil, aunque no imposible.

Una diferencia esencial separa, sin embargo, dicha hipótesis de la de Altmann y otros, a saber: que las *protomeras* o unidades metamicroscópicas representan, no seres independientes, sino órganos celulares vivos, subordinados al protoplasma e incapaces de vivir fuera del jugo celular o del nuclear. Sólo hacemos una excepción hipotética: la posibilidad de que ciertas unidades ultramicroscópicas, las *inobionas* del tejido conectivo, óseo y cartilaginoso, abandonen la colonia celular para formar, por vía de crecimiento y multiplicación, las fibrillas de dichos tejidos (véase más adelante).

La hipótesis cito-colonial, así como las muy análogas de Wiener y Heidenhain, armonizan con la teoría celular de Virchow, la cual conserva su alta dignidad filosófica. El elemento anatómico o célula mantiene su carácter de individualidad perfecta, ya que representa todavía, por lo menos en el estado actual de nuestros conocimientos, la última categoría de seres susceptibles de vida total y autónoma.

Teoría de los simbiosis (symbiotes) de Portier (1917 y 1919). — Resucitando en el fondo la antigua teoría de los *microcymas* de Béchamp, y la de los *bioblastos*, de Altmann, dicho sabio sostiene que las células de todos los animales y plantas son seres dobles; en ellas se contendrían *ciertos microbios*, que llama *symbiotes*, y el protoplasma propiamente dicho. Los simbiosis, al modo de lo que ocurre en las conocidas simbiosis de los hongos y algas generadoras de los líquenes, vivirían en íntima asociación con los factores esenciales de la célula, prestándose recíprocos servicios. Los simbiosis representarían, por tanto, los únicos seres sencillos, ya que, destruido el organismo, podrían recobrar su independencia y emanciparse de la colonia intracelular. Autores hay, como Perantoni, que prestan a tales simbiosis carácter hereditario; se transmitirían, por tanto, mediante el óvulo y zoospermo, lo mismo que las demás cualidades específicas e individuales de cada organismo.

(1) Cajal: «Discurso inaugural de las sesiones de la Asociación para el progreso de las Ciencias.» Congreso de Madrid, 1912.

Las osadas especulaciones de Portier (1) se apoyan en los siguientes hechos:

1.º Existencia dentro del protoplasma de formas granulares y filamentosas, susceptibles de multiplicación y crecimiento (mitocondrias, granulaciones glandulares, etc.).

2.º Presencia en las nudosidades de las leguminosas y dentro de los tejidos de muchas larvas de insecto y de diversos invertebrados, de indiscutibles formas microbianas, asociadas al protoplasma celular.

3.º El hecho, bien conocido, de que la siembra de los órganos animales y vegetales provoca a veces la aparición de colonias microbianas.

4.º El fenómeno llamado de la *avitaminosis*. Cuando se alimentan los animales con semillas decorticadas o pastos absolutamente asépticos, el organismo se desmedra, sus actividades fisiológicas languidecen y, en fin, se desarrollan graves trastornos nutritivos, que pueden conducir a la muerte. El escorbuto y el *beri-beri* del hombre se deberían precisamente al uso de conservas asépticas. Esta miseria fisiológica, que ciertos autores habían referido a la destrucción de ciertas sustancias (las *vitaminas*) existentes en la epidermis de semillas y frutos y en otros alimentos, obedecería, según Portier, a la eliminación, por antisepsia o asepsia, de sus bacterias simbióticas.

Desgraciadamente para la ambiciosa teoría de Portier, todo hace creer que el encuentro de microbios intracelulares constituye fenómeno accidental y patológico; trátase casi siempre de casos de infección limitada, enfrenada por la fagocitosis o los anticuerpos de los plasmas orgánicos. Por otra parte, los bacteriólogos de renombre coinciden en afirmar que los órganos de animales y plantas se hallan, en condiciones fisiológicas, perfectamente asépticos, tesis clásica recientemente corroborada por A. Lumière (2), que ha efectuado excelente análisis experimental de todas las pretendidas pruebas alegadas por Portier. Añadamos que Regaud (1819), Laguère y Guillermond (1919) han demostrado que no es posible identificar las *bacterias* con las *mitocondrias*, organitos celulares blandos, refractarios a la coloración por los métodos tintóreos microbianos e incapaces de emanciparse para vivir vida extraorgánica. En fin, hagamos notar que en toda la obra de Portier campea un grave error de lógica científica: los hechos negativos son sistemáticamente desdeñados y como sacrificados ante la excepcional aparición de tal cual hecho positivo, arbitrariamente interpretado.

(1) Portier: «Recherches sur les microorganismes symbiotiques dans la serie animal.» *C. C. Acad. Scienc.*, tomo CLXVI, 1917.

— «Role physiologique des symbiotes», *Idem*, tomo CLXV, pág. 267, 1917; tomo LXXXI, página 480, 1918, y tomo CLXVI, pág. 1.055, 1918.

(2) A. Lumière: *Le Mythe des simbiotes*. Masson et Cie, éditeur, 1919.

CAPÍTULO III

NÚCLEO

El *núcleo* es un corpúsculo vesiculoso yacente en el espesor del protoplasma, y constituido principalmente por una materia que atrae vivamente el carmín y las anilinas básicas (nucleína o cromatina).

El núcleo es un factor importantísimo de la vida celular; rige probablemente el caso de la multiplicación, y en su trama se encarnan, de preferencia, las condiciones materiales del proceso de la herencia histológica, es decir, de ese poder que las células tienen de reproducir exactamente la forma, volumen y fisiologismo de sus elementos progenitores. Cuando la célula pierde su núcleo, ora por virtud de lesiones físicas, ya por consecuencia de metamorfosis químicas, se suspende en ella toda actividad, pudiéndose considerar como un cadáver. Tal sucede con los hematíes y con los elementos córneos de la piel, cuyos núcleos desaparecieron al compás de las trans-

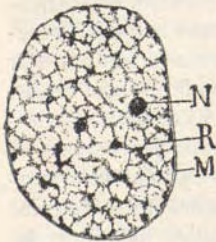


Fig. 94.—Núcleo de las células epiteliales de la larva de salamandra maculosa. Examen con el objetivo 1,30 de Zeiss.

formaciones químicas ocurridas en el protoplasma. Lo mismo ocurre con los nervios cuando se separan violentamente de la célula nerviosa con que se continúan y donde reside el núcleo.

Número. — Regla general es que cada célula albergue solamente un núcleo. Pero existen excepciones, entre las cuales citaremos los *osteoclastos* de la médula ósea, provistos de dos

hasta seis a ocho núcleos, y, sobre todo, los corpúsculos musculares estriados, donde se cuentan por centenas.

En las plantas y animales microscópicos no es raro hallar muchos núcleos. Citemos, entre otros, el infusorio *Opalina ranarum*, parásito del intestino de la rana, y el alga *Vaucheria caulerpa*, dotada de miles de los referidos órganos.

Volumen del núcleo. — Oscila entre 5 a 12 micras. La dimensión del núcleo no guarda estricta relación con la talla de las células; puede, no obstante, afirmarse que los núcleos más voluminosos corresponden a los elementos gigantes (óvulo, células nerviosas, etc.). Asimismo, los animales que poseen gruesas células (larvas de urodelo y de insecto) exhiben también los núcleos más robustos. Notemos que este órgano varía poco en dimensiones en las diversas fases evolutivas de la célula, en tanto que el protoplasma suele crecer con la edad; por donde se ve que, cuanto más joven es el elemento, más voluminoso, con relación al protoplasma, aparece el núcleo.

Forma. — Por lo común, en toda célula embrionaria o que se halla poco diferenciada afecta la forma esférica u ovoidea. Pero en algunos corpúsculos de tejido esta figura se modifica, haciéndose ya alargada, ya discoidea, ya lobulada. Por ejemplo: en las fibras musculares lisas, el núcleo se presenta en forma de bastoncito de cabos redondeados; en las mieloplaxias y ciertos leucocitos afecta figura irregular, exhibiendo lobulaciones y estrangulaciones separatorias; en los corpúsculos de las uñas y en los cartilagosos superficiales dicho órgano adopta figura más o menos lenticular, etc.

Si de los vertebrados descendemos a los invertebrados, hallamos formas nucleares sumamente originales. Mencionamos el núcleo arborescente y complicadísimo del epitelio de las glándulas hileras de los lepidópteros, y el dispuesto en larguísimo rosario (porciones abultadas alternantes con partes estranguladas), propio de un infusorio, el *Stentor polymorphus*. No es raro hallar también núcleos deformados por la presión del centrosoma y esfera atractiva, deformación que puede llegar hasta un hendimiento casi total (*espermatidas* del cavia, según Bouin, epitelio faríngeo de la *Salpa punctata*, etc.).

Posición. — En las células desprovistas de inclusiones el núcleo suele ser central; mas desde el momento en que el pro-

toplasma aparece henchido de inclusiones endógenas o exógenas, dicho órgano se torna excéntrico hasta hacerse periférico. Tal acontece, por ejemplo, en las células grasientas, musculares estriadas y, sobre todo, en los voluminosos óvulos de ave y reptil, cuyo protoplasma gigantesco encierra enorme cantidad de reservas alimenticias. Semejante movilidad del núcleo parece indicar que sus enlaces con el retículo protoplasmático son muy débiles o no existen. Por lo demás, dicha dislocación, de

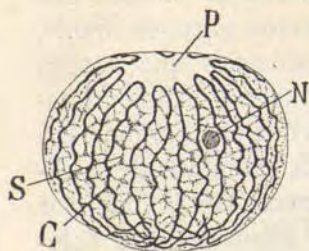


Fig. 95. — Esquema del núcleo según Rabl. C, filamentos de cromatina o primarios; S, filamentos de linina o secundarios; N, nucleolo.

ordinario pasiva, puede ser activa en algunas células vegetales, donde el núcleo se dirige siempre al paraje donde la nutrición y crecimiento son más intensos (Haberland y Korschelt).

Estructura del núcleo. — Consta este órgano de cuatro partes principales: la *cromatina* o *armazón cromático*, el *jugo nuclear*, el *nucleolo* y la *membrana*.

Armazón cromático. — Constituye la parte más característica del núcleo y la que mejor se ha estudiado,

gracias a las propiedades químicas especiales de que goza. Este armazón se compone principalmente de la *nucleína* de Miescher (*cromatina* de Flemming), material que posee la virtud de colorearse intensamente por el carmín, hematoxilina y los colores básicos de anilina. Los ácidos débiles, tales como el ácido acético y fórmico, que alteran y transparentan notablemente el protoplasma, endurecen y dan gran resalte a la cromatina. Estas dos propiedades (contraste mediante la acción del ácido acético y colorabilidad en carmín y hematoxilina madura) sirven para poner en evidencia el núcleo, aun en aquellos elementos donde éste alcanza estatura escasísima, y yace rodeado de un protoplasma abundante y rico en inclusiones.

En los elementos vivos el núcleo aparece tan pálido que sólo en algunos casos puede demostrarse con claridad. Como veremos más adelante, la *nucleína* de Miescher no es un prin-

cipio inmediato bien definido, sino un complexus de cuerpos (*núcleo-proteidos*).

El *armazón de cromatina* puede afectar tres disposiciones: forma reticulada, en bloques o esferas centrales y en filamento libre y continuo.

Cromatina reticulada. — Esta es la disposición más general y típica; obsérvase en las células epiteliales, conjuntivas, cartilaginosas, glandulares, etc., de los vertebrados, y aparece tanto más claramente cuanto más embrionarios son los elementos observados.

El mejor objeto de estudio de la reticulación cromática fórmanlo las células de las larvas de urodelo, previa fijación con bicloruro de mercurio y coloración con hematoxilina. La cromatina se presenta teñida en violeta intenso y sus trabéculas, de vario espesor y dirección, convergen al nivel de ciertas nudosidades, una de las cuales, más robusta que las otras, designase con el nombre impropio de *núcleolo* (fig. 94). Hacia la periferia, los filamentos cromáticos parecen fijarse en la membrana, a beneficio de una nudosidad más o menos voluminosa.

Dicho retículo no consta exclusivamente de cromatina; los buenos objetivos de inmersión revelan dos materias: la *cromatina* propiamente dicha, que forma los nudos de la red y acaso algún filamento grueso, y la *linina*, que constituye los trabéculos finos, es decir, aquellas partes del retículo refractarias a la coloración por la hematoxilina y anilinas (fig. 96, S).

Estas dos materias, colorable la una e incolorable la otra por los reactivos del núcleo, se perciben ya, con ayuda de buenos objetivos de inmersión, en las células de los mamíferos; pero aparecen mucho más claramente en las de los urodelos (Flemming) y, sobre todo, en ciertos elementos seminales embrionarios del *Ascaris megalocéfala* (O. Hertwig), donde, como se ve en la figura 96, S, la *linina* se modela en delicados fila-

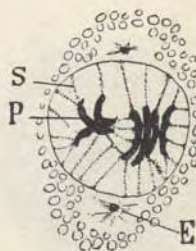


Fig. 96. — Célula madre seminal del *Ascaris megalocéfala* (Hertwig). P, filamentos cromáticos del núcleo; S, filamentos acromáticos; E, centro-soma.

mentos periféricos y la *cromatina* en gruesos trabéculos centrales. En ciertos casos (Pfitzner, Strassburger, etc.), el retículo nuclear consta de granos sueltos de cromatina, separados por un cemento intercalar de linina.

Cromatina glomerular o filamento continuo. — La cromatina reviste en los núcleos de insecto (larvas de muscudo, de nemocero, etc.) la forma de filamento libre, continuo, apelonado, cuyas vueltas y revueltas le prestan aspecto de intestino.

Como ya demostró hace tiempo Balbiani en las larvas del *Chironomus*, Carnoy en los de *memocero* y nosotros en el estómago chupador de las de *muscudo*, dicho filamento se compone de dos clases de discos alternados: *oscuros*, formados de cromatina, y *pálidos*, contruídos de linina (fig. 97, *a*).



Fig. 97. — Núcleo del estómago chupador de una larva de muscudo. *a*, filamento nuclear estriado; *b*, nucleolo verdadero.

Según van Gehuchten, las vueltas del filamento continuo no se dispondrían al azar, sino con cierto orden, dejando libres dos zonas polares, cuya línea de unión llama este autor *eje orgánico* del núcleo.

Cromatina conglomerada. — En lugar de armazón reticulado, ciertos núcleos exhiben una masa central más o menos redondeada de cromatina, al parecer desprovista de estructura. Como ejemplo de semejante disposición deben citarse: los núcleos de las células más superficiales del cuerpo de Malpigio de la piel, en los que la cromatina aparece condensada en una esfera central alejada de la membrana nuclear; los zoospermos, cuya cabeza representa un núcleo macizo, contruído de cromatina homogénea; el óvulo maduro, dentro de cuyo núcleo se advierten uno o más acúmulos redondeados de dicha substancia, flotantes en un jugo nuclear abundante (*manchas germinativas*), y, en fin, las células nerviosas de talla considerable, en donde la cromatina se dispone, según probó Levi, en casquetes semilunares o fragmentos de esfera en torno del nucleolo. De estos casquetes trataremos más adelante. *

La cromatina homogénea representa para Hertwig una fase transitoria, la cual, por absorción de agua y de vacuolización subsiguiente, pasaría en ciertos casos a la disposición reticulada.

Se había creído que el núcleo de las células nerviosas constituía un ejemplo de cromatina o nucleína concentrada en bloque. Recientes investigaciones parecen probar que dicha masa esferoidal representa un verdadero nucleolo de talla gigantesca. Según veremos más adelante, este nucleolo, lejos de ser homogéneo, consta de la reunión de esférulas diminutas (figura 98, *b*).

El jugo nuclear de las células nerviosas contiene, además, otros corpúsculos esféricos diseminados (cuerpos paracromáticos o nucleolos accesorios) dotados de propiedades químicas especiales. En la figura 98 presentamos el aspecto del nucleolo y de los cuerpos esféricos accesorios (*c*) de algunos elementos nerviosos.

Los trabajos modernos añaden algunos detalles, todavía no generalmente confirmados, a la estructura clásica del núcleo.

Así, Heidenhain describe, en los núcleos fijados en sublimado y coloreados por las anilinas, dos especies de cromatina: la *basicromatina*, correspondiente a los gránulos de cromatina ordinaria de los autores, caracterizada por su afinidad por las anilinas básicas, y la *oxiromatina* o *lantánina*, dispuesta en finos gránulos incorporados al retículo de cromatina básica y caracterizada por su colorabilidad por las tinturas ácidas.

Según Levi, Buhler, etc., la basicromatina se convertiría en oxiromatina en los núcleos avejentados. Mediante el líquido de Biondi (mezcla de colores básicos), la basicromatina se tiñe en verde y la oxiromatina en rojo.

Por su parte, Reinke, después de confirmar las dos especies de cromatina de que habla Heidenhain, añade todavía la existencia de ciertos gránulos pálidos, incolorables por los reactivos y susceptibles de hincharse por el agua. Esta substancia granular, que denomina *edematina*, reside en los huecos o mallas del retículo cromático, formando una parte del jugo nuclear de los autores.

En la figura 99 aparecen reproducidos, esquemáticamente, los más importantes detalles de la textura del núcleo, según Heidenhain, Reinke y Schloter. Se han omitido en la figura los tenues filamentos perforantes de Reinke, por parecernos algo problemáticos.

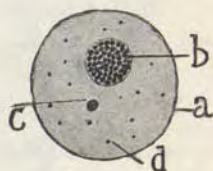


Fig. 98. — Núcleo de una célula nerviosa motriz de la médula espinal. *b*, nucleolo voluminoso formado por esférulas; *c*, esferas cromáticas accesorias; *d*, corpúsculos especiales no cromáticos; *a*, membrana nuclear.

Jugo nuclear. — Es el líquido transparente, poco o nada colorable por los reactivos de la cromatina, que llena las mallas del armazón cromático y todo el espacio limitado por la membrana nuclear. Este líquido tiene en disolución diferentes materias proteicas, las cuales, después de la muerte o por la acción de los coagulantes, pueden precipitarse, engendrando a menudo una reticulación pálida y granujienta.

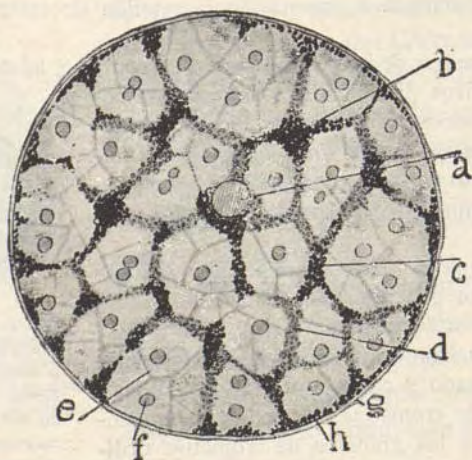


Fig. 99. — Esquema de la composición morfológica del núcleo. *a*, nucleolo verdadero; *b*, nucleolo falso o cromático; *c*, basicromatina; *d*, oxicromatina; *e*, filamentos de linina; *f*, esferas de edemantina; *g*, membrana; *h*, corteza cromática.

Nucleolo. — Es un pequeño corpúsculo, generalmente redondeado, yacente dentro del núcleo como el núcleo dentro de la célula. Hay que distinguir dos especies de nucleolos: los aparentes y los reales.

Nucleolos aparentes. — Cuando no se conocía bien la estructura del núcleo, calificábase de nucleolo todo grano de algún tamaño y resalte que surgía en medio de la masa nuclear. Hoy se sabe que la mayor parte de los nucleolos que los autores antiguos señalaban en las células no eran otra cosa que los nudos más espesos del retículo cromático, entre los cuales suele existir uno, donde la cromatina aparece especialmente acu-

mulada. Como nucleolos aparentes pasan también las manchas germinativas del óvulo (de las que ya hemos dicho constan esencialmente de cromatina), y los acúmulos cromáticos nucleares de muchos organismos vegetales y animales inferiores.

Nucleolos verdaderos. — Así se llaman unos corpúsculos comúnmente esféricos y esencialmente constituídos por una materia especial, llamada por nosotros *nucleolina* (1883), y que hoy, desde las investigaciones minuciosas de Zacharias y Schwartz, se denomina *pirenina* o *paranucleína* (fig. 100, a).

La *pirenina* o materia del nucleolo goza de gran refringencia, resaltando hasta en el mismo bálsamo del Canadá; resiste, al revés de la nucleína, la acción de los álcalis diluïdos; y el ácido acético le presta gran transparencia, aunque no llega a disolverla. El ácido ósmico, que hace palidecer la cromatina, exagera la refringencia de la pirenina. El método del nitrato de plata reducido colorea en café o rojo los nucleolos.

El núcleo verdadero existe en todas o la mayor parte de las células. Ignórase si posee estructura especial; lo único que puede asegurarse es que está rodeado de fina membrana y que, a menudo, encierra algunas vacuolas. En los nucleolos de las larvas de insectos hemos creído notar una textura filamentososa.

Sin embargo, la textura filamentososa señalada por nosotros (grandes células glandulares de las larvas de muscudo), así como la disposición reticulada descrita por Carnoy (óvulo de tritón), pudieran interpretarse como simple efecto óptico de numerosas y apretadas vacuolas, provocadas artificialmente por los reactivos. Por artificial diputamos también el *nucleino* de ciertos autores, que nos parece representar, por lo menos en muchos casos, una vacuola pequeña y central producida en ciertos gruesos nucleolos (óvulo, células nerviosas, etc.), por los reactivos fijadores. En cambio, hay nucleolos grandes (células nerviosas) donde se observan claramente esférulas inferiores y una materia intersticial (fig. 98 b).

Paranucleolos. — Existen nucleolos verdaderos de composición más

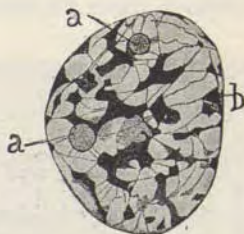


Fig. 100. — Núcleo de la capa germinal del epitelio intestinal de la salamandra. Sublimado. Coloración por la hematoxilina ferruginosa. a, nucleolos insertos en la red de cromatina; b, grumos cromáticos. (Según M. Heidenhain.)

complicada. Flemming y O. Hertwig han notado que los nucleolos o manchas germinativas de ciertos óvulos (*Asteria glacialis*, *Cyclas cornea*, etc.), están formados por la reunión de dos corpúsculos de tamaño desigual y de propiedades químicas diferentes.

El mismo fenómeno se da en el óvulo de moluscos, anélidos y arácnidos (Montgomery, Orbst, etc.), en donde a menudo se descubren dos nucleolos: uno *principal* simple o doble, relativamente pequeño, y otro *accesorio*, designado comúnmente el *paranucleolo*, y que sólo aparece cuando el óvulo se acerca a la fase de madurez. El *paranucleolo* yace unas veces

en contacto con el nucleolo principal, mas a veces se aleja de él. El nucleolo accesorio toma menos enérgicamente los colores que el núcleo principal.

Significación del nucleolo.

Para muchos representa un órgano vivo estructurado, puesto que alguna vez ofrece movimientos amiboides y de traslación (Eimer, O. Hertwig, van Beneden, Balbiani, Schwalbe, Auerbach, etcétera), y es susceptible de dividirse, al modo del centrosoma, durante el proceso de la segmentación directa. Otros autores, entre los que se cuenta M. Heidenhain, opi-



Fig. 101. — Trozo de un corte del cerebelo del conejo. Coloración por el proceder del nitrato de plata reducido. *a*, bastoncito cristaloides del núcleo de una célula estrellada gruesa; *b*, fino bastoncito de los granos; *c*, nucleolo formado por esferas finas.

nan, por el contrario, que dicho órgano constituye una inclusión alimenticia de carácter temporal y privada de organización. Fúndase este parecer, sobre todo, en la no participación de dicho organito en el fenómeno de la mitosis, durante el cual se le ve casi siempre disolverse en el jugo nuclear, para reaparecer más adelante, acabada la división celular, por una especie de secreción.

Bastoncitos cristaloides intranucleares. — En general, el núcleo no parece contener inclusiones. Hay, sin embargo, células cuyo núcleo encierra un bastoncito flexible, coloreable por ciertos procederes a las anilinas, y sobre todo por el método del nitrato de plata reducido (primera fórmula con nitrato de plata al 0,50 por 100). Este bastoncito, reputado por materia cristaloides, especie de reserva alimenticia nuclear, es absolutamente constante en los granos del cerebelo, donde es finísimo, según puede observarse en la figura 101 *b*, y en casi todas las neuronas de pequeño o mediano calibre del cerebro. Indicado por Roncoroni hace algunos años, reconocido después esporádicamente por Lenhossek y Holmgrem en algunas células, ha sido particularmente estudiado por nosotros (1903) y por Nageotte (1908)

en el cerebro y cerebelo con ayuda del citado proceder argéntico, que lo colorea constantemente.

Membrana nuclear. — El núcleo se limita por una membrana finísima, homogénea, resistente a los ácidos y álcalis e incolorable por los agentes tintóreos de la cromatina.

En la constitución de la membrana nuclear entra, de manera principal, una substancia de propiedades especiales: la *anfipirenina* de Zacharías.

Por lo demás, la membrana del núcleo es difícilmente revelable en algunas células, por ejemplo, en los hematíes nucleados de los anfibios; en cambio, resalta con perfecta claridad en el óvulo y células nerviosas gigantes.

Además de esta cubierta fina e incolorable (membrana acromática), algunos autores admiten otra situada por dentro de la anterior, construída de cromatina (*membrana cromática*) en continuación con el armazón nuclear; pero ésta, en realidad, no es membrana, sino mera apariencia motivada por el hecho de que algunas trabéculas del armazón cromático se extienden paralela e inmediatamente por debajo de la cubierta acromática, pareciendo, en el enfoque ecuatorial, como que se funden en masa continua.

CAPÍTULO IV

CONSTITUCIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA CÉLULA

Composición química de la célula. — El análisis químico separa de las células agua, sales, albuminoides, grasas, hidratos de carbono, fermentos y diversos productos resultantes de la degradación de los albuminoides preferentemente. La proporción varía notablemente según las células analizadas y el estado fisiológico; pero según los resultados obtenidos por Reinke y Rodewald, en el *Aetaliium septicum* el agua constituiría el 71 por 100 y las materias sólidas se distribuirían del siguiente modo: nitrogenadas, 30 por 100; hidrocarbonadas, 41 por 100, y minerales, 29 por 100.

El *agua*, que puede llegar en ocasiones a constituir el 95 por 100 (tejido muscular), es el disolvente general de las sustancias cristaloides ionizables (sales), de las cristaloides moleculares (urea), de las coloides en estado de *sol* (albúminas) y el líquido de imbibición de los *geles* (jaleas).

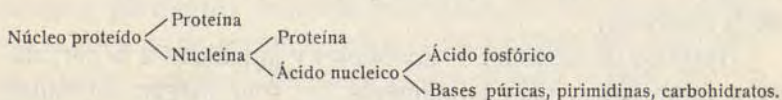
Las *sales* halladas son principalmente combinaciones de los ácidos carbónico, fosfórico, sulfúrico, láctico, acético, fórmico, oxálico y el cloro, con el sodio, potasio, calcio, magnesio, variables en las distintas células, en proporción y calidad. Se encuentran con toda probabilidad ionizadas en el agua celular, manteniendo el equilibrio molecular y el estado de los coloides, y combinadas a las materias albuminóideas en forma de compuestos complejos, en los que los grupos salinos introducen la capacidad de entrar en reacción.

Albuminoides. — Químicamente se clasifican en *proteínas* (proteínas sencillas) y *proteídos* (proteínas compuestas).

Las proteínas son combinaciones de ácidos amídicos (glico-

cola, alanina, valina, serina, ácidos glutámico y aspártico, arginina, lisina, histidina, cistina, tirosina, triptófano, etc., es decir, de ácidos orgánicos que tienen un H substituído por el grupo amido NH₂ en el C inmediato al carboxilo COOH (posición α). Según la complicación, resultan las protaminas, histonas, albúminas, globulinas, caseínas. En los proteidos o proteínas compuestas únense a proteínas complejísimas otras sustancias no albuminóideas (grupo prostético), que dan al compuesto sus características, distinguiéndose los núcleoproteidos, los glucoproteidos y los cromoproteidos.

Por la descomposición de los núcleoproteidos se obtienen los siguientes cuerpos:



De los glucoproteidos, mucinas y mucoides se separan con dificultad hidratos de carbono (30 a 35 por 100) y proteínas, y del cromoproteido humano (hemoglobina) se aislan una proteína compleja, la globina, y un compuesto orgánico de hierro, la hematina.

También se pueden encontrar en las células, como materiales de construcción de los albuminoides o como resultado de su degradación, colágena, elastina, albumosas, peptonas, polipéptidos, aminoácidos, bases púricas, urea, etc.

Grasas y lipoides. — Son las grasas éteres triácidos de un

alcohol trivalente, la glicerina $\begin{matrix} \text{CH}_2 \text{ OH} \\ | \\ \text{CH} \text{ OH} \\ | \\ \text{CH}_2 \text{ OH} \end{matrix}$ en que los oxhídricos han

sido substituídos por ácidos de las series grasas, principalmente el palmítico C₁₆H₃₂O₂ y esteárico C₁₈H₃₆O₂ de la saturada y el oleico C₁₈H₃₄O₂, resultando, pues, que la mayor parte de las grasas está formada por los ácidos grasos, obteniéndose de 100 gramos de grasa animal, por saponificación, sólo 9 gramos de glicerina. Los lipoides (Overton) comparten con las grasas la

propiedad de disolverse en los disolventes neutros, éter, bencina, cloroformo, alcohol, etc., pero tienen constitución variada; los lipoides fosforados, fosfatidas, comprenden las lecitinas, éteres de la glicerina, en que dos oxihídricos han sido substituídos por ácidos grasos, y el tercero por el ácido fosfórico, combi-

nándose por medio de éste con la colina $\text{N} \begin{array}{l} \diagup (\text{CH}_2)_3 \\ \diagdown \text{C}_2\text{H}_4\text{OH base} \\ \text{OH} \end{array}$

orgánica, probablemente mediante el oxihídrico alcohólico y otros cuerpos en que cambia la base y la proporción del fósforo y carbono entre los no fosforados, no bien conocidos en su constitución; la colesterina es un alcohol monovalente, y los cerebrósidos, frenosina, cerasina, son glucósidos de la galactosa.

Hidratos de carbono. — Alcoholes y aldehidos a la par, de gran importancia para la alimentación, sólo juegan un papel mínimo en la constitución de la célula, entrando en la constitución de los glucoproteídos y lipoides no fosforados, y apareciendo únicamente el glucógeno (polisacárido) en los depósitos celulares.

* * *

Kossel clasificó las substancias que entran en la composición de la célula en primarias, o sean las que se encuentran en todas ellas, debiendo formar la parte principal del protoplasma (en el sentido lato de la palabra), y secundarias, inconstantes e interviniendo solamente como elementos de construcción o de desecho. La rápida revisión que acabamos de hacer de los principios inmediatos nos permite afirmar que los componentes primarios de la célula, perceptibles en el examen microscópico, han de corresponder a los proteídicos y lipoides; las proteínas (globulinas y albúminas), que se consideraron en tiempos pasados como la parte predominante, no son sino escalones en la edificación o demolición de los proteídicos, y las grasas neutras y los ácidos grasos, lo mismo que el glucógeno, reservas alimenticias.

El análisis químico resulta grosero en extremo para separar las materias que integran cada una de las particularidades estructurales de las células; apenas ha podido decir otra cosa que el predominio de los nucleoproteídos, en aquellos tejidos en que abundan los núcleos y algo sobre la composición especial de los albuminoides de diferentes tejidos. La microquímica, haciendo actuar los reactivos sobre las células bajo la inspección del microscopio, no ha hecho avanzar mucho más nuestros conocimientos en esta cuestión; los estudios de Zacharías, Schwarz, Henneguy, Heidenhain, Reinke, y los recientes de Unna, con su método de la cromolisis, pretendiendo separar sustancias químicas diferentes, sólo han puesto de manifiesto diferenciaciones morfológicas, cromatina, linina, pirenina, anfi-pirenina, paralinina, lantanina, edematina, etc. La microquímica carece todavía de métodos precisos para caracterizar las distintas especies químicas, limitándose por ahora a señalar con vacilaciones el carácter químico, ácido o básico de determinadas formaciones y a indicar la presencia de fermentos y productos intermediarios y de reserva, grasas, glucógeno, etc. No debemos olvidar, por otra parte, que, según decíamos al tratar de los métodos de coloración, quizá juegue importante papel en estas reacciones microquímicas el estado físico de los componentes celulares.

Estado físico del contenido celular. — De todos los elementos físicos que constituyen la célula, sólo una mínima porción, sales, urea, creatina, bases púricas, aminoácidos, azúcares, etc., pueden formar en el agua, disolvente general, disoluciones ionizadas o moleculares; las proteínas, proteídos, grasas, lipoides y el glucógeno, forman de ordinario, disoluciones coloidales, y alguna vez suspensiones y emulsiones. Pero dentro del estado coloidal, característico de la materia viva, existen todos los grados de transición imaginables entre el estado máximo de dispersión de las disoluciones moleculares (por debajo de 5μ) y las dispersiones groseras, suspensiones, emulsiones (por encima de $0,1 \mu$), ya visibles; una disolución de albúmina de huevo cristalizable, molecular, pero coloide merced al extraordinario volumen de sus moléculas, puede,

por influencias diversas (electrolitos, calor, etc.), cambiar progresivamente su estado de dispersión, aglomerándose sus moléculas hasta llegar a constituir masas perceptibles en la coagulación, es decir, que ha pasado insensiblemente del estado de sol más disperso al de gel, sin cambiar su composición química.

Los coloides celulares ¿están en estado de sol o en el de gel? En las células vegetales, donde Gaidukow ha estudiado esta cuestión, observando el movimiento browniano, sólo posible en los soles, ha visto siempre que el protoplasma viviente es un hidrosol; pero en ciertas circunstancias fisiológicas (procesos nutritivos, según Bechhold) puede aumentar la agregación sin llegar a gel, en tanto que la materia está viva; aunque, según Borownicow, en las semillas y esporos existirán verdaderos geles, transformables en soles por la hidratación en el momento de la germinación. En las células animales, por el contrario, predomina el estado de gel más o menos hidratado. Para Petersen la substancia celular es esencialmente un coloide de tres fases: una disolución auténtica, un coloide hidratado de albuminoides y otro de lipoides.

Modificaciones producidas por los fijadores. — Hardy estudió con el microscopio geles de albúmina de huevo y gelatina, en preparaciones teñidas por diferentes colorantes, después de la acción de los fijadores más corrientes en la técnica histológica, ácido ósmico, bicromato potásico, sublimado, formol, encontrando que en modificación insoluble de un coloide hay separación del sólido y el líquido, formando el primero una trama que encierra el líquido, sea cualquiera el estado inicial (sol, gel o mixto), y dependiendo el aspecto de la trama de la naturaleza y concentración del coloide, del fijador, de la temperatura y de la concentración de los cristaloides. La muerte celular, simplemente, puede hacer aparecer estas estructuras, que tienen una gran analogía con las encontradas en muchas células y han servido de base a las teorías del protoplasma. Sólo la comprobación en células vivas permitirá resolver cuál es la estructura microscópica del protoplasma viviente.

Diferencias del núcleo, citoplasma y membrana, en la constitución físico-química. — Si por las razones antes dichas resulta imposible conocer hasta ahora la constitución físico-química de las distintas partes de la célula, un gran número de observaciones coincidentes permite señalar diferencias acusadas entre las principales, dando algunas orientaciones sobre su constitución.

Probablemente los proteídos y proteínas se distribuyen por el citoplasma y núcleo, siendo las diferencias más bien cuantitativas que cualitativas, y debiéndose el teñido de la cromatina nuclear más bien a un predominio de los núcleoproteídos que a la presencia de alguno que no esté en el citoplasma; las diferencias entre éste y el núcleo estriban en el distinto grado de saturación de los ácidos nucleicos por las proteínas, poco saturados en el núcleo, según denota su basifilia, saturados por completo generalmente en el citoplasma. En el propio núcleo habría idénticas diferencias entre la cromatina y la linina o porción acromática del retículo. Existen variaciones evidentes en la distribución de la cromatina, que apoyan este modo de ver; dentro de una misma célula existen diferencias marcadas, según que se encuentre en estado de división mitótica, en que la cromatina aumenta considerablemente, desapareciendo la porción acromática, o en estado de reposo, en que queda reducida en algunas a raras y pequeñas esferulas, adheridas a un abundante retículo acromático; en el citoplasma existen formaciones basófilas, como los grumos de Nissl de las células nerviosas y el protoplasma de las células plasmáticas o cianófilas, y la intensidad puede variar con los estados funcionales.

Las mitocondrias, elemento constante al parecer en el citoplasma vivo, deben estar constituidas por lipoides fosfáticos, unidos a proteínas, a juzgar por sus reacciones de solubilidad y coloración.

La membrana celular, para Overton y Mayer, estaría constituida por lipoides (lecitina, colestestina, protagón, cerebrina), ya que en las coloraciones vitales los colorantes que penetran y vuelven a salir, si se colocan las células en líquido sin color, de un modo físico, por consiguiente, (rojo neutro, azul de me-

tileno, azul de toluidina, tionina, safranina), son solubles en los aceites, grasas y ácidos grasos, no siéndolo los que no penetran. Ruhland y otros han opuesto serias objeciones a esta hipótesis, puesto que forzosamente deben atravesar la membrana agua, azúcares, aminoácidos y sales no solubles en lipoides, sustancias necesarias para la vida celular; pero, en general, es admitida la idea de que en la membrana celular deben intervenir las proteínas y los lipoides.

CAPÍTULO V

FISIOLOGÍA CELULAR

IRRITABILIDAD

(Como expusimos ya en las generalidades sobre los elementos anatómicos, la célula es un ser viviente que, en medio de su subordinación al conjunto orgánico, goza de cierta autonomía funcional.)

La virtud que toda célula viva posee de entrar en acción bajo la provocación de los estímulos exteriores se llama *irritabilidad*. *Irritación* designa la irritabilidad en acto o en ejercicio.

La irritación depende de dos condiciones: la presencia de la máquina celular en sus integridades morfológica y química y las variaciones químicas o dinámicas del medio pericelular, variaciones que se designan generalmente con el nombre de *estímulos* o de *excitantes*.

Se sigue de aquí que la célula no puede entrar en función espontáneamente, sino que necesita siempre del concurso de un estímulo de origen exterior, que conmueva su mecanismo y despierte sus actividades. La energía que la célula despliega en sus movimientos no es otra cosa que la reflexión de las energías que, ya en estado de tensión, ya en forma de fuerzas vivas, llegaron del mundo exterior.

En las células federadas constitutivas del organismo de los animales superiores, los estímulos son de dos clases: *fisico-químicos* (toda variación de composición química o todo cambio dinámico del medio pericelular) y *vitales*, es decir, las excitaciones provocadas por otros elementos, tales como las células nerviosas, etc.

En los seres monocelulares, los estímulos son siempre físi-

co-químicos. Ahondando en el mecanismo de los estímulos se ve que todos ellos, aun los vitales, proceden, en definitiva, del mundo exterior.

Especificidad de la reacción. — El mismo estímulo, en igualdad de condiciones, provoca en la célula la misma manifestación; pero todas las células no responden idénticamente a la influencia del mismo estímulo. Esto depende de la especial estructura de cada una. Así, el calor, los agentes químicos, los contactos, etc., desenvuelven en los leucocitos fenómenos de contracción; en las células nerviosas, descarga de corrientes; en las fibras musculares, la retracción en un solo sentido, etc.

Semejante propiedad, llamada *especificidad de la reacción*, aparece, sobre todo, en los elementos notablemente diferenciados.

Desigualdad entre el estímulo y la reacción. — Otro interesante atributo consiste en la desproporción entre la cantidad del estímulo y la energía de la reacción. Para que una célula responda a la acción de un excitante es preciso que éste alcance cierta intensidad (*dintel* de la excitación), sin sobrepasar, empero, cierto límite. En general, cabe afirmar que los esfuerzos reaccionales crecen más aprisa que los estímulos y llegan rápidamente al máximo.

Ley de la irreversibilidad. — Dastre y otros autores hacen notar, con razón, que las energías celulares son irreversibles: van desde un fenómeno químico a un fenómeno térmico, que cierra siempre el ciclo de las transformaciones energéticas. La energía, casi siempre *química*, es tomada del mundo exterior.

Ley del ritmo fisiológico. — La célula adulta vive y trabaja, es decir, se nutre, y en momentos especiales funciona (Santin).

Clasificación de los estímulos. — Pueden distribuirse los estímulos fisico-químicos o ectógenos, como propone O. Hertwig, en cinco grupos: estímulos *térmicos*, *luminosos*, *eléctricos*, *mecánicos* y *químicos*.

Temperatura. — Elevando la temperatura del medio de 40° a 50° mueren ya muchos infusorios, así como muchas células de tejido de los animales. Un calor moderado aviva los movimientos amiboides. El frío es resistido mejor que el calor, par-

ticularmente por las plantas, cuyas células pueden volver a la vida, aun cuando el jugo celular aparezca más o menos congelado.

Luz. — La piel del camaleón, la de la rana, la de los cefalópodos, etc., presenta unas células conjuntivas estrelladas, cuyo protoplasma alberga granos de pigmento. Bajo la acción de la luz, estas células (*cromatóforos*) retraen sus expansiones, y como el pigmento ocupa menos extensión superficial, la piel del animal se aclara; lo contrario sucede en la obscuridad, donde el pigmento se extiende y la piel se oscurece. Si, mediante el cloroformo, se paralizan los cromatóforos del camaleón (por acción local sobre la piel), la luz no induce en ellos contracción alguna hasta que el narcótico es eliminado.

Más adelante, al tratar de los epitelios, veremos que en la retina existen también ciertos corpúsculos (capa pigmentaria), cuyos granos melánicos cambian de posición bajo el influjo de la luz.

La influencia de la luz sobre ciertas algas e infusorios no es menos curiosa. Así, cuando se ilumina parcialmente una preparación en que se conservan *euglenas* vivas (*Euglena viridis*), estos infusorios se acumulan rápidamente en la región iluminada.

En las foliolas de ciertas plantas obsérvase un curioso cambio de posición de los cloroplastos bajo la influencia de la luz. Si ésta es escasa, se acumulan en la porción superficial de la membrana, mientras que en la obscuridad y al sol ocupan las paredes profundas y perpendiculares de las células.

Electricidad. — Las corrientes de inducción determinan contracciones y como apelonamiento del protoplasma de las células de la *tradescantia* (pelos estaminales), suspendiendo las corrientes de granitos. En los leucocitos se encogen rápidamente los pseudópodos, adquiriendo el cuerpo celular forma redondeada.

Verworn ha descrito con el nombre de *galvanotropismo* un fenómeno curioso. Cuando se pone en el portaobjetos eléctrico una gota de agua que contenga numerosos ejemplares de *Paramacyna aurelia*, estos protistos se orientan en el sentido



de las curvas de corriente y se acumulan en el polo negativo. En cambio, un infusorio ciliado, el *Spirostomum ambiguum*, sometido a las mismas condiciones, no se mueve, pero sí adopta una dirección perpendicular a las líneas de fuerza.

Excitantes mecánicos. — El simple contacto con otros elementos provocaría, según Massart y Bordet, la contracción de los leucocitos. El contacto con un cuerpo extraño suscita en las fibras musculares un acto de contracción, y en las nerviosas la producción de la corriente.

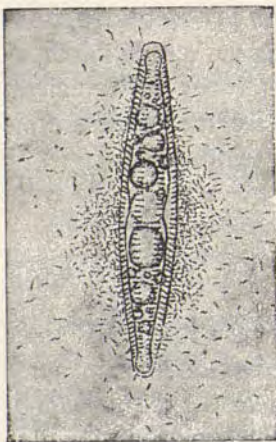


Fig. 102. — Enjambre de microbios que acuden a las inmediaciones de un alga expuesta a la luz. (Según Verworn.)

Excitantes químicos. — Son los de influencia más general, aunque de mecanismo menos conocido. Indicaremos aquí algunos de aquellos cuya acción se ha estudiado mejor.

El *oxígeno* excita los movimientos de los leucocitos y de casi todas las células susceptibles de contraerse. La sensibilidad de ciertos microbios (aerobios) por el oxígeno es tan grande que pueden emplearse como reactivo de mínimas cantidades de este gas. Si, a ejemplo de Engelmann, se pone en una gota de agua que contenga microbios una alga microscópica,

la infinitesimal cantidad de oxígeno que ésta exhala en presencia de la luz, atrae rápidamente las bacterias, que acaban por rodear completamente el vegetal. En la figura 102 reproducimos una figura de Verworn, donde puede verse el enjambre microbiano que rodea la minúscula planta en cuanto se hace caer sobre ella un rayo de sol.

El *éter*, el *cloroformo*, el *hidrato de cloral*, suspenden rápidamente los movimientos del protoplasma y hasta la evolución del óvulo fecundado. Eliminados estos agentes, las funciones vitales se restablecen.

Entre las acciones determinadas por agentes químicos, una de las más interesantes es la que Pfeiffer ha llamado *quimiota-*

xis. Es la propiedad que tienen muchos microorganismos, y los mismos leucocitos de la sangre, de ponerse en movimiento en la dirección de las corrientes de difusión determinadas por un agente químico, que se designa *substancia reclamo* o *substancia quimiotáctica*. Este fenómeno, señalado primeramente por Pfeiffer en los zoospermos de las criptógamas, ha sido estudiado recientemente en los leucocitos por Büchner, Massart y Bordet, Gabritchewsky, Metchnicoff, etc. De él tratamos especialmente en nuestra *Anatomía patológica*.

Clasificación de las actividades celulares. — Las modalidades de la irritación pueden condensarse en tres grupos: fenómenos de la vida de relación, tales como movimientos; fenómenos de la vida nutritiva (asimilación, desasimilación, respiración, secreciones), y fenómenos de la vida generativa (división celular y conjugación). Pero antes debemos decir algo de la división del trabajo.

División del trabajo. — En la época embrionaria, cuando las hojas blastodérmicas no se han formado aún, los elementos del embrión no parecen tener otras funciones que las de nutrirse y reproducirse; pero en cuanto se constituye el mesodermo, con sus diversas derivaciones, y el ecto y entodermo, con aquellos plegamientos que se convertirán, andando el tiempo, en médula espinal y en intestino, se inicia la división del trabajo, entregándose cada tejido a una labor particular. Y es de notar que esta división del trabajo precede en el embrión a la diferenciación anatómica. Así, las células cardíacas, mucho antes de mostrar su estriación protoplasmática característica, dan comienzo a sus contracciones; las células sanguíneas, antes de modelarse definitivamente, se entregan ya a su especialidad funcional de formar hemoglobina y atraer el oxígeno, etc.

Concluida la evolución del organismo, cesa asimismo el reparto de papeles en la escena orgánica. Cada célula, sin dejar de cultivar las actividades generales de nutrición y generación, perfecciona una o varias funciones, que constituirán su profesión orgánica y su título, digámoslo así, a la participación en los recursos nutritivos de la gran república celular. Las activi-

dades nutritiva y proliferativa, verdaderos gajes de la vida social de las células, sólo en casos contadísimos son sacrificadas en aras del principio de la división del trabajo. Por excepción puede citarse la célula nerviosa, que, entregada a la importante labor de poner en relación todas las partes del organismo y de presidir y coordinar el trabajo y nutrición de los demás elementos, ha renunciado al privilegio de la reproducción.

En la serie filogénica se cumple también, como en la evolución ontogénica, el principio de la división del trabajo. Conforme se asciende en la escala animal, las células primitivamente autónomas y entregadas a toda suerte de actividades, se distribuyen en tejidos, cada uno de los cuales profesa un oficio particular. En general, este proceso de diversificación anatómo-fisiológica implica repartición de papeles diferentes en elementos y tejidos especiales. Mas, en ocasiones, antes de que se produzcan elementos específicos para actividades especiales, un mismo corpúsculo puede adaptar porciones separadas de su protoplasma a fines fisiológicos diversos. En capítulos anteriores hemos llamado la atención acerca de la complejidad estructural y pluralidad orgánica y funcional de los infusorios y demás células independientes. Cosa análoga se da también en muchos metazoarios inferiores. Por ejemplo, en las *actinias* el tegumento encierra ciertas células, llamadas *neuroepitêlicas* o *epiteliomusculares*, cuyo cuerpo se ha diferenciado en dos porciones separadas: una exterior, probablemente sensible a las excitaciones llegadas del ambiente (*porción nerviosa*), y otra profunda, dispuesta en fibra tangencial y que tiene la significación de *fibra muscular* (fig. 103, a).

NUTRICIÓN CELULAR

Los elementos anatómicos poseen la virtud de reaccionar sobre el ambiente en que viven, eligiendo y asimilándose las materias susceptibles de reponer los desgastes sufridos en el ejercicio de las actividades funcionales o profesionales.

Para comodidad expositiva distinguiremos en el proceso

nutritivo varios actos: prehensión, absorción, digestión, asimilación, desasimilación, respiración y secreción.

Prehensión del alimento. — Los animales monocelulares, tales como los amibos e infusorios, que se alimentan de presas muertas o vivas, pueden ejecutar verdaderos actos de prehensión y englobamiento. En los amibos, la prehensión se verifica con ayuda de ciertas expansiones emitidas por el protoplasma, las cuales agarran la partícula alimenticia y la conducen al es-

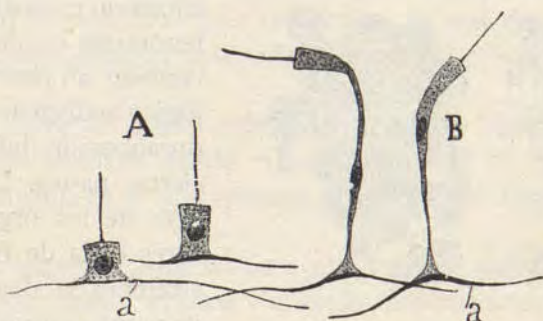


Fig. 103. — Células epitelio-musculares del epidermis de la *actinia*. A, tipos cortos; B, tipos más largos; a, fibra muscular rodeada del protoplasma epitelial. (Según R. Hertwig y Bergh.)

pesor del cuerpo celular; en éste permanece hasta sufrir, caso de ser digestible, una verdadera digestión. En los infusorios, la prehensión del alimento se efectúa a favor de pestañas o flagelos contráctiles, órganos permanentes de locomoción del animal.

Las células fijas de tejido de los animales no necesitan consagrarse a la pesquisa del alimento; gracias a la división del trabajo, la prehensión, selección y disolución de aquél corre a cargo de ciertos tejidos (muscular, glandular, epitelial, etc.), cuya labor armónica tiende a formar, entre los corpúsculos de tejido, un medio químico adecuado a la reparación nutritiva.

La célula animal federada no se alimenta, sino que es alimentada, siendo de su incumbencia solamente elegir las sustancias más apropiadas a su nutrición y al desempeño de su profesión orgánica. Por excepción, los leucocitos y algunos

corpúsculos conectivos de los animales superiores, han conservado, y acaso perfeccionado, el hábito de devorar cuerpos extraños, vivos o muertos, y de someterlos a un acto de digestión intraprotoplásmica (fig. 104).

Esta función de los leucocitos y células conectivas ha sido llamada *fagocitosis* por Metchnikoff, quien le concede gran importancia, pues le atribuye la defensa del organismo contra las agresiones de los microbios patógenos.

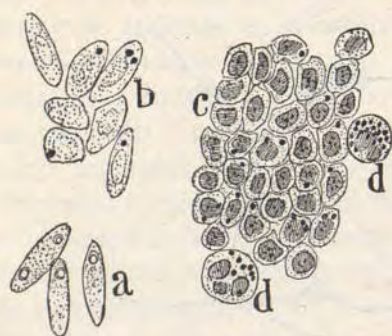


Fig. 104. — a, b, Plaquetas de la sangre de rana con microbios fagocitados; c, d, leucocitos conteniendo microbios.

Por lo demás, la fagocitosis no es solamente un fenómeno de defensa, es también un proceso fisiológico indispensable a la organización definitiva de ciertas partes. La absorción de los órganos larvares (cola de renacuajo, etcétera); la desaparición de vasos embrionarios en partes que no deben tenerlos (epiplón mayor del conejo, etc.); la demoli-

ción del hueso embrionario; la desaparición de los hematíes gastados; la destrucción y remoción de las células muertas o agostadas, son actos que los leucocitos realizan, aprovechando, al efecto, su cualidad de agarrar y encarcelar todas las partes sólidas y de tamaño no muy grande con que topan en su camino. Es probable que influyan también en este fenómeno las variaciones de tensión superficial protoplasmática.

Absorción. — Así se llama al acto en virtud del cual penetran y se esparcen por la célula las sustancias alimenticias disueltas. Semejante fenómeno no es un proceso puramente físico, pues la célula escoge ciertas sustancias y rechaza otras.

Digestión. — La célula no se incorpora los materiales del medio en el estado en que los encuentra, sino que los hace sufrir cambios especiales, con ayuda de fermentos semejantes a los segregados por las glándulas. Esta actividad digestiva debe

ser mucho más eficaz en los microorganismos independientes y leucocitos que se alimentan, tanto de sustancias disueltas como de partículas insolubles. Algunos microbios derraman fermentos sobre el terreno mismo en que vegetan, para blandecerlo y transformarlo en líquido alimenticio.

Asimilación. — Consiste en la incorporación a la máquina celular, tanto de los principios arrebatados por la desasimilación como de las reservas nutritivas que deben subvenir a necesidades funcionales ulteriores. Así, las células glandulares no sólo asimilan lo necesario a la reparación de sus desgastes, sino las primeras materias destinadas a formar el producto secretorio.

Paralelo entre la célula animal y vegetal. — Difieren las plantas de los animales desde el punto de vista del trabajo químico efectuado en el protoplasma al utilizar los materiales alimenticios.

La *célula vegetal* aprovecha para su alimento materias minerales, particularmente el agua y el ácido carbónico. Con ayuda de la clorofila y del concurso de la luz, el protoplasma descompone el ácido carbónico del aire, se apodera del carbono y sintetiza el almidón, el azúcar, las grasas y hasta los mismos albuminoides, utilizando como factores químicos el agua, el ácido nítrico y sulfúrico del suelo.

La *célula animal* se alimenta de las materias orgánicas sintetizadas por el vegetal: el almidón, los azúcares, las grasas y los materiales proteicos, sustancias que transforma en otros principios y que destruye por oxidación.

Dinámicamente, la *célula vegetal* es una máquina que transforma fuerza viva en fuerza de tensión, y químicamente representa un laboratorio donde dominan los fenómenos de reducción sobre los de oxidación.

Dinámicamente, la *célula animal* es un aparato que transforma las fuerzas de tensión en fuerzas vivas, y químicamente, un laboratorio donde dominan los fenómenos de combustión u oxidación.

Cuando la asimilación contrapesa exactamente las pérdidas sufridas, la célula mantiene estrictamente su volumen; mas si

lo incorporado domina sobre lo desasimilado, se opera un aumento de tamaño.

Este crecimiento se observa, sobre todo, en la época embrionaria, durante la cual ciertos elementos pueden adquirir una estatura tres o cuatro veces más grande que la originaria. El crecimiento es, en ciertos casos, *bilateral*, como ocurre en las células musculares; *unilateral*, como sucede en los prismas cristalinos, y *multilateral*, como en las células nerviosas. El crecimiento excéntrico, uniforme, se verifica en el óvulo y las células adiposas.

Verosíblemente, el crecimiento local o multilateral, es decir, de determinados puntos del contorno celular, obedece a influencias quimiotácticas (véase más atrás) negativas y positivas. Así, el crecimiento de un capilar embrionario, hasta encontrar otro capilar con el cual se suelda para engendrar un travesaño anastomótico intervascular, se explicaría suponiendo que el protoplasma endotelial se impresiona por alguna substancia derramada por los capilares vecinos, y capaz de provocar, por una suerte de reacción amiboide, nuevos apéndices (Metchnikoff). De la misma manera cabría comprender, según indicamos nosotros hace tiempo (1890), el crecimiento de las fibras nerviosas y la creación de conexiones intercelulares. Por lo demás, la influencia de las alteraciones químicas del medio en el proceso de formación y crecimiento de las expansiones nerviosas es hoy un hecho incontrovertible, merced a los experimentos de transplantación ganglionar efectuados por Nageotte (1907) y Marinesco, y comprobados por L. Cardenal y nosotros (1909).

Desasimilación. — Es el acto en virtud del cual una parte de los materiales de la célula se disuelve y transforma, pasando al medio ambiente, para ser total o parcialmente eliminada. En su esencia, la desasimilación es tan enigmática como la asimilación: vemos los resultados, pero ignoramos las causas.

Respiración. — La célula atrae el oxígeno disuelto en los plasmas que la rodean, al objeto de quemar una parte de sus materiales de reserva y de organización, y producir ácido carbónico, vapor de agua y calor, que acaso aproveche el protoplasma como manantial de fuerza viva para ejecutar trabajo útil. El oxígeno aborda la intimidad de los tejidos, conducido por los hematíes, de cuya hemoglobina se aparta a la menor sollicitación de parte de las células. Esta atracción del oxígeno por las células se debe verosíblemente a las *oxidadas*.

Secreciones y excreciones. — Propiamente, llámase *secreción* al acto por el cual las células engendran materias especiales, disueltas o amorfas (diastasa, pepsina, tripsina, ácido hidrocólico, etc.), destinadas a operar la digestión de los alimentos. Esta función corre principalmente a cargo de las células glandulares (glándulas mamaria, hepática, pépsicas, salivares, etc.).

Excreciones. — Son las sustancias desasimiladas, impropias para la nutrición, que, después de circular por la sangre, deben ser eliminadas por ciertas glándulas (riñón, hígado, etc.).

Dependiendo la formación de sustancias excrementicias del acto mismo de la desasimilación y desgaste celular, todo elemento vivo será capaz de producir excreciones. Entre ellas, unas son líquidas, se difunden rápidamente a lo lejos, y son arrastradas por la sangre y linfa a los emunctorios naturales; pero otras se solidifican en cuanto salen del protoplasma, permaneciendo alrededor de la célula y constituyendo las *cápsulas* y las *materias amorfas o intercelulares*.

Si el producto de secreción se exhala por una de las caras de la célula, fórmase lo que se llama *chapa* o *cutícula* celular. Tal acontece en los elementos epiteliales del tubo digestivo, en los prismas cristalinos (formación de la cápsula) y en las células más profundas del cuerpo de Malpigio. En la piel de muchos animales, particularmente en la de los insectos, las células pueden elaborar un número extraordinario de chapas superpuestas.

Cuando el producto segregado se derrama indistintamente por todos los lados de la célula, constrúyese una gruesa *cápsula* (óvulo, células cartilaginosas), es decir, una membrana espesa, transparente, cuyo grosor guarda relación con la edad del corpúsculo secretor.

Por último, la materia amorfa o intercelular, tan abundante en los tejidos cartilaginosos, óseo y conjuntivo, depende de que, siendo muchas las células secretorias, el producto de cada una se confunde, elaborándose grandes masas intersticiales, donde no es posible marcar la obra individual de cada elemento.

Muerte de las células. — El organismo es como un pueblo, cuyos individuos se renuevan muchas veces durante la vida de la colectividad.

Hay elementos cuya vida dura solamente algunos días, verbigracia, los elementos epiteliales de la piel y los de algunas glándulas; otros, como los cartilaginosos musculares y conjuntivos, prolongan su vida varios años; pero a todos superan en longevidad los nerviosos, que subsisten tanto como el organismo.

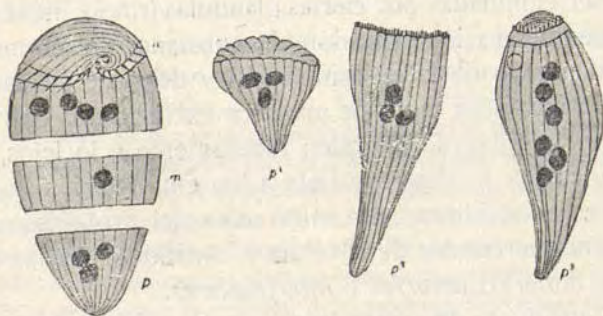


Fig. 105. — Merotomía de un infusorio. P^1 P^2 P^3 , fases por que atraviesa uno de los pedazos provistos de núcleo hasta convertirse en individuo adulto. (Según Balbiani.)

El grado de vulnerabilidad y, por tanto, el mayor o menor riesgo de muerte accidental, varían para cada tejido. La menor oscilación de temperatura o de composición del medio nutritivo aniquila las células nerviosas y musculares; en cambio, ciertos epitelios, los leucocitos, los corpúsculos conjuntivos, etc., soportan impunemente alteraciones bastante graduadas de calor y de medio alimenticio, etc.

De esta resistencia se saca partido para observar vivos estos elementos y sorprender sus actividades fisiológicas. Semejante persistencia vital, fuera de las condiciones mesológicas normales, se advierte sobre todo en los animales de sangre fría. En general, puede afirmarse que la vida celular es tanto más resistente y autónoma cuanto menos diferenciación alcanza la célula en el desempeño de una actividad funcional específica.

El modo de muerte tiene origen unas veces por sobrecar-

ga de materiales extraños (grasa, eleidina, keratina, hemoglobina, etc.); otras, por una suerte de disolución (óvulo no fecundado, células granulosas de la vesícula de Graaf, leucocitos, etc.).

La *remoción del cadáver* se efectúa, ya por simple desprendimiento en una superficie inmediata (epitelios), ya por *fagocitosis*. En este caso, la célula muerta es englobada por leucocitos y acaso destruída en el bazo o en la médula ósea.

Acción del núcleo en la vida nutritiva de la célula.

— El núcleo aislado, como el protoplasma aislado, son incapaces de vivir. Según la expresión de Watase, forman una *simbiosis*, es decir, una asociación mutualista comparable a las formadas por algas y hongos para constituir los líquenes o las producidas por la hidra y sus cloroblastos. Si, a ejemplo de Nussbaum, cortamos en fragmentos un infusorio, sólo el trozo que albergue el núcleo continuará viviendo y reparará lo que falta. En rigor, el fragmento anucleado subsistirá algún tiempo; pero, siendo incapaz de regenerar su lesión y de sintetizar materias orgánicas, en cuanto agota sus reservas alimenticias perece.

En la figura 105 reproducimos las fases por que atraviesan los pedazos nucleados de un *Stentor* merotomizado, según Balbiani.

El núcleo desempeña importante papel en la secreción y asimilación de la célula. En los vegetales en vías de crecimiento es frecuente sorprender el núcleo en el paraje en que el movimiento de expansión y asimilación es más enérgico. Entre los ejemplos más interesantes citados por los autores están los apéndices piliformes de las raíces del *Phaseolus*, donde se ve

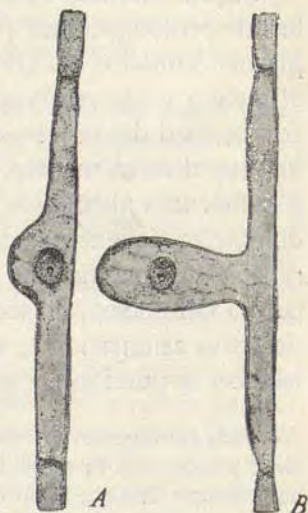


Fig. 106. — Formación de apéndices protoplásmicos en la región nuclear de los pelos radicales del *Phaseolus*.

que el pelo brota constantemente en la región nuclear del protoplasma y que el núcleo se disloca insinuándose en el apéndice recién formado (fig. 106).

Otro buen ejemplo de influjo nuclear sobre la capacidad asimilativa del protoplasma se nos ofrece en la regeneración de los nervios después de su sección.

Según veremos más adelante, cada nervio representa un haz de prolongaciones (*axones* o *fibras nerviosas*) del protoplasma somático o cuerpo neuronal, dentro del cual residen el núcleo y las reservas nutritivas. Cuando se interrumpe la continuidad del nervio, ambas porciones o cabos compórtanse de muy diversa manera, según probaron hace tiempo Waller y numerosos histólogos. El *cabo periférico* o porción privada del núcleo degenera y muere rápidamente. En cambio el *cabo central*, que mantiene su continuidad con la región celular portadora del núcleo, no sólo subsiste íntegro, sino que es asiento de activa asimilación y, retoñando y creciendo, acaba por restablecer la porción nerviosa destruída.

Vida extraorgánica de la célula o cultivos celulares. — La empresa de aislar y hacer vivir fuera del organismo ciertos elementos, fué ya abordada hace tiempo. Remak, Schültze, Ranvier, Kölliker, Arnold, etc., etc., lograron observar, durante horas y aun días, tanto en plasma linfático como en líquidos salinos isotónicos, los movimientos vitales de leucocitos, células conectivas jóvenes, corpúsculos musculares (insectos), epitelio vibrátil, etc. El leucocito, sobre todo, nos sorprende por su singular capacidad de aclimatación extraorgánica y también por su resistencia a la congelación y sobriedad alimenticia. Jolly (1913) ha logrado mantener vivos los glóbulos blancos de la rana nada menos que dieciocho meses y medio. Pero reparemos que las precedentes observaciones, fundamentales para la teoría celular, puesto que nos revelan la autonomía de las unidades vivientes y su relativa independencia de la circulación e inervación, no prueban que los elementos histológicos sean capaces de expatriarse, reproduciéndose indefinidamente en medios artificiales al modo de las bacterias y de ciertos protozoarios. Semejante colonización *in vitro* fué siempre cons'iderada por la biología tradicional cual empresa inabordable.

Y sin embargo, esta hazaña biológica ha sido en parte realizada modernamente por los biólogos de diversas Universidades americanas.

Como en las conquistas más resonantes, la actual se ha producido por etapas. Ya en 1898 Leo Loeb logró transplantar con éxito trozos de epitelio sobre extensas úlceras y heridas, comprobando que los corpúsculos

injertados conservan su vitalidad sobre el nuevo terreno, se nutren por imbibición, y, sobre todo, proliferan abundantemente. Más tarde, Harrison (1906) ejecutó un experimento de género algo diverso, pero muy rico en rendimiento teórico. Este neurólogo americano probó que cuando un trozo de médula espinal embrionaria (larva de batracio) se disocia en fragmentos pequeñísimos y éstos se montan en cámara húmeda y sobre plasma sanguíneo o linfático del mismo animal, las neuronas motrices y sensitivas sobreviven muchos días y el microscopio permite sorprender el crecimiento y ramificación, al través del plasma, de las fibras nerviosas neoformadas. Nosotros, Marinesco, Levi y otros autores, hemos logrado mantener vivas las células gangliónicas fuera del organismo.

Poco después (1907 a 1913), Burrows, Lewis, Lambert, Jaques Loeb, sin perjuicio de confirmar los descubrimientos de Harrison, aplicaron el método del cultivo en plasma a un nuevo y más interesante dominio: la multiplicación de los tejidos epiteliales y mesodérmicos. Y perfeccionando el citado método con la conservación en estufa y valiéndose de mezclas de plasma y líquidos iso o hipotónicos (licor de Ringer, Locke, etc.), consiguieron verdaderas colonias de corpúsculos conectivos, epidérmicos, glandulares, musculares del corazón embrionario y, sobre todo, de tumores jamás cultivados con éxito hasta entonces.

En estos trabajos de colonización extraorgánica de neoplasias malignas sobresalieron: Carrel, quien consiguió, cultivando en plasma las células del sarcoma, hasta nueve generaciones o cosechas sucesivas, sin más precaución que mezclar al plasma líquidos salinos hipotónicos, y lavar de cuando en cuando la colonia en el licor de Locke para extraer los productos excrementicios; y Lambert, que ha hecho vegetar en serie, además de otros tejidos (conectivo, glandular), la trama del carcinoma y del sarcoma. En estos últimos años (1915 a 1920) son innumerables los autores que han confirmado y ampliado estos interesantes descubrimientos.

De todas las células de tejido son las epiteliales y las conjuntivas, normales o patológicas, las más fácilmente aclimatables a medios extraorgánicos. Los elementos sembrados crecen y se multiplican a partir de la semilla, constituyendo trabéculas irradiantes, que invaden progresivamente el terreno de cultivo. Es curioso notar que estas células expatriadas no han perdido enteramente sus hábitos sociales y su especial manera de crecer. Por ejemplo: mientras los corpúsculos conectivos se disponen en redes o ristas, o corren aislados a través del terreno (fig. 107), los elementos epiteliales se dilatan en láminas coherentes, que avanzan al modo de películas o témpanos membranosos. Unos y otros presentan movimientos amiboides y de progresión.

Pero el rasgo más sorprendente de estas colonias consiste en que, según hacen notar Loeb y Carrel, los elementos neoformados son virtualmente *inmortales*. Regresado a la fase *ancestral* del nomadismo, el corpúsculo cultivado recobra, con la vieja libertad del protozoario, el excelso

privilegio de la perennidad. La muerte celular, daclaran Harrison, J. Loeb y Carrel, constituye fenómeno contingente. Acaece por falta de oxígeno y de renovación nutritiva. Por tanto, si recurriendo a medios artificiales se procura a la unidad viviente el oxígeno y la ración alimenticia indispensables, y si además se mantiene la colonia limpia de materiales excrementi-

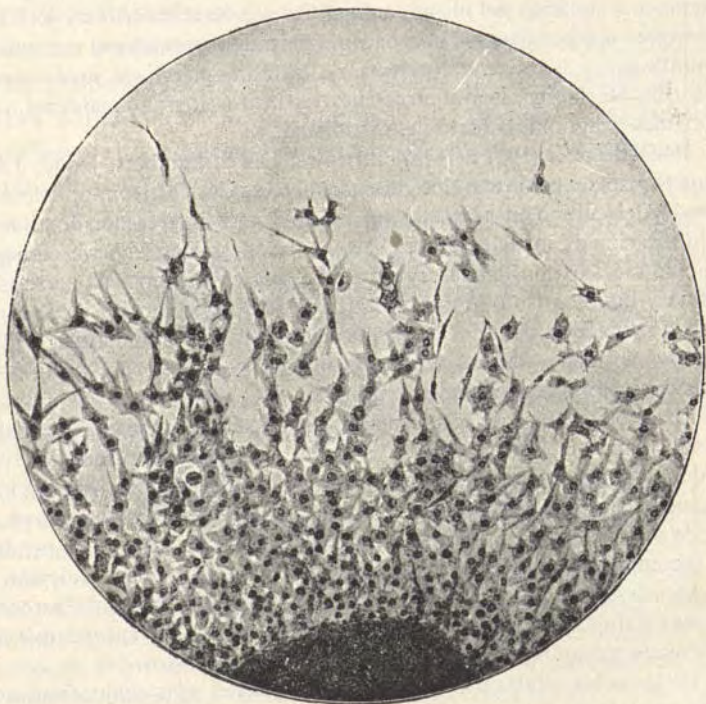


Fig. 107. — Colonia de tejido conectivo embrionario, obtenido por siembra en plasma de células conectivas de la rata. (Según Lambert.)

cios (ácido carbónico y demás escorias de la vida nutritiva), no hay razón para que todo protoplasma con aptitud proliferativa no perdure indefinidamente. Perecerá, acaso, la célula; pero será catastróficamente, no de muerte natural.

MOVIMIENTOS CELULARES

El movimiento espontáneo es uno de los atributos que mejor caracterizan la vida celular. Este movimiento, que se efec-

túa sin el concurso del sistema nervioso, puede ser observado en elementos completamente separados del cuerpo del vegetal o del animal. Distingúense los movimientos en browniano, amiboide, de corrientes protoplasmáticas y de oscilación.

Movimiento browniano. — Sólo rindiendo culto a la costumbre nos ocupamos de él, pues no es, en realidad, un movimiento vital, por más que se sorprenda alguna vez en el interior de las células. Consiste en un temblor u oscilación que todas las partículas de menos de una micra presentan cuando están suspendidas en un líquido de poca densidad. Manifiéstase el movimiento browniano en las granulaciones interiores de los leucocitos cuando el agua ha penetrado en el espesor del protoplasma y diluido el jugo celular. Gracias a las investigaciones físicas de Perrin (1912) se sabe hoy que dicho movimiento traduce pasivamente la agitación molecular de los líquidos, al modo como la hoja seca, flotante en un remanso del río, traduce los remolinos del agua.

Movimiento amiboide. — Así llamado por haber sido primeramente observado en los amibos; se presenta especialmente en los leucocitos, corpúsculos conjuntivos y células embrionarias de los animales.

Para observar este curioso movimiento deben preferirse los leucocitos de la linfa o de la sangre de rana, porque pueden conservarse vivos en cámara húmeda y a la temperatura ordinaria durante varias horas y aun varios días.

Mientras el leucocito circula por la sangre, su forma es esférica; pero en cuanto abandona los vasos, poniéndose en contacto con el aire o con una superficie extraña cualquiera, excítase su irritabilidad y desenvuelve dos clases de movimientos: movimiento de deformación o gesticulación y movimiento de traslación.

El *movimiento de gesticulación* consiste en la aparición, en torno del cuerpo celular, de expansiones pálidas de formas y tamaño diversos, que varían a cada instante. Esta deformación activa no puede seguirse con la vista, a causa de su lentitud; pero si se interrumpe por algunos minutos la observación, se comprueba que el leucocito ha variado de forma, ora retrayen-

do expansiones, ora proyectando otras nuevas, ora estirando o contrayendo en masa el cuerpo protoplasmático (fig. 108).

El *movimiento de traslación* se aprecia por el cambio de posición del leucocito, con referencia a un punto fijo, por ejemplo, a un glóbulo rojo. En media hora puede dicha célula recorrer medio campo del microscopio. En el espesor de los tejidos vivos, por ejemplo, a través de la córnea, los glóbulos blancos emigrados de los vasos atraviesan distancias de muchos milímetros, insinuándose por los resquicios y pasos más estrechos y difíciles.

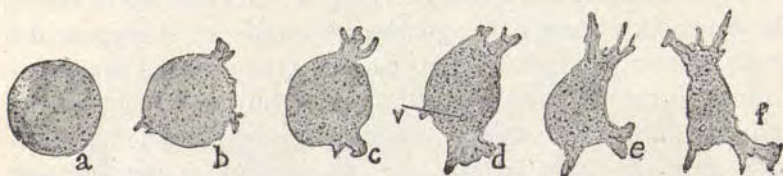


Fig. 108. — Cambio de forma de un leucocito de rana durante media hora de observación en cámara húmeda. a, fase de esfericidad observable mientras el leucocito circula por los vasos; b, c, etc., figuras sucesivas que adquiere.

Durante el movimiento amiboide, el núcleo se deforma, se estira y aun puede escindirse en dos o más fragmentos (figura 109).

Corrientes protoplásmicas. — En las células jóvenes de ciertas plantas (pelos de la *chelidonia*, *ortiga*, *tradescantia virginica*, etc.), el protoplasma, que está surcado por anchas vacuolas llenas de jugo celular, exhibe dos especies de movimientos: el amiboide o de deformación total y el de circulación de partículas.

El *movimiento amiboide* es bastante activo y determina una metamorfosis continuada de la distribución de las masas y cordones protoplásmicos. La deformación ocurrida es sólo intracelular, pues la membrana de celulosa, recia y sólida, no consiente ninguna variación de la forma exterior.

El movimiento de *rotación de partículas* es bastante rápido, pudiendo seguirse fácilmente al microscopio, sobre todo en los pelos estaminales de la *tradescantia virginica* (fig. 90, c). Con-

siste este fenómeno curioso en la traslación, a lo largo de los cordones protoplásmicos, de ciertos granitos brillantes, de menos de una micra de diámetro, los cuales, marchando primeramente desde el núcleo hasta la periferia, vuelven luego, a lo largo de otros cordones, desde la periferia al núcleo. Ciertos cordones presentan dos corrientes paralelas, una de ida y otra de vuelta.

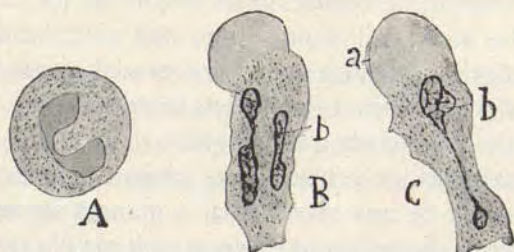


Fig. 109. — Deformaciones del núcleo durante los movimientos amiboides. A, forma del núcleo en el leucocito en reposo; B y C, formas nucleares después de dos horas de variación amiboide y tal como aparecen bajo la acción del verde de metileno acetificado.

Esta rotación de partículas se presenta quizá en toda célula vegetal y acaso también en los corpúsculos animales, aunque en éstos sea a menudo imposible la observación. Claro es que dichos granos no se mueven espontáneamente, sino que son empujados por corrientes invisibles del enquilema.

Movimiento vibrátil. — Los infusorios, llamados ciliados y flagelados, entre los animales monocelulares y los corpúsculos epiteliales de ciertas mucosas, entre las células federadas de los animales superiores, exhiben este movimiento, que no se verifica en el protoplasma entero, sino en ciertos finos apéndices implantados en una cara de la célula epitelial.

Para examinar cómodamente el movimiento vibrátil debe elegirse la mucosa del esófago de la rana. Bajo una gota de agua, y en cámara húmeda portaobjetos, se deposita un trozo de epitelio, que procurará ponerse doblado, a fin de que la superficie de la membrana constituya un borde libre. En este borde, bañado por el líquido y en contacto con corpúsculos sanguíneos y epiteliales sueltos, advertiremos unos finos apén-

dices, notablemente pálidos, agitados por un movimiento de oscilación tan rápido que cuesta trabajo, en ocasiones, apreciar su origen y su forma. Transcurrida media o una hora de observación, el movimiento adquiere más lentitud, y entonces cabe apreciar que cada pestaña pasa por dos estados: uno de concentración o de flexión rápida, otro de relajación o de rectificación relativamente lento.

El movimiento de oscilación de la cola de los zoospermos es semejante al vibrátil, aunque algo más complicado. En vez de simple flexión lateral, el apéndice caudal es recorrido por una onda de contracción que presta al zoospermo el aspecto ondulante de una cuerda que se agita.

En la salamandra y tritón, los zoospermos presentan la cola guarnecida de una membrana, a manera de mesenterio, que se extiende desde la pieza intercalar hasta el extremo libre. Las ondas de contracción se inician cerca de la pieza intercalar, recorren rápidamente toda la longitud de dicha finísima membrana y hacen progresar el zoospermo, actuando algo así como las aletas de un pez.

CAPÍTULO VI

DIVISIÓN CELULAR

Las células que pueblan el organismo, de igual modo que las que viven independientes, gozan del importante atributo de reproducirse, originando nuevos corpúsculos, cuyas propiedades anatomofisiológicas son enteramente idénticas a las del elemento progenitor.

El mecanismo más general de la producción de nuevas células es la división o segmentación. Todas las variantes de neoformación celular pueden reducirse, en último análisis, a un acto de división más o menos complicada del núcleo, protoplasma y membrana fundamental.

Nótese que, en el fenómeno célulogenético, la célula madre desaparece como individuo, repartiéndose toda su substancia en dos corpúsculos hijos. No hay, pues, *célula madre* ni *célula hija* en el sentido estricto de los términos, sino fragmentación sucesiva de cierta cantidad de materia viva, que disminuiría hasta desaparecer a fuerza de dividirse, si la asimilación no restableciera prontamente el volumen originario.

Modalidades de la célulogénesis. — La formación de las células se efectúa de dos maneras: por *división* y por *conjugación*.

La *división* o segmentación es el proceder ordinario empleado por la naturaleza para reponer las células destruídas en el ejercicio de las funciones orgánicas o durante el desarrollo del embrión; mientras que la *conjugación* es un proceder generativo, que podría calificarse de extraordinario, al cual recurre solamente la naturaleza para producir la primera célula del embrión (el óvulo fecundado). Este método generativo encierra un profundo sentido, desde el punto de vista de la transmisión de

las cualidades hereditarias y de la conservación del tipo específico y funcional de los seres.

Comprende la *división* o *segmentación celular* dos modalidades: la *división directa* o *amitótica*, y la *división indirecta*, *mitótica* o *carioquinética*.

1.º — SEGMENTACIÓN DIRECTA O AMITOSIS.

La *segmentación directa* es el acto de partición celular no precedido de metamorfosis estructurales del núcleo ni del protoplasma. Este proceso genético, que fué conocido mucho antes que el indirecto, ha perdido importancia en relación con la mitosis, pues se ha averiguado que muchos de los elementos a quienes se atribuía dicho mecanismo divisorio, proliferan en realidad por carioquinesis. Prescindiendo de numerosos tejidos en que pueden presentarse amitosis circunstancialmente, se ven de modo constante en las células de la sangre y linfa, de la médula ósea, en la vejiga, epididimo, hígado, placenta, cartílago, tendón, célula de Sertoli, mesenquima, etc., etc.

Por nuestra parte hace ya cerca de treinta y seis años (1) que pudimos observar el fenómeno de la segmentación directa de los leucocitos de la sangre de un urodelo (el *pleurodeles Watlii*). Las fases observadas concuerdan con las anunciadas por Ranvier y Arnold. La división se inicia por estrangulación del núcleo, que no tarda en segmentarse en dos pedazos, generalmente de forma desigual; los núcleos hijos se colocan en un extremo del protoplasma, mientras que la porción intermedia de éste se estira y adelgaza extraordinariamente, concluyendo por romperse. En ocasiones se inicia el proceso por la partición del nucleolo. A veces el proceso aborta; el puente de protoplasma, que estuvo a pique de escindirse, se acorta y engruesa; los núcleos se aproximan y la célula se reintegran en su primitiva forma. (fig. 110) (2).

(1) *Manual de Histología, etc.* Cuaderno 4.º, publicado en Valencia en 1886.

(2) Véase nuestro *Manual de Histología y Técnica*, pág. 391, 1.º y 2.º edición, 1883.

La división del núcleo puede no ser seguida de partición del protoplasma. La partición nuclear puede repetirse tres, cuatro o más veces, resultando así un corpúsculo generalmente voluminoso, que encierra en su protoplasma un número variable de núcleos. Por tal mecanismo se producen las células multinucleadas gigantes del tejido inflamatorio (células gigantes del tubérculo, del leproma, etc.) y los osteoclastos de la médula ósea.



Fig. 110. — Fenómeno de segmentación simple en los glóbulos blancos del *pleurodeles Wattii*. Examen en cámara húmeda. *a*, núcleo; *b*, puente protoplásmico.

Existen células, tales como ciertos leucocitos de gran talla y los megacariocitos de la médula ósea, cuyos núcleos parecen ofrecer en estado permanente o bastante duradero de las fases de transición entre la mononuclearidad y la multinuclearidad. El núcleo de estas células exhibe a menudo forma de judía o de bizcocho, con puente intermediario más o menos delgado; en otros casos afecta la figura de una cadena de lobulillos unidos por finas estrangulaciones.

Significación de la amitosis. — Existiendo el modo general de división celular por mitosis, que describiremos a continuación, los investigadores han buscado la razón de que se presente en ciertos casos la amitosis, y sin base experimental que permita decidir la cuestión, se han expuesto diferentes hipótesis. Prescindiendo de la antigua de Strassburger y Waldeyer, que consideraba la amitosis como una reminiscencia del procedimiento divisorio de los protistas, puesto que también se han visto en ellos las mitosis, y de la opinión de Jordán, para quien serían debidas a la pérdida de centrosomas en las células que se reproducen de este modo, ya que se ha encontrado en muchas de ellas, son cuatro los puntos de vista sustentados: Para Ziegler, Flemming, Rath, etc., sería un procedimiento divisorio de te-

jidos viejos y en declinación, de tal modo que, según Rath, toda célula que se ha dividido una vez amitóticamente está condenada a la muerte; pero se han visto amitosis seguidas de mitosis en las mismas células, y se han encontrado amitosis en embriones; para la mayor parte es un procedimiento normal de división ligado a un rápido crecimiento celular (Child), a la acción de influencias exteriores (Nowikoff), o a la producción de sustancias secretorias y al almacenamiento de reservas alimenticias (Clum, Nakahara).

Segmentación endógena y fisiparidad. — Cuando la división directa o indirecta sobreviene en células rodeadas de espesa cubierta (cápsula de secreción), los corpúsculos hijos no pueden separarse, porque la membrana envolvente, que no participa del fenómeno divisorio, lo impide. Esta variedad de proliferación se llama *segmentación endógena*. Si la división ocurre en células que sólo poseen delgada membrana fundamental, los elementos engendrados quedan en libertad, pudiendo separarse inmediatamente (*fisiparidad simple*). Finalmente, cuando la segmentación del núcleo y protoplasma se efectúa de un modo desigual, de manera que sólo una pequeña parte de estos órganos se aprovecha para engendrar uno o varios elementos hijos, el acto generativo toma el nombre de *gemmación*. Ejemplos de gemmación nos ofrecen ciertos infusorios (*Talassicolas*), según Hertwig; el óvulo joven de los mamíferos (Schaffer), los óvulos de la ascidia (Fol). En todos estos seres la yema nuclear cruza, rodeada de una pequeña cantidad de protoplasma individualizado, el cuerpo celular, y se instala por lo común en la periferia, bajo la membrana de cubierta.

2.º — CARIOQUINESIS O SEGMENTACIÓN INDIRECTA.

La *mitosis* o *carioquinesis*, descubierta por Schneider y perfectamente estudiada por Flemming, es el método de división más general e importante y se caracteriza por la circunstancia de que el núcleo, antes de segmentarse, experimenta una serie de curiosísimas metamorfosis de estructura, así como de fenómenos de movimiento.

Las fases de este proceso pueden observarse en toda clase

de células, tanto animales como vegetales; pero son preferibles, por el gran tamaño de sus núcleos, los elementos de las larvas de urodelo, por ejemplo: las de salamandra y tritón, donde Flemming y Rabl, y después muchísimos autores, han hecho sus estudios sobre la carioquinesis.

La *mitosis* o *citodiéresis* no representa un proceso único, de plan absolutamente uniforme. Existen diversos tipos de generación indirecta, difíciles de clasificar, porque se enlazan mediante matices insensibles. Sin embargo, hay una modalidad mitótica muy extendida en los animales. El mejor objeto de estudio de esta variedad, según hizo ya notar Flemming, está constituido por las células sexuales de la salamandra: las *espermatogonias* y las *ovogonias*. A este ejemplo de mitosis típica referiremos de preferencia la descripción siguiente, cuyas figuras han sido tomadas de Flemming y Prenant.

Las fases del proceso, a partir del estadio de inercia o de descanso, se clasifican en progresivas y regresivas.

Son *progresivos* aquellos cambios estructurales que median entre el descanso y la fase de metaquinesis o de estrella madre; son *regresivos* los que conducen, por una suerte de retroceso, desde la metaquinesis o cima del fenómeno al estado de descanso de las células hijas. El siguiente cuadro muestra el orden y nomenclatura de las fases, según la mayoría de los autores:

| | | |
|--------------------|--|--|
| FASES PROGRESIVAS. | $\left\{ \begin{array}{l} \textit{Profase} \\ \textit{Metafase} \end{array} \right.$ | Fase de descanso. |
| | | Fase de reticulación gruesa. |
| | | Fase de ovillo. |
| | | Fase de segmentación transversal. |
| | | Fase de estrella madre o metaquinesis. |
| FASES REGRESIVAS. | $\left\{ \begin{array}{l} \textit{Anafase} \\ \textit{Telafase} \end{array} \right.$ | Fase de segmentación longitudinal. |
| | | Fase de placa ecuatorial. |
| | | Fase de las estrellas hijas. |
| | | |
| | | Fase de reticulación. |
| | | Fase de descanso. |

A) **Profase.** — 1.^a **Fase de descanso o interkinesis.** Así se llama el estado de la célula durante el intervalo de dos segmentaciones (figuras 111, ¹ y ², y 113). En los últimos días de este período de descanso la red cromática del núcleo se hace más rica y la talla nuclear aumenta sensiblemente. El

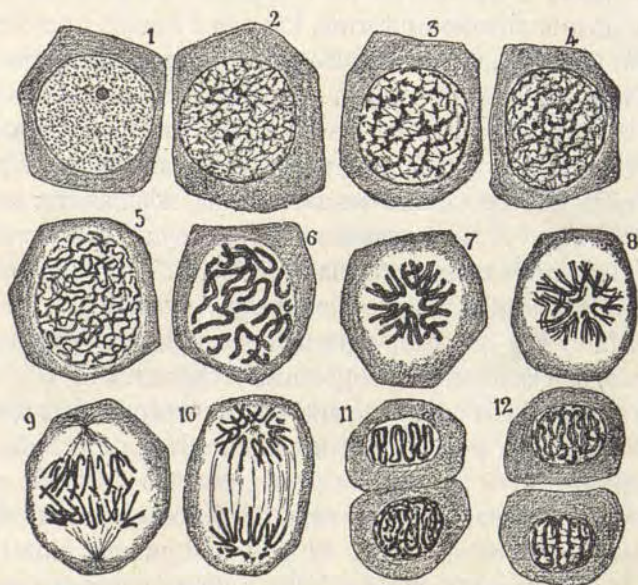


Fig. 111. — Fases más comunes de la división mitótica en la piel de la larva del *Pleurodeles* *Watlil*. 1, descanso; 2, reticulación fina; 3, reticulación gruesa; 4, reabsorción del nucleolo y fase glomerular; 5, ovillo laxo; 6, horquillas; 7, estrella madre; 8, división longitudinal (vista polar); 9, placa ecuatorial; 10, estrellas hijas; 11, ovillos hijos; 12, segmentación del protoplasma.

idiazoma (*esfera atractiva*) y los *centriolos* son aparentes (figura 113, c). Ulteriormente, el retículo se hace cada vez más laxo y destacado, por espesamiento sucesivo de los hilos cromáticos y la progresiva atrofia de los de linina. Créase así la fase llamada de *retículo grueso*, preparatoria de la organización del ovillo.

2.^a **Fase glomerular o del ovillo.** — Cuando va a comenzar el proceso, la red nuclear aparece más perceptible, distinguiéndose claramente dos clases de trabéculas: *primarios* o

gruesos, formados principalmente de cromatina, y *secundarios*, o finos donde domina la linina. Rabl ha demostrado, y Flemming ha aceptado después (fig. 95), que los filamentos primarios, llamados también *cromosomas*, no están dispuestos al azar, sino que forman asas u horquillas orientadas casi en el

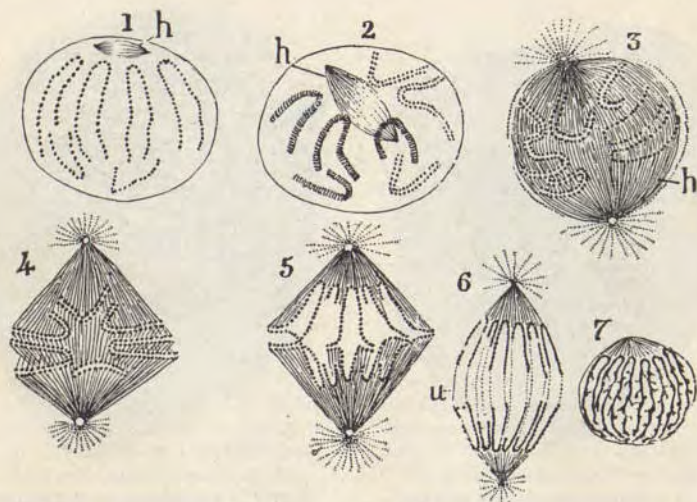


Fig. 112. — Fases mitóticas según Rabl. 1, fase de ovillo; 2, formación del huso y atracción de las horquillas; 3 y 4, momentos distintos de la fase de estrella madre; 5, placa ecuatorial; 6, estrellas hijas; 7, núcleo hijo donde comienzan a brotar los hilos secundarios; h, huso acromático; u, filamentos de unión.

mismo sentido, y cuyos codos están vueltos a un lado. El paraje del núcleo donde convergen los ángulos de las horquillas presenta un espacio vacío de filamentos, que se ha llamado *campo polar*. En el extremo opuesto (*campo antipoda* o *contrapolo*) no existe vacío, acumulándose y entrecruzándose los cabos libres de los cromosomas.

Al final de esta fase todos los filamentos finos o secundarios desaparecen, así como el nucleolo, quedando exclusivamente los primarios, que se perciben ahora con gran corrección y que atraen vivamente las materias colorantes de la nucleína. En cuanto a la materia del nucleolo, pasaría a formar parte de los cromosomas, y acaso del huso, como asegura

Czermak. Ulteriormente, el filamento cromático se espesa al par que se acorta, con lo que el espacio claro interfibrillar se ensancha. A este fenómeno de dilatación del filamento con desaparición de la mayor parte de los recodos, que acaece en los últimos momentos de la fase del ovillo, se ha dado el nom-

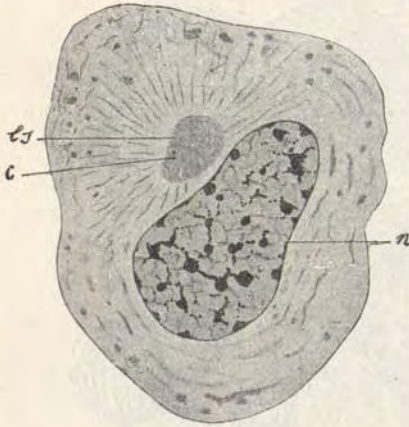


Fig. 113. — Espermatozoon de *salamandra maculosa* en fase de descanso. n, núcleo; es, idiozoma o esfera atractiva; c, centrosomas dispuestos en pareja. (Flemming.)

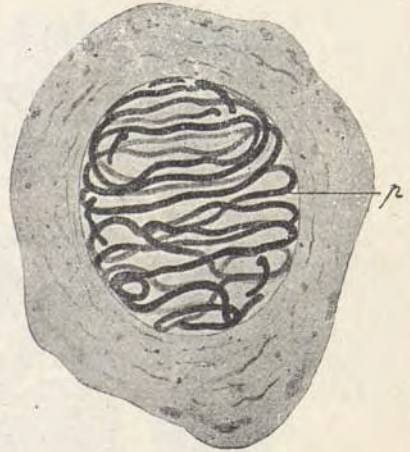


Fig. 114. — Espermatozoon de la salamandra en fase de espirema u ovillo. La cromatina p forma un filamento continuo. (Flemming.)

bre de *estadio del ovillo denso*. En esta fase aumenta también la colorabilidad de la nucleína y crece el líquido nuclear.

En muchas células, y singularmente en los espermatocitos de la salamandra, al final de la fase de ovillo se opera ya la segmentación longitudinal del filamento cromático, que va seguida de la fragmentación transversal en horquillas o cromosomas (fig. 116).

Metafase. — **Fase de segmentación transversal del filamento continuo.** — Al final del estadio del ovillo o espirema, el filamento cromático se divide en el número de cromosomas característico de la especie celular. Estos cromosomas se enreñan y doblan progresivamente, convirtiéndose en

horquillas. Al mismo tiempo se hace visible la esfera atractiva (*idiazoma* de Meves) y dos centriolos o centrosomas, al principio muy próximos, pero que se van apartando sucesivamente. El *aster* o radiación protoplásmica que rodeaba a la esfera atractiva, antes única, se duplica (fig. 115, *h*), apareciendo entre

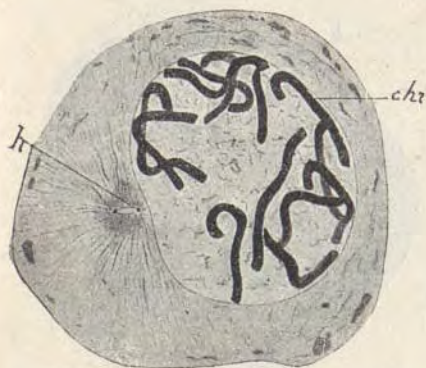


Fig. 115. — El espirema se ha dividido transversalmente en trozos o cromosomas *chr*. El huso se inicia por segmentación de los centrosomas y aparición de un pincel intercalar pequeñísimo *h*. (Flemming.)



Fig. 116. — Espermatocito de primer orden de la salamandra. — Hendimiento longitudinal de los cromosomas, que aparecen adheridos por sus cabos. (Flemming.)

los dos centrosomas un fino pincel de hebras (figuras 115 y 117) que ha recibido el nombre de *centrodesmosis*. Esta banda constituirá en las fases sucesivas el huso central, órgano importante del proceso mitótico.

Fase de estrella madre, de corona o metaquinesis. — Esta fase se caracteriza por el arreglo, en forma de estrella, de los hilos u horquillas cromáticas (llamadas también *cariosomas*, *cromosomas*), y por el incremento y dislocación del *huso acromático* (figuras 111, 7, y 117, *B*).

El *huso* nacido de la *centrodesmosis* es un aparato filamentos, especie de fascículo en forma de tonel, con polos puntiagudos, en los cuales resalta un grano brillante, que no es otra cosa que el centriolo o centrosoma. Los hilos del huso son de extraordinaria delicadeza, y corren curvilíneamente de uno a

otro polo; distingúense de las asas cromáticas, no sólo por su forma, sino por su incolorabilidad en el carmín. Según Rabl y todos los modernos autores, el huso aparece primeramente junto a la membrana nuclear, en el medio del campo polar; luego adquiere un gran volumen, y, desaparecida la cubierta,

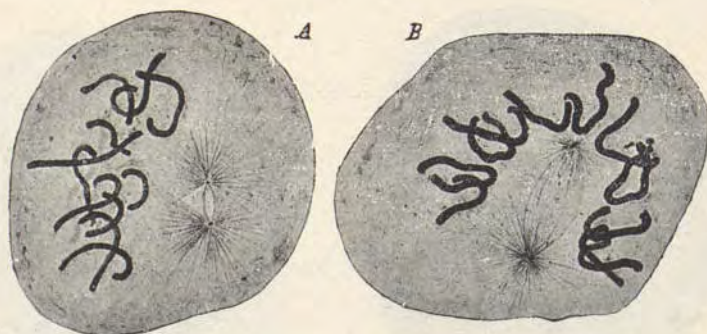


Fig. 117. — La membrana nuclear ha desaparecido y los cromosomas dispuestos en horquillas quedan libres. — En A, el huso acromático es pequeño y apenas influye sobre la dirección de los cromosomas, mientras que en B, el huso es grande y los cromosomas se orientan, volviendo los ángulos hacia él (Flemming).

se retira a la región central del núcleo, para dirigir los movimientos de los cromosomas (figuras 117 y 118), Del otro lado de los polos, el retículo protoplásmico orientase también, construyendo dos semiconos filamentosos, cuyos radios convergen en los centrosomas (*conos antípodos*) (figuras 117 y 118).

Mientras tanto, las asas cromáticas, como impelidas por fuerza misteriosa, vuelven sus codos al centro del núcleo, disponiéndose en torno de la región más ancha del huso y constituyendo una estrella cuyo plano es perpendicular al eje de éste. Este plano llámase sección o *plano ecuatorial*, y a su nivel ocurrirá más adelante la segmentación del núcleo y protoplasma. El plano ecuatorial o plano de sección de la célula es siempre perpendicular al eje mayor del protoplasma (Sachs, Hertwig).

Antes de la formación de la estrella, la membrana nuclear

se hace cada vez más pálida, hasta que desaparece por completo. El punto en que se inicia la reabsorción es aquel que mira al centrosoma en la fase de núcleo en descanso. En adelante, las figuras nucleares se mostrarán completamente libres en el interior del protoplasma (fig. 117).

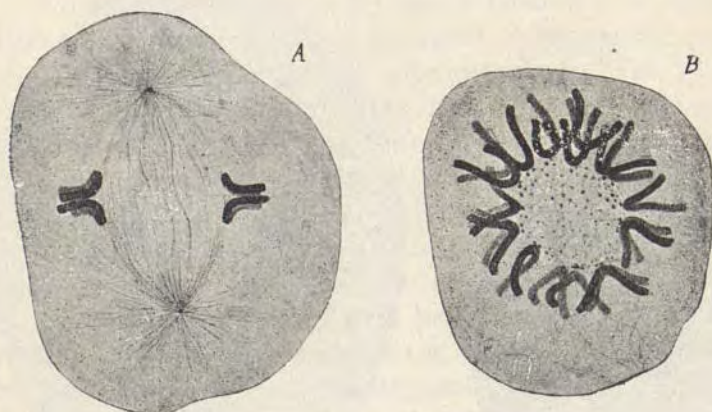


Fig. 118. — Pleca ecuatorial. En A aparece esta fase de un modo esquemático, no habiéndose dibujado sino cuatro cromosomas. En B se presenta el huso acromático en punta y aparece la disposición radiada de los cromosomas (Flemming).

Fase de segmentación longitudinal. — Como ha descubierto Flemming, lo común es que durante la fase de estrella madre las horquillas se escindan a lo largo, comenzando el hendimiento por los extremos libres y acabándose por los codos (fig. 118). Este importante fenómeno de partición longitudinal tiene por consecuencia la duplicación de las asas cromáticas, y explica por qué la estrella madre y las estrellas hijas encierran exactamente el mismo número de filamentos de nucleína (fig. 118, B). Pero según dejamos apuntado, y aparece en la figura 116, en ciertas células la segmentación longitudinal se anticipa, presentándose ya en el estado de glómulo. Cuando esto ocurre es frecuente ver que cada pareja de horquillas o cromosomas de la estrella madre se halla todavía unida por sus cabos (fig. 119). A esta disposición de los cromosomas

somas, durante las fases de estrella madre y sucesivas, se llama *heterotípica*, para distinguirla de la *homotípica* o común.

Las asas de la fase de estrella muestran, con más o menos claridad, una disposición arrosariada (Pfitzner, Balbiani, Rabl, Heidenhain, etc.). Esto depende de que cada cromosoma cons-

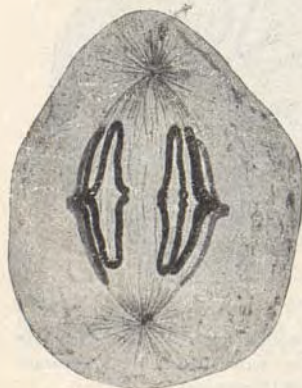


Fig. 119. — Una figura heterotípica (Flemming). — Los cromosomas no se dividen completamente y permanecen unidos por sus cabos, aun en la fase de estrella hija.

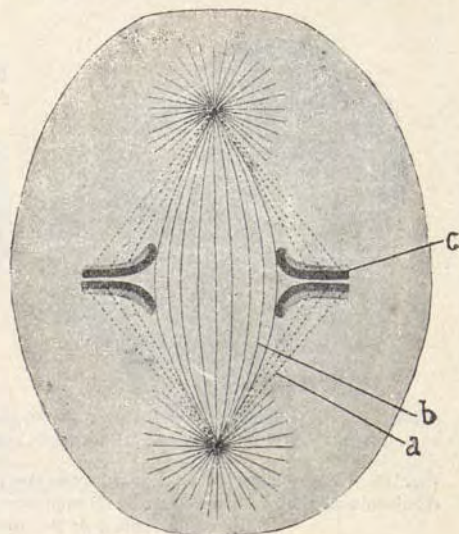


Fig. 120. — Metafase. Figura esquemática. — Corpúsculos polares con sus radiaciones asterianas *b*; *a*, fibras superficiales del huso; *c*, cromosomas. (Flemming.)

ta en realidad de un número considerable de esférulas de cromatina, ligadas entre sí por puentes de linina. En el acto de la partición longitudinal, cada cromiolo o esfera constitutiva de las asas se dividiría, produciéndose dos sartas paralelas de granitos cromáticos (fig. 112, ³ y ⁴).

Anafase. — Placa ecuatorial. — Luego de duplicadas las horquillas cromáticas, éstas comienzan a separarse, iniciándose el apartamiento por los codos y siguiendo hasta los extremos (fig. 120 y fig. 118, A). Desconócese el mecanismo de esta emigración de las horquillas. Ciertos autores imaginan que, en

el momento de la segmentación longitudinal, divídese ecuatorialmente el huso, cuyos filamentos se adherirían a los codos de las horquillas, tirando de ellos hacia las regiones polares. Como Flemming ha observado, en ciertos casos excepcionales, la doble serie de horquillas mantiénesse cierto tiempo adherida por sus cabos en la región ecuatorial.

No todos los filamentos del huso colaboran en el proceso. Bajo este aspecto es preciso distinguir el haz central que va de polo a polo, sin tocar a los cromosomas (fig. 120, *b*) y las *fibras marginales o corticales* (fig. 120, *a*) que marchan desde los polos a los cromosomas, sosteniéndolos en su posición y tirando de ellos hacia los centriolos.

Fase de estrellas hijas. — Las asas acromáticas se corren hacia los polos, constituyendo una doble estrella que sólo puede apreciarse bien en las vistas polares. Los filamentos del huso han desaparecido en gran parte en la zona ecuatorial, percibiéndoselos con claridad en el espacio que media entre los codos de las asas y el granito polar (fig. 121, *A* y *B*).

Telefase. — Fase del ovillo hijo. — Los granos polares y el huso desaparecen, mientras que una fina membrana surge en torno de las figuras cromáticas hijas. Al iniciarse esta fase, las horquillas conservan su orientación y su independencia; pero no tardan en brotar, del contorno de las asas, filamentos pálidos, ramificados, que enlazan entre sí los hilos cromáticos, dando lugar a una figura reticulada, fiel reproducción de la fase del núcleo en descanso. Al mismo tiempo el núcleo toma la forma de herradura, y en su concavidad se albergan el idiozoma (esfera atractiva) y el centrosoma (fig. 121, *C*). Al acabar esta fase, o algo antes, se escinde ecuatorialmente el protoplasma celular, y la sección comienza en la periferia para terminarse en el centro.

Al avanzar este surco protoplasmático, llega un momento en que choca con el huso, que parece resistir, apretándose y convirtiéndose en un delgado manojito de finísimos hilos (*haz fusorial*), manojito que se ha comparado a una gavilla de espigas sujetas por un lazo (fig. 121, *D*). Esta especie de anillo (*cuerpo intermediario* de Flemming), que corresponde al espa-

cio intercelular en vías de formación, resulta de la aparición en el ecuador del huso, y en torno de cada fibra, de un grano coloreable por los reactivos, el cual se fusiona con los vecinos (figura 121, *D*). Poco tiempo después, el manejo se rompe y el *corpo intermediario* se reabsorbe, así como los restos del haz central del huso.

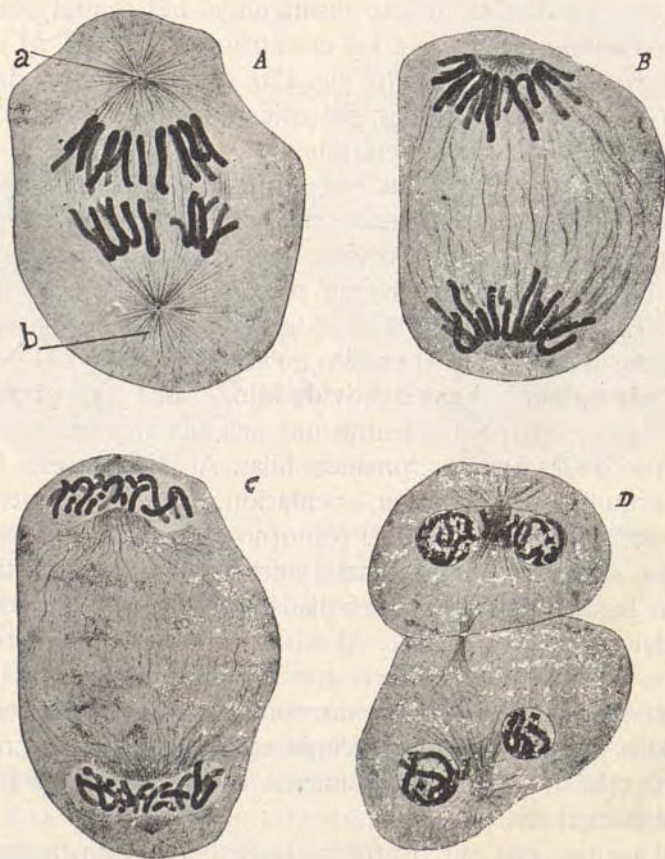


Fig. 121. — Espermatogonia de la salamandra. Anafase y telofase. — *A*, fase de estrellas hijas; los cromosomas se hallan cerca del ecuador; *B*, la misma fase, pero los cromosomas se acercan a los polos, donde generan una corona. El huso comienza a disgregarse; *C*, fase de ovillo hijo; la membrana nuclear aparece, tomando el núcleo forma arrifionada; *D*, comienza la segmentación del protoplasma, fórmase el cuerpo intermediario, y el centrosoma y porción polar del aster alojándose en una concavidad del núcleo hijo, iniciándose la fase del descanso (Flemming).

Por este mismo tiempo prodúcense los filamentos secundarios por ramificación de los cromosomas, y en nucleolo reaparece (fig. 111, ¹², y fig. 121, *D*). No obstante la confusión que trae consigo la formación del retículo cromático, la cifra de cromosomas o filamentos primarios discernibles en el núcleo hijo es la misma que existía en la célula madre, número que resulta constante en la mayor parte de los elementos adultos.

Según Flemming, los núcleos de las células humanas tendrían próximamente veinticuatro parejas de cromosomas.

Principales variantes de la mitosis. — Como hemos dicho al principio, existen en las células animales numerosas modificaciones del proceso general de la mitosis que acabamos de describir, tomando como ejemplo las espermatogonias de la salamandra.

En los huevos de la lombriz del caballo, *Ascaris megalcephala*, sólo existen dos o cuatro cromosomas, según la variedad, presentándose con gran claridad todos los cambios en las porciones cromática y acromática; el huso acromático estaría partido, según Van Beneden y Boveri, desde el primer momento; el centrosoma se dividiría de nuevo al final de la metafase, quedando en esta situación en la fase de descanso, en espera de la próxima mitosis, y, finalmente, en el retículo del núcleo en descanso se reconocen los cabos de los cromosomas.

En los huevos de los equinodermos adquiere un gran desarrollo la porción acromática, visible aun en vivo por las granulaciones vitelinas existentes entre las radiaciones; en los huevos de pterópodos, heterópodos, cópodos y muchos protistas, el huso acromático es intranuclear; en las espermatogonias de *ascaris megalcephala univalens* y en los huevos de Thysanozoon, Cyclops y muchos protistas, los centriolos son intranucleares; en los *Ascaris* y *Dytiscus*, se produce una disminución de la cromatina; las células de las fanerogamas carecen de centrosoma y artroesfera, y en cambio aparece la placa celular en la mitad del huso acromático.

Finalmente, una de las variaciones más interesantes es la *mitosis pluripolar*.

En las células gigantes o mieloplaxias de la célula ósea (Denys), las células de los tejidos patológicos (Arnold, Hansemann, Cornil, Schottländer, Denys, Cajal, etc.), las células gigantes del hígado embrionario (Kostanecki), en los óvulos del *strongylocentrotus* tratados por la quinina (O. Hertwig), etc., se advierte que el reparto de las asas cromáticas en la fase de ovillo, en vez de conducir a la formación de dos estrellas hijas, puede producir tres, cuatro o más de estas figuras, cada una de las cuales se transformará en un núcleo en descanso.

Este fenómeno se debe probablemente a la multiplicación excesiva de las esferas atractivas, seguida de la construcción de dos, tres o cuatro husos

acromáticos, en torno de cuyos ecuadores se reparten los cromosomas. En la fase de estrella madre, los cromosomas forman una figura complicada, pues se continúan las que rodean un huso con las dependientes de los otros, y al ocurrir la escisión longitudinal de los cromosomas, engéndranse cuatro, seis o más estrellas hijas; es decir, un número doble del de los husos acromáticos.

Comportamiento de otras estructuras celulares durante la mitosis. — *Nucleolo.* — Hemos visto, al tratar de la generación directa, que el nucleolo, como Flemming demostró, se divide, para formar dos nucleolos destinados a las células hijas. Esta división, estimada por muchos como un proceso activo, la consideran otros como un fenómeno pasivo. Según Heidenhain, el nucleolo carece de organización y es resultado de secreciones nucleares.

En la mitosis, el nucleolo desaparece por disolución en el jugo nuclear, generalmente antes que la membrana del núcleo se reabsorba. Sin embargo, cuando es muy grande puede persistir durante toda la mitosis, habiendo entonces en el protoplasma, por disolución de la membrana. Estos nucleolos persistentes, vistos por Haeker, Obst, Kostanecki, etc., en diversas células de invertebrados (ovocitos), han tomado el nombre de *metanucleolos*. En las células de los tejidos no aparecen nunca. En fin, durante la mitosis de un infusorio, la *euglena*, el nucleolo toma parte en la división, pasando cada fragmento nucleolar a los núcleos hijos, según ha demostrado Kenten.

Este vario comportamiento del nucleolo no deja de constituir serio obstáculo a la averiguación de su significación fisiológica. Ni es de extrañar que sobre tal punto los pareceres de los histólogos sean contradictorios.

Así, mientras para Haeker el nucleolo constituiría un material de reserva, que sería absorbido por los cromosomas de la célula madre para cederlo después al plasma de los núcleos hijos y regenerar nuevamente dicho corpúsculo, Strasburger opina que la materia nucleolar serviría a constituir el aster y el huso acromático, opinión de que no dista mucho Heidenhain, cuando supone que el nucleolo, al disolverse, activa la asimilación del huso, aunque sin confundirse con él.

Mitocondrias. — De las investigaciones de estos últimos años resulta muy verosímil que en todo acto mitótico o amitótico las mitocondrias se dividen, manteniéndose así en las células hijas igual o parecida cifra que en la célula madre. En este punto la ciencia registra todavía pocas observaciones precisas. Una de ellas, y por cierto muy interesante e instructiva, es la hecha por Meves en los espermatoцитos de un molusco (*paludina vivipara*). Las diversas fases de este proceso aparecen en la figura 122, donde se advierte que las mitocondrias, primero dispuestas en gránulos en torno de la esfera atractiva (*a, b*), forman después cadenas y anillos que, organizados durante la metaquinesis en una especie de estrella madre, complementaria de la cromática, divídense transversalmente en los estadios ulteriores (*g, h*), para

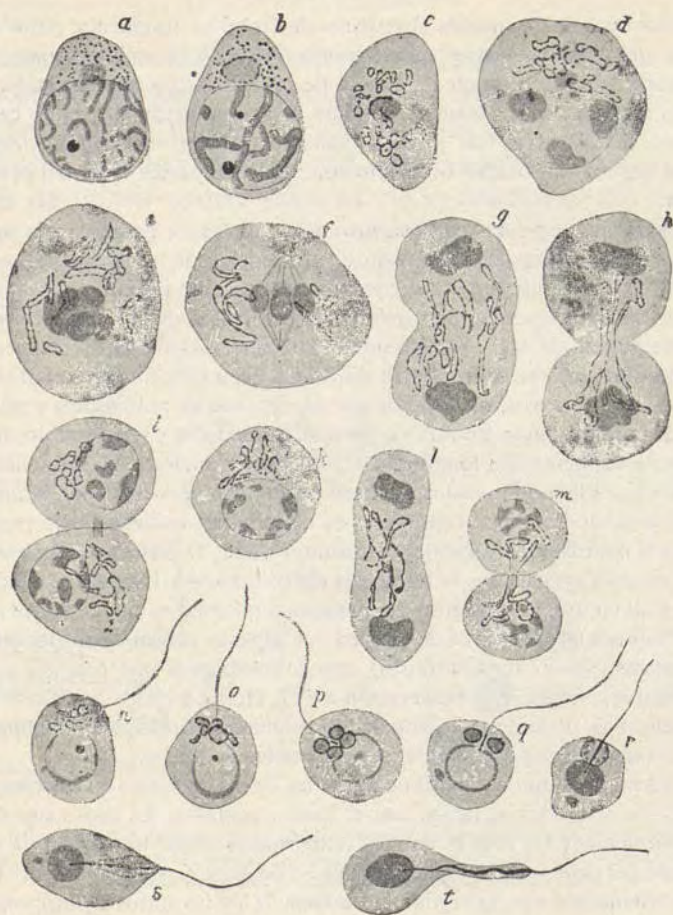


Fig. 122. — Fases divisorias de las mitocondrias durante la evolución del espermatocito de la *paludina vivípara*. — *a, b*, mitocondrias dispuestas en gránulos en torno del *idiozoma*; *c, d*, su transformación en anillos; *e, f*, disposición en collares que se colocan por fuera de la figura cromática; *g, h, i*, fases de la repartición de las mitocondrias en las células hijas, etc. (Según Meves.)

restablecer nuevamente un grupo de anillos pericentrosomáticos. Las ulteriores fases (*n, o, p, x*) enseñan cómo las mitocondrias, antes dispersas en el protoplasma, se concretan en una especie de forro, en torno del cuerpo del zoospermo. De este último fenómeno trataremos más adelante, con ocasión de la espermatogénesis.

Aparato de Golgi. — Las investigaciones de Perroncito (1911), Dejneka (1912), Fañanás (1913), Tello (1913) y las nuestras (1915), han demos-

trado que durante la mitosis el retículo de Golgi se fragmenta, reduciéndose a gránulos sueltos y repartiéndose éstos en las células hijas para reconstruir, en virtud de un fenómeno de crecimiento y diferenciación, el aparato reticular. Más adelante, al tratar de la evolución del tejido cartilaginoso, detallaremos este proceso, llamado por Perroncito *dictokinesis*. Es casi seguro que ocurre lo mismo con todas las partes vivas del protoplasma.

Significación del huso acromático en la mitosis. — La influencia de la división de las esferas atractivas sobre la formación de las figuras cromáticas es difícil de comprender, así como la construcción del huso, que tanta influencia parece tener en la posición y movimientos de las asas cromáticas. Dos puntos de vista han predominado entre los biólogos respecto a esta cuestión: uno mecánico y otro dinámico. Según el primero serían hilos contráctiles o elásticos, que unidos por un extremo al centrosoma y por el otro a los cromosomas, tirarían de éstos, dividiéndolos y separándolos después de la segmentación longitudinal, y mientras para Rabl, M. Heidenhain, Kostanecki y Liedeck los hilos del huso acromático persistirían en la interkinesis, dejando de ser perceptibles, por confundirse con el retículo protoplásmico, para Boveri, Drünner, Strasburger, etc., el huso se formaría de nuevo en cada mitosis por la influencia del centrosoma. Esta interpretación tiene en su contra: la existencia de numerosas mitosis, en que la segmentación longitudinal ocurre en la profase; el espesor constante de los hilos acromáticos durante toda la mitosis, que se compagina mal con una contracción o retracción, y la observación de O. Hertwig en los huevos de los equinodermos, de la desaparición de todo el huso acromático a la temperatura de 1 a 4º y su reaparición al ser calentados de nuevo.

La semejanza que la distribución de las líneas de fuerza en los campos magnéticos y eléctricos tienen con el huso acromático, ha hecho suponer, desde Hermann y Fol (1873), que los centrosomas irradian una energía que rige todo del proceso y del que la figura acromática es sólo la parte visible por la ordenación que determina. La existencia de las mitosis pluripolares constituye una seria dificultad para este modo de ver. Para Bütschili y Rhumbler las fuerzas no serían eléctricas, sino que dependerían de la tensión superficial. Finalmente, para Strassburger el movimiento de los cromosomas sería activo, ocasionado por estímulos que partirían de los centrosomas.

CONJUGACIÓN

Reducción: desarrollo embrionario.

La formación celular por conjugación ocurre solamente en la producción de la primera célula del embrión, tanto de los animales como de las plantas.

La célula sexual femenina (*ovocito*) pasa antes de su madurez por varias fases, de que trataremos más adelante. Por ahora haremos notar que el óvulo procede de una célula germinal específica del ovario, la cual, segmentándose, forma ovogonias de primer orden, que a su vez se dividen en dos ovogonias de segundo orden cada una y éstas en dos ovogonias de tercer orden, las cuales, creciendo notablemente, constituyen

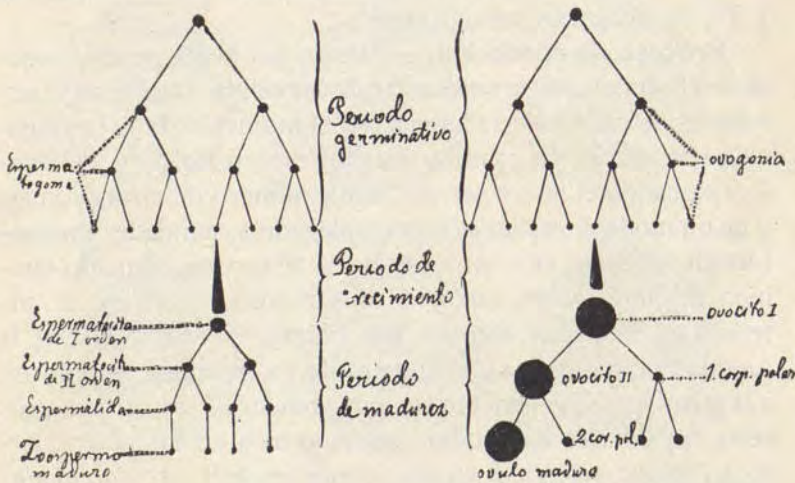


Fig. 123. — Esquema de Boveri que presenta en orden cronológico y paralelamente, la genealogía del zoospermo y del óvulo. La figura de la izquierda muestra las divisiones de la célula sexual masculina, y las de la derecha las de la célula femenina.

los *ovocitos* de primer orden. Este período de proliferación inicial de las células sexuales se llama *período germinativo* (figura 123).

Lo mismo ocurre con la célula madre de zoospermos. Después de las proliferaciones consecutivas, resultan las *espermatogonias*, que crecen en diámetro, aunque no tanto como las ovogonias, y constituyen el espermatozoido de primer orden (fig. 123, a la derecha).

Arribados a esta fase, *espermatozoido* y *ovocito* hallanse capacitados para el fenómeno de la maduración. En la figura 123 presentamos el esquema de Boveri, en que aparecen dichas

proliferaciones iniciales de las células sexuadas. En ella puede fácilmente comprobarse el paralelismo evolutivo del óvulo y el zoospermo.

En la conjugación del ovocito y espermatozoides hay que distinguir tres actos sucesivos: 1.º, reducción cromática o expulsión de una parte de los filamentos del núcleo del zoospermo y del óvulo; 2.º, penetración del zoospermo en el protoplasma del óvulo y construcción de una figura cromática conjugada, y 3.º, carioquinesis subsiguiente.

Proceso de reducción. — Siendo por regla general constante el número de cromosomas de las células somáticas y germinales de cada especie animal, en el momento de la conjugación se sumarían las cromosomas del espermatozoide y el óvulo, resultando el nuevo ser con doble número de cromosomas, y de un modo continuo se hubiera llegado a cantidades imposibles de calcular; en el proceso de la reducción, llamado también de *maturación*, mediante dos mitosis especiales, sin interkinesis, llamadas *meiosis* por Farmer y Moore (1905), la cantidad de cromatina y el número de cromosomas se reducen a la mitad en cada elemento sexual (*gametos*). Este curioso proceso, cuyas fases han podido seguirse bien en los equinodermos (*asteria glacialis*); en los vermes (*ascaris megalocephala*) y en algunos vertebrados (mixina, ratón, cobaya, etc.), es el obligado precedente de la fecundación y recae tanto en el zoospermo como en el óvulo.

En el óvulo. — En esta descripción nos referiremos sobre todo al óvulo del *ascaris megalocephala*, donde el proceso ha podido estudiarse más detalladamente que en los equinodermos y vertebrados inferiores.

Existen dos tipos de *ascaris*, según el número de cromosomas que encierran el óvulo y zoospermo maduros; es decir, después de la reducción: el tipo *univalens* o de V. Beneden, que se caracteriza porque las células somáticas poseen dos cromosomas y una solamente el óvulo maduro; y el tipo *bivalens* (Hertwig) o de Carnoy, en que las células somáticas albergan cuatro cromosomas y dos el ovocito a punto de conjugación.

Hay que distinguir en este proceso: la *profase* y la *reducción* propiamente dicha.

Profase. — Los cuatro cromosomas de las ovogonias del *ascaris bivalens* por procedimientos no esclarecidos del todo, de que nos ocuparemos después, en el ovocito de primer orden, se transforman en dos grupos de cuatro hilos cromáticos entrelazados por hilos de linina, que han recibido el nombre de tetrada, formándose en definitiva dos tetradas (fig. 124, F).

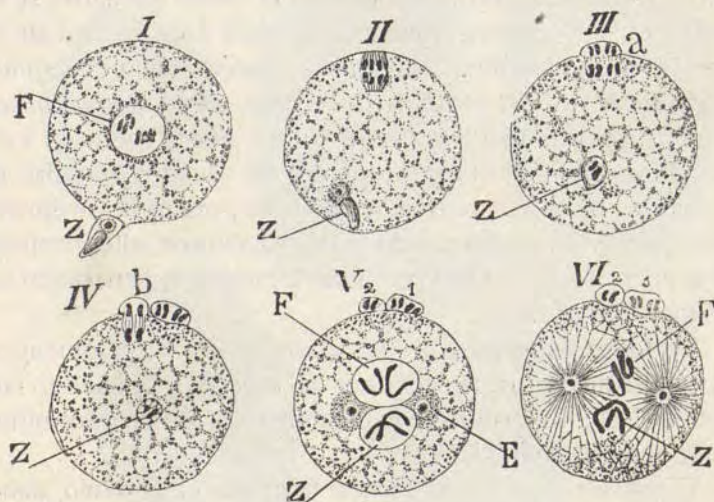


Fig. 124. — Fases del proceso de la conjugación y del de la eliminación de los corpúsculos polares en el óvulo del *ascaris megalocephala bivalens*, según O. Hertwig. F, núcleo femenino; Z, núcleo derivado del zoospermo; E, esfera atractiva; a, formación del primer corpúsculo polar; b, formación del segundo corpúsculo polar. Fase I. El zoospermo Z penetrando en el óvulo. — Fase II. El núcleo del óvulo se prepara para eliminar el primer corpúsculo polar. Fase III. Eliminación del primer corpúsculo polar y transformación del zoospermo en núcleo. — Fase IV. Eliminación del segundo corpúsculo polar y fase de descanso del núcleo masculino. — Fase V. Aproximación de los núcleos masculino y femenino, cada uno de los que posee dos asas cromáticas. — Fase VI. Formación de una estrella madre con las cuatro asas cromáticas, de las que dos son masculinas y dos femeninas.

Reducción propiamente dicha. — 1.º El núcleo pierde su membrana y se hace periférico; llegado cerca de la superficie celular surge entre los bastoncitos cromáticos un huso de cortas dimensiones (fig. 124, II), en torno del cual estos últimos se alinean en dos haces de a cuatro hilos cada uno, incluyendo en cada grupo dos hilos de cada tetrada.

2.º Divídese ecuatorialmente el pequeño huso formado y

sepárase del cuerpo celular un trozo de protoplasma periférico, que arrastra consigo cuatro bastones cromáticos (figura 124, III). El corpúsculo independiente que resulta sitúase por fuera del óvulo y toma el nombre de *primer corpúsculo polar*.

3.º Acto continuo, y sin que preceda fase de descanso ni de ovillo, engéndrase otro huso en el mismo paraje del anterior, y los cuatro bastoncitos que en el óvulo quedaron se reparten en dos grupos, conteniendo cada uno un hilo de las tetradas primitivas (fig. 124, IV). Una nueva e idéntica segmentación periférica del protoplasma origina el *segundo corpúsculo polar*. De este modo el núcleo ovular queda reducido a dos filamentos cromáticos, procedentes de las dos tetradas del ovocito de I. orden. Los dos corpúsculos polares no se aprovechan para nada, degenerando y destruyéndose ulteriormente. Al primero se le ha visto proliferar alguna vez, generando dos óvulos abortivos.

En los zoospermos. — Se ha observado el fenómeno en las células madres de zoospermos del *ascaris*, y se ha visto también en los zoospermos de los mamíferos y en un gran número de especies animales.

El proceso recorre las mismas fases que en el óvulo, dando lugar a la eliminación, mediante dos actos de partición sucesivos, de una porción de la cromatina del zoospermo.

Profase. — En la figura 125 presentamos las fases del proceso de maduración del espermatozoido del *ascaris megaloccephala univalens*, según Brauer. En otros invertebrados el fenómeno se presenta con algunas variantes.

Durante la profase, los dos cromosomas característicos de este tipo fúndense en largo filamento cromático (A), el cual se hiende dos veces; engéndranse así cuatro bastoncitos que se acortan y engruesan notablemente, adquiriendo aspecto varicoso (B); después cada cromosoma se transforma en esfera, generándose una tetrada. Naturalmente, si se tratara del *ascaris bivalens*, el proceso desembocaría en la producción de dos tetradas.

Reducción propiamente dicha. — Constituido el primer huso de la mitosis de reducción, el espermatozoido de primer

orden se divide en dos espermatoцитos de segundo orden, conteniendo cada uno la mitad de la tetrada, o sean dos hilos cromáticos (fig. 125). Sin fase de descanso en cada espermatoцитo de segundo orden fórmasse un nuevo huso acromático, que

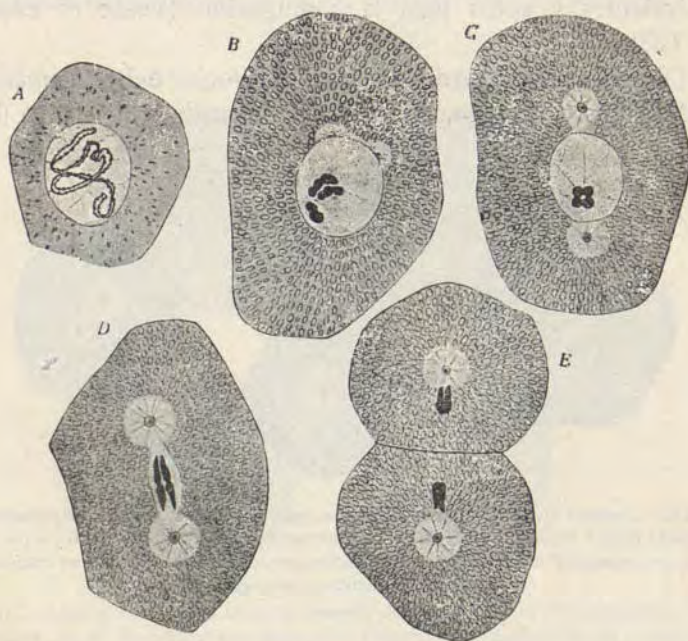


Fig. 125. Primera división de maduración en los espermatoцитos del *ascaris megalocephala univalens* (según Brauer). Los dos cromosomas fúndense durante la profase en largo filamento, el cual se hiende longitudinalmente dos veces seguidas. — B, los cuatro filamentos así formados se encogen y acortan espesándose notablemente; C, transformación de los cromosomas en esferas; D, formación de un huso y alargamiento de las esferas que se disponen en fase de placa ecuatorial; E, espermatoцитos de II orden resultantes de la división.

separa los dos hilos cromáticos, llevándose cada espermatoцитo resultante de la división un solo hilo cromático de la primitiva tetrada (fig. 126). Queda, por tanto, uno solo para obrar el acto de la conjugación. Dicho se está que si se tratara del *ascaris bivalens*, en donde son cuatro los cromosomas del animal adulto, el resultado fuera la reducción a dos, como en el caso citado del óvulo.

Las células resultantes de las citadas divisiones corresponden a los corpúsculos polares del ovocito; pero con una diferencia esencial: los globos polares de éste son corpúsculos abortivos que acaban por sucumbir; mientras que los corpúsculos polares del espermatocito representan elementos viables, equivalentes y aptos para la conjugación (véase el esquema 123).

Otra diversidad cardinal separa al ovocito del espermatocito. Mientras el ovocito, eliminada la cromatina, hállase ya listo

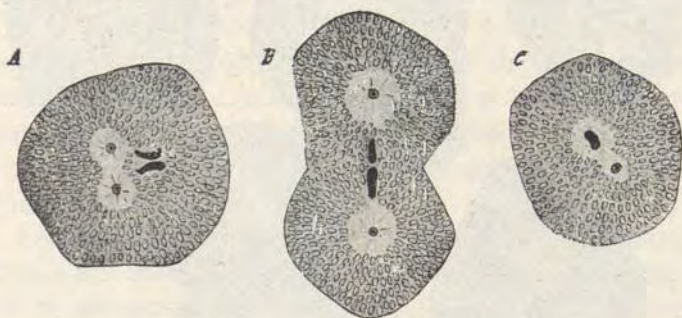


Fig. 126. — Segunda división de maduración en los espermatocitos del *ascaris megalcephala univalens* (según Brauer). — A, división del centrosoma; B, formación del huso y separación de los cromosomas; C, después de la segmentación protoplásmica ha quedado un cromosoma con una esfera atractiva en cada espermátida.

para la conjugación, el espermatocito debe sufrir, antes del acto cardinal de la *anfimixis*, cambios morfológicos y estructurales importantes (véase más adelante la *espermátogénesis*).

Estos cambios, resultado de adaptaciones anatómicas a la función de la *pesquisa* del óvulo y ruptura de la *zona pelúcida*, consisten esencialmente en la organización de un aparato locomotor y en disposiciones morfológicas adecuadas a la perforación del ovocito.

Penetración del zoospermo y conjugación de los núcleos masculino y femenino. — He aquí las fases del proceso en el *ascaris megalcephala bivalens*, según Beneden, Boveri, Carnoy, Zacharias, etc., fases que coinciden en gran parte con las descritas por Fol en el *asteria glacialis*.

1.º El zoospermo, que en el *ascaris* tiene una forma conoidea (fig. 124, Z, I), disuelve en un punto la fina membrana de cubierta del óvulo y penetra en el espesor del protoplasma. La cola y demás accesorios desaparecen, quedando solamente perceptible un grano cromático (fig. 124 II, Z) que corresponde a la cabeza del zoospermo en los mamíferos. En cuanto la pe-

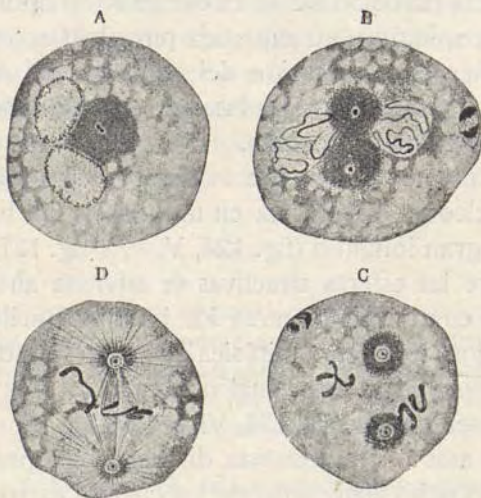


Fig. 127. — Fases de la partición del óvulo después de la penetración del zoospermo y de la formación de los dos protonúcleos (masculino y femenino). — A, partición del centrosoma del zoospermo y protonúcleos en fase de descanso; B, protonúcleos en fase de espirema; C, reabsorción de las membranas nucleares y liberación de los cromosomas; D, fase de metaquinesis (según Boveri).

netración es completa, la membrana ovular se refuerza por una nueva y más espesa cubierta, a fin de evitar la intrusión de nuevos zoospermos.

En muchos óvulos los fenómenos de reducción proceden a la entrada del filamento seminal; pero no sucede así en los del *ascaris*, donde, antes de la expulsión del segundo corpúsculo polar, ya suele esperar el núcleo zoospermico en el centro del protoplasma (fig. 124, IV).

2.º Acabada la expulsión del segundo corpúsculo de re-

ducción, el núcleo femenino se acerca al masculino, situándose ambos en el centro del óvulo: cada núcleo, *protonúcleo*, como también se designa, aparece compuesto de una membrana acromática y de una red cromática (fig. 127, A).

3.º En el protoplasma ovular surgen dos esferas atractivas, que se colocan una a un lado y otra en el opuesto de la pareja de protonúcleos (fig. 124, V, E). Estas esferas provienen, según Boveri, de la partición de la esfera atractiva aportada por el zoospermo, opinión no compartida por otros autores, que admiten también la cooperación del idiozoma del óvulo. En la figura 127, B, preséntanse las fases de esta división, que comprende también el centrosoma.

4.º Las membranas nucleares desaparecen, y la cromatina de cada núcleo se transforma en una pareja de bastones cromáticos de gran longitud (fig. 124, V, F, y fig. 127, C).

5.º Entre las esferas atractivas se advierte ahora un huso acromático, cuyo ecuador atrae los hilos acromáticos sueltos, engendrándose una figura mitótica que corresponde a la llamada *estrella madre*. De estos cuatro filamentos, dos son masculinos y dos femeninos (fig. 124, VI, y 127, D).

6.º Las asas o cromosomas divídense longitudinalmente, produciendo ocho filamentos, de los cuales cuatro se dirigirán a un polo y cuatro al otro. Resultan, por consiguiente, formadas dos estrellas hijas, en las cuales se contienen dos asas cromáticas masculinas y dos femeninas.

7.º Acábase la división carioquinética constituyéndose dos núcleos hijos en descanso y segmentándose el protoplasma. En adelante, la multiplicación de las células ocurrirá por mitosis común. El proceso será siempre iniciado por la segmentación de la esfera atractiva.

Se ve por lo expuesto que el acto de la fecundación consiste esencialmente en la construcción de una figura de estrella madre, en la cual, de sus cuatro asas integrantes, dos tienen representación masculina y dos femenina. No existe, pues, fusión de los protonúcleos paterno y materno, sino reparto de las cromatinas sexuales, de tal suerte que, en toda división celular interior, se conserve exactamente el mismo número de

filamentos cromáticos masculinos y femeninos. Esta independencia de los cromosomas masculinos y femeninos ha sido reconocida por Rückert (1895) hasta en los núcleos en fase de descanso (esferas de segmentación de las larvas de *Cyclops*), en los cuales se ven dos grupos laterales de asas, constantemente separados, uno formado por cromosomas paternos y otro por los maternos.

Tan interesante fenómeno, que ha sido confirmado por Hacker en los crustáceos y por Zoja en el *ascaris megalcephala*, prueba que todo núcleo posee una simetría bilateral, es decir, que los cromosomas paternos, colocados a un lado del eje orgánico del núcleo, son iguales en número y forma a los maternos, situados en el otro.

* * *

Estudiado el proceso de la conjugación celular en sus líneas generales, en los elementos sexuales del *ascaris megalcephala* que constituyen el objeto de elección, vamos a exponer brevemente unas cuantas cuestiones relacionadas con este problema, de gran importancia biológica, al mismo tiempo que señalamos algunas modificaciones del proceso de la conjugación en el reino animal.

Mecanismo de la formación de las tetradas. — Interpretando Boveri cada tetrada del *ascaris* como resultado de una doble partición longitudinal de un cromosoma, la consecuencia lógica era que en el ovocito o espermatozocito de primer orden sólo existe la mitad de los cromosomas de una célula somática o germinal, habiendo desaparecido la otra mitad; es decir, que la reducción tiene lugar antes de la primera división de la meiosis. O. Hertwig, por el contrario, creía que el número de cromosomas era doble que el normal, resultando de una sola partición de cada uno de los cuatro cromosomas que se habían agrupado dos a dos, y la reducción ocurriría en la segunda partición de la meiosis.

El estudio de la formación de las tetradas en los huevos del crustáceo *Cyclops* (11 tetradas) y el anélido *Ophryotrocha* (4 tetradas), en que se ha podido seguir perfectamente, así como los numerosos ejemplos de tetradas en círculos (*Grillotalpa*, etc.) y otras formas, ha hecho ver que no existe la desaparición de cromosomas que suponía Boveri, el que posteriormente (1904) ha corregido su opinión, viendo en cada tetrada una especie de cópula de dos cromosomas partidos una sola vez.

Esta idea de la cópula de cromosomas se ha generalizado merced a los trabajos de Montgomery (1901), Sutton (1902), Mac Clung (1901), etc., etc.

He aquí cómo tendría lugar la formación de las tetradas durante la profase, según las investigaciones de este siglo.

Después de la última división espermatogónica, que no se diferencia de las mitosis somáticas, la célula (espermatozoido de primer orden) contiene el número total de cromosomas perceptibles, como bandas paralelas de mayor condensación cromática en un fino retículo de cromatina (figura 128, *B C*); al iniciarse la primera división meiótica, la cromática se condensa en finos cordones, que convergen en pares hacia el polo del núcleo donde se encuentra el centrosoma (fase *leptotene*, fig. 128, *D*); los cordones se engruesan y se aproximan más, hasta ponerse en contacto los de cada par, conjugándose (*sindesis* o *sinapsis*, véase el esquema de la fig. 128); la *sindesis* no ocurre al mismo tiempo en todos los pares, llamándose a la fase en que se verifica *zygotene* (fig. 128, *E. F. G.*) y cuando ha terminado muestra el núcleo la mitad de gruesos cordones (fase *pachytene*, figura 128, *H*), representando cada uno (*bivalente*) a dos cromosomas no conjugados (*monovalentes*); después cada uno de los cromosomas se hiende a lo largo, formando dos cromosomas de nuevo, que quedan unidos de diferentes formas \cup , \cap , δ , \perp , \asymp , λ , $::$ (fase *diplotene* o *strepsitene*, fig. 128, *I*), hasta que son separados por completo al terminarse la división.

Vemos, pues, que, en esencia, la profase común de las dos divisiones meióticas concibe en la cópula o *sindesis* de los cromosomas por pares, con separación de nuevo. Esta conjugación presupone la individualidad de los cromosomas y constituye la base física de la herencia biológica.

Individualidad de los cromosomas de Rabl y Boveri o continuidad genética de Wilson. — Fué consecuencia lógica de la constancia del número de cromosomas en las mitosis de cada animal, según observaciones concordantes de un gran número de biólogos: en el ratón se forman 24 cromosomas; en la rana, 26; en el salmón, 24; en el hidrófilo, 16; en el ascaris megalocéfala, 4 ó 2, según la variedad; en el pino, 24, etc., etc. Parece como si en la interkinesis (fase de descanso) no desaparecieran los cromosomas, simplemente dejaran de percibirse, y en la profase de la división siguiente volvieran a hacerse perceptibles, a veces después de mucho tiempo.

Posteriormente se ha visto que aun en la interkinesis no dejan de existir en ocasiones señales de la persistencia de los cromosomas; en las mitosis de segmentación siguientes a la fecundación, observó Boveri en el ascaris megalocéfala, que en la telofase la porción central de los cromosomas se desvanecía en el retículo, pero los extremos quedaban como masas cromáticas prominentes, y que precisamente estas masas formaban los extremos de los cromosomas de la próxima mitosis, adoptando también idéntica distribución; después, Sutton (1903) vió en el *Brachystola magna* que cada cromosoma formaba un retículo separado en una vesícula especial del núcleo y se han sumado muchas observaciones semejantes.

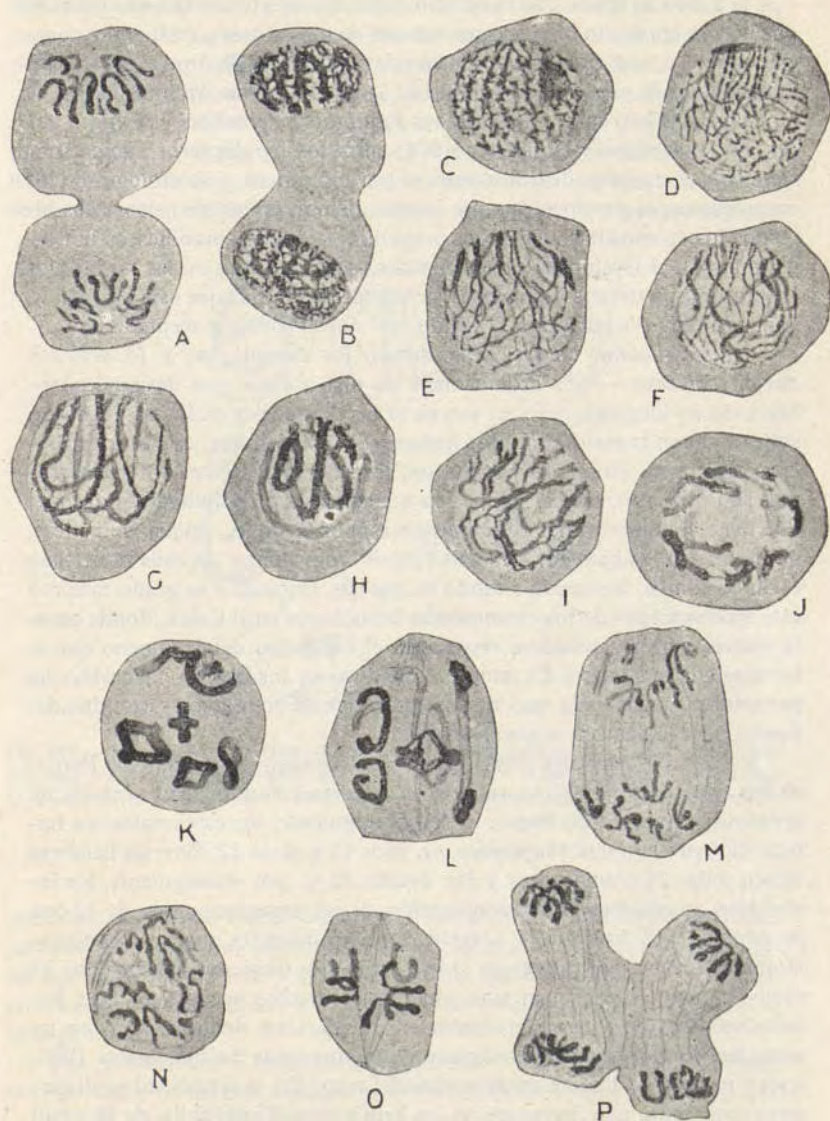


Fig. 128.—Fases de la meiosis en el macho de *Tomopteris onisciformis*, de A y K. E. Schreiner, tomadas de Agar. A y B telofases de la última división espermatogónica; C, telofase pasando a espermatocito; D, fase leptotene; E, F, G, fase zigotene; H, fase paquitene; I, fase diplotene; J, diaquinesis; K, profase de la meiosis I; L, metafase I; M, anafase I; N, profase II, O, metafase II; P, telefase II.

Si a esto se añade que el estudio, cada día más profundo, ha enseñado que no son iguales todos los cromosomas de una mitosis, existiendo, como en el número, una gran constancia en estas diferencias de forma en todas las mitosis de cada especie animal; que en las experiencias de hibridación de Moenkhaus (1904) entre los teleosteos *Fundulus heteroclitus* y *Menidia notata*, y de Harrison y Doncaster (1914) entre los lepidópteros *Lycia hirtaria* e *Ithysia zonaria*, distintos entre sí por el número y morfología de los cromosomas, se perciben durante mucho tiempo en las mitosis de los híbridos los cromosomas de ambos progenitores; y que, como hemos indicado antes. en el Cyclops y otros animales, se diferencian en las mitosis los cromosomas paternos y maternos, se comprenderá por qué esta opinión va ganando cada día partidarios, siendo casi universalmente aceptada hoy.

La desigualdad de los cromosomas, las homologías y la determinación del sexo. — Los cromosomas de una mitosis son desiguales, sobre todo en longitud; pero no son raras las diferencias en forma y espesor, sobre todo en la meiosis. En los numerosos casos en que, como en el *Brachystola magna* estudiado por Sutton, las diferencias entre los cromosomas son bien apreciables, se observa que en el núcleo *diploide* (es decir, el que tiene el número total de cromosomas, por ejemplo, células somáticas, doble que en los gametos $2n$), existen dos cromosomas de cada clase, que están próximos, formando a modo de parejas, llegando a su grado máximo este apareamiento de los cromosomas homólogos en el *Culex*, donde cuesta trabajo verlos separados; representa el comienzo del fenómeno que se termina con la sindeesis. El estudio cuidadoso en los objetos favorables ha permitido ver que cada uno de los cromosomas homólogos proceden del macho y de la hembra respectivamente.

Estudiando Henking (1891) la espermatogénesis del hemiptero *Pyrrorchoris* encontró que las espermatogonias tenían como número diploide de cromosomas veintitrés, impar, y, por consiguiente, los espermatocitos habían de tener la mitad (*haploides*, n), unos 11 y otros 12. Pero las hembras tienen todas 24 cromosomas y los óvulos 12 y, por consiguiente, los individuos resultantes de la conjugación de un espermatozoide de 12 con un óvulo de 12 tendrán 24 y serán hembras, mientras que en la conjugación de los espermatozoides de 11 con un óvulo, resultarán machos con 23 cromosomas. Después han sido observados muchos hechos análogos, habiéndose llamado a estos cromosomas que carecen de homólogo en un sexo, *heterocromosomas* (Montgomery), cromosomas *heterotrópicos* (Wilson) y más generalmente *cromosomas del sexo*. En la actualidad se distinguen dos tipos: uno, frecuente en los hemípteros (*Drosophila*, de Morgan) y mamíferos, en que falta el homólogo en el macho, y otro, de lepidópteros (Abraxas, de Doncaster) y aves, en que es la hembra la que posee un solo cromosoma sexual.

Significación de las dos divisiones meióticas. — Desde Weinmann se distinguen las divisiones meióticas en *ecuacionales*, en que se separan cro-

mosomas equivalentes, y *reduccionales* en que no lo son; mientras se ha supuesto que de los cuatro elementos de una tetrada se han formado dos por división longitudinal y otros dos por división transversal, la meiosis que separaba aquéllos era ecuacional, puesto que las mitades de un cromosoma a lo largo habían de ser equivalentes, y reduccional cuando separaba los segundos, ya que no debían ser equivalentes. Las modernas ideas hacen considerar como reduccionales las meiosis que separan los cromosomas homólogos después de la sindesis, y ecuacionales las que separan

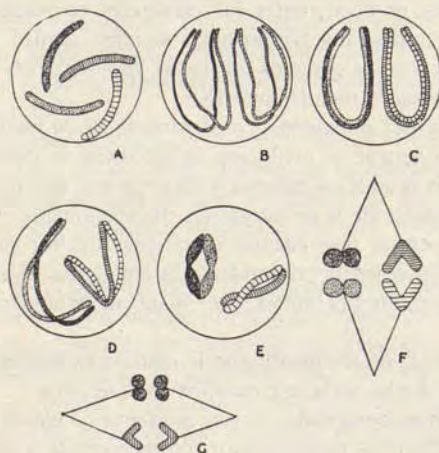


Fig. 129. — Esquema de las principales fases de la meiosis, de Agar. Los cuatro cromosomas han sido señalados diferentemente. A, profase premeiótica; B, fase leptotene; C, paquitene; D, diplotene; E, Diaquinesis; F, metafase meiótica I, reduccional; G, metafase meiótica II, ecuacional.

porciones del mismo cromosoma (fig. 129). La difícil observación hace que las opiniones sean muy encontradas respecto al orden en que se verifican las dos clases de meiosis, y hasta es posible que sea distinto en las diferentes especies; pero tiende a predominar la creencia de que la reduccional es la primera.

Los cromosomas y la herencia fisiológica. — La idea de que el núcleo es el portador de las propiedades hereditarias, ha sido expuesta por Strassburger y O. Hertwig hace bastantes años; pero sólo desde que Sutton (1903) comenzó a establecer el parangón entre el comportamiento de los cromosomas durante la conjugación y los resultados obtenidos en los experimentos de hibridación, muy numerosos a partir de haber sido dadas a conocer las leyes de Mendel por de Vries, Correns y Tschermak (1900), se trató de resolver morfológicamente el problema. El avance ha sido extraordinario

en lo que va de siglo, sobre todo merced a las pacientes investigaciones de Morgan y su escuela con la mosca, *Drosophila melanogaster*.

Los genes deben estar localizados en las distintas porciones cromáticas (*cromómeros*) de los cromosomas; en todas las mitosis somáticas mantienen separados los cromosomas paternos y maternos; pero en las de maduración (*meiosis*), se acoplan los cromosomas homólogos, y al separarse, ya no serán los primitivos, sino que habrá habido entre ellos un cambio más o menos completo, siendo ahora cada cromosoma una mezcla de los caracteres homólogos de ambos progenitores. Esta mezcla variará dentro de ciertos límites, es decir, entre los caracteres correspondientes a cada pareja, y al distribuirse los cromosomas siempre dentro de la ley de las probabilidades, entre los gametos formados, resultarán los variadísimos fenómenos de la herencia mendeliana (1).

Significación del zoospermo en el proceso de la evolución ovular. — Creencia general es que la evolución embrionaria se debe al hecho de la conjugación de la cromatina paterna y materna con que el óvulo recibe un impulso determinante de la proliferación. Incuestionable es la acción excitadora del zoospermo; mas cuando se intenta precisar cuál sea el órgano celular de éste, cuyo influjo estimulante es condición necesaria de la evolución del ovocito, surgen dudas y se plantean problemas de ardua solución.

Para la mayoría de los histólogos, la materia excitadora, indispensable al desarrollo del óvulo, sería la cromatina zoospérmica.

Según dejamos consignado, Boveri la identifica con el centrosoma del espermatozoido. Pero los experimentos de merogonia y espermatogénesis experimental nos llenan de incertidumbre, pues enseñan que ninguno de los factores constitutivos del zoospermo, ni siquiera el núcleo del óvulo, son indispensables al proceso de la evolución embrionaria.

Así, O. y R. Hertwig agitan óvulos de equinodermos en agua de mar. Durante esta maniobra muchos huevos se rompen en trozos, algunos de los cuales carecen de núcleo. Pues bien, estos trozos anucleados se dejan fecundar y se segmentan como un óvulo normal. Boveri y Delage, que han repetido estos experimentos, afirman que dichos ovocitos engendran larvas pequeñas, pero normales. Luego el núcleo ocular no es condición obligatoria del desarrollo embrionario.

Nuevos experimentos de los hermanos Hertwig sobre la fecundación de los batracios con zoospermos irradiados, es decir, tratados por las emanaciones del *radio* (lo que destruye a menudo los cromosomas zoospérmicos), enseñan que la nucleína zoospérmica no es necesaria para el desarrollo del óvulo. La acción puramente excitadora del zoospermo basta para

(1) En la imposibilidad de dar una idea, ni siquiera resumida, de estas cuestiones, recomendamos la lectura de las obras de Morgan *Physical basis of heredity*, sobre todo, y la *Herencia Mendeliana*, excelente tratado de J. F. Nonidez.

ello. El embrión producido se desarrolla bien, pero en sentido partenogenético, ya que no ha intervenido para nada la materia de la herencia. Los animales resultantes de estos experimentos pertenecen al sexo masculino. La producción de la hembra exige siempre el concurso del filamento seminal. Estos curiosos experimentos abren a la biología luminosos horizontes. Algunos autores, Ives Delage, por ejemplo, hablan ya de que en el hombre mismo pueden existir engendros partenogenéticos. El alcoholismo, la sífilis, etc., podrían destruir la capacidad de transmisión hereditaria del zoospermo, sin estorbar las cualidades fertilizantes del mismo. El engendro así producido podría compararse con esas larvas de equinodermo o de batracio, generadas artificialmente en los laboratorios sin el concurso de los zoospermos, a causa de haber sido éstos reemplazados por excitantes químicos o físicos del óvulo.

No menos interesantes son los experimentos de partenogenesis artificial de Loeb. Este sabio somete huevos no fecundados de erizo de mar, durante dos horas, al agua de mar adicionada de ciertas sales metálicas, particularmente del cloruro de magnesio; después los abandona en el agua de mar natural.

El óvulo se desarrolla como si hubiera sido fecundado; las sales de magnesio obraron la excitación. Otras sustancias actúan igual (ácido carbónico, estricnina, agua de mar saturada por evaporación, extracto de esperma del mismo animal, el ácido butírico). El embrión desarrolla una larva, al parecer normal. Continuando sus experimentos, Loeb ha precisado mejor el mecanismo de acción de los excitantes artificiales. En sustitución del zoospermo aplica este sabio a los óvulos de *erizo de mar* dos tratamientos: el *membranógeno*, así llamado porque crea rápidamente una recia cutícula periovular, que consiste en poner los óvulos durante unos minutos en una solución de ácido butírico; el *hipertónico*, caracterizado por someter dichas células a una solución concentrada de sal común en agua de mar, lo que equivale al aumento de la presión osmótica. Ulteriormente, llévanse los huevos al agua de mar, donde se verificará el desarrollo embrionario. La referida técnica reemplaza solamente la *virtud activadora* o estimulante del zoospermo; la *transmisora*, de caracteres hereditarios paternos, exige necesariamente, según dejamos dicho, la cooperación del zoospermo.

Estos resultados, comprobados por Wilson y otros, prueban que el ovocito maduro lleva consigo todas las condiciones esenciales al desarrollo embrionario. Para salir de su quietismo le es menester solamente el choque estimulante del zoospermo, que puede ser sustituido, al menos en ciertos invertebrados, por excitantes químicos inorgánicos. En todo caso, y aparte este efecto excitante del zoospermo, la anfimixis o mezcla de las cromatinas paterna y materna, parece ser necesaria para el fenómeno de la herencia y robustez y progreso de la especie, ya que tanto las larvas partenogenéticas, como los embriones procedentes de óvulos anucleados, representan seres enclenques, abortivos, incapaces de alcanzar la fertilidad y

plena madurez de la especie. Algunos autores modernos han logrado, sin embargo, una progeñe casi normal.

Desarrollo embrionario. — Las sucesivas particiones del óvulo fecundado dan origen a un conglomerado celular, todavía contenido bajo la membrana pelúcida, que se llama fase de *morula*. Los corpúsculos de que constan designanse *blastomeras*.

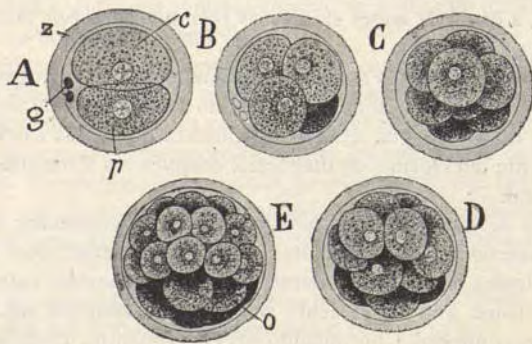


Fig. 130. — Primeras fases de la segmentación del óvulo fecundado de mamíferos, según E. van Beneden (dibujo de A. Thomson). — *z*, zona pelúcida; *b*, glóbulos polares; *c*, blastomera clara; *p*, blastomera más pequeña y oscura; *A*, fase de dos células; *B*, fase de cuatro células; *C*, *E*, *D*, formación de la morula; *o*, elementos oscuros cuya proliferación se retrasa con relación a los claros.

En la figura 130 mostramos las fases que preceden a la morula, desde la aparición de la primera pareja celular (*A*) hasta la edificación de un conglomerado de corpúsculos pequeños, esferoidales, de tamaño algo desigual. Adviértase que, desde la primera división, una de las blastomeras resultantes es más pequeña y oscura que la compañera, generando una estirpe celular que mantendrá tales caracteres y habitará de preferencia en la región central de la morula (fig. 130, *p* y *o*). En fin, como las blastomeras de una misma generación no siempre se dividen simultáneamente, la cifra celular de la morula puede ser impar.

La dirección en que sobrevienen las sucesivas particiones

del óvulo y la posición de las células hijas en éste, se subordinan a las siguientes leyes:

1.^a El primer plano de segmentación del óvulo coincide con el plano de reunión del pronúcleo masculino y femenino.

2.^a En las biparticiones sucesivas, los planos de división se orientan alternativamente en las tres dimensiones del espacio, es decir, que la sección del protoplasma es, en cada partición, perpendicular al plano de la segmentación anterior (Sachs y O. Hertwig).

3.^a En cada célula presta a segmentarse, la dirección del huso acromático coincide con el eje mayor del protoplasma.

4.^a En los arreglos de las células resultantes de la división del óvulo desempeñan importante papel los *tropismos*, particularmente el *citotropismo* o atracción recíproca de las esferas de segmentación (Roux).

El precedente mecanismo constructivo de la *morula* pertenece a los mamíferos (exceptuados los *monotremos*). El huevo fecundado de dichos animales designase *holoblástico*, a causa de que todo el protoplasma del ovocito, por no tener apenas vitelus (*alecito* u *oligolecito*), toma parte en la formación de las blastómeros y ulteriormente en la del embrión. Mas no sucede así en las aves, reptiles, peces y mamíferos monotremos, en los cuales sólo una porción del óvulo (*polo animal*) se aprovecha para la producción del embrión, sirviendo el resto para construir el *saco vitelino* (suerte del reservorio alimenticio formado por la yema) y las membranas del huevo. Semejante categoría de óvulos, dotados de copiosas reservas alimenticias (*telolecitos*), llámense *meroblásticos*.

I. Desarrollo embrionario en los mamíferos. — Fase de blástula. — Al principio, las referidas esferas de segmentación constituyen una masa maciza; pero no tarda en aparecer un líquido central que rechaza hacia la periferia las células, las cuales se disponen en membrana por debajo de la zona pellúcida. Esta capa celular es continua, forma una verdadera vesícula cerrada y se designa con el nombre de *blastodermo*.

Las gradaciones evolutivas de la blástula aparecen en la figura 131, tomada de van Beneden. Repárese que, ya durante el estadio de morula, las células centrales de ésta afectan cierta

turbidez (*b*) que no tienen las periféricas (*a*), las cuales se separan de aquéllas menos en un paraje, en donde se mantiene el contacto (*d*).

Sucesivamente, la cavidad que media entre ambas formaciones se amplía, y la blástula aparece constituida por una hilera exterior de corpúsculos claros (*blastodermo* de los autores antiguos, *trofoblasto* de Hubrech), y por un *acúmulo* interior de corpúsculos esféricos oscuros, solamente extendidos sobre un territorio limitado del blastodermo (fig. 131 *d, b*).

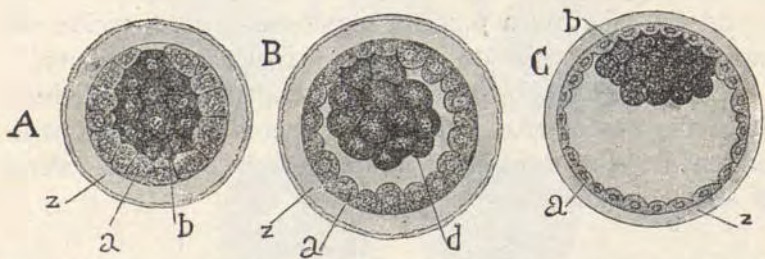


Fig. 131. — Fases de la formación de la blástula en el embrión del conejo, según van Beneden. A, morula en la cual se señala ya una capa superficial de células claras *a*, y un centro poblado de células oscuras *b*; B, las células claras *a* producen una membrana, el trofoblasto; C, células oscuras de que provendrá el entodermo; D, fases más acentuadas de la formación de la blástula; *a*, trofoblasto; *b*, rudimento del entodermo; *z*, zona pelúcida.

Hace algunos lustros considerábanse ambas formaciones del embrión de mamífero de igual significación histogenética. Mas los modernos embriólogos han puesto fuera de duda su muy diverso papel. El *trofoblasto* o *blastodermo* no colabora directamente en la formación del embrión, limitándose a suministrar los materiales indispensables al establecimiento de relaciones nutritivas entre el huevo y la mucosa uterina (placenta fetal); al paso que el conglomerado interior de corpúsculos oscuros queda afecto a la construcción del embrión y de sus membranas, mereciendo con buen título el nombre de *germen embrionario* (fig. 131, *b*).

Dicho acúmulo interior extiéndose sucesivamente por debajo del trofoblasto; modélase después en membrana, y en tal disposición se la conoce con la designación de *entodermo*.

Resulta, pues, indiscutible que en los mamíferos el *entodermo* representa la primera membrana propiamente embriogénica.

Fase de gástrula. — El mecanismo formador de la *gástrula* en los mamíferos es menos conocido que en el anfibio, dudándose todavía de cuáles sean las fases intermedias. Desde luego, dase por excluído el trofoblasto en la creación de aquélla. Aun cuando en el estado actual de la ciencia resulta arduo escoger entre los varios y contradictorios dictámenes, dase por verosímil que, poco después de la aparición del entodermo, es decir, cuando apenas el *germen embrionario* se ha modelado en membrana, los bordes laterales de ésta se repliegan hacia adentro, aproximándose entre sí; ulteriormente se juntan y dan origen a un tubo, esbozo de la futura cavidad gastrointestinal. Hagamos notar que por esta época el óvulo exhibe tan sólo dos hojas: la *exterior* o *trofoblasto* y la *interior* o *entodermo* propiamente dicho. El *ectodermo*, que algunos han confundido con el trofoblasto, es de creación más tardía.

Formación del ectodermo. — Problema por esclarecer es todavía cómo se crea y modela en los vertebrados superiores la membrana ectodérmica. La rapidez de la evolución del huevo durante esta fase y la variedad de imágenes que se obtienen según los animales estudiados, son ocasión de dudas aún no disipadas. Hoy por hoy, y abandonando hipótesis no siempre justificadas, lo único que es lícito declarar es que en cuanto surge el entodermo aparece seguidamente por fuera de éste, y en el punto en que la formación entodérmica toca al trofoblasto, una columna celular aplastada que representa el primer esbozo del ectodermo. En la figura 132, *b*, mostramos la fase inicial de la aparición de esta hoja en el embrión de conejo. Nótese que ocupa al principio el espacio intermedio entre el trofoblasto, también llamado *capa de Rauber*, y el entodermo. Más adelante, el trofoblasto se desviará del área embrionaria y, por consecuencia, el ectodermo se hará exterior, replegándose para construir el conducto medular y la cavidad amniótica. Sobre este punto preséntanse muchas variantes, según los animales explorados. Las fases de este replegamiento ectodérmico

co, hasta constituir el tubo neural o rudimento del eje cerebro-raquídeo, aparecen en la figura 133, *ca*.

Formación del mesodermo de los mamíferos. — Este proceso es muy discutido. En general, admítase, como ya demostró Kölliker hace muchos años, que esta hoja procede del ectodermo, precisamente del paraje de éste en donde se forma el surco primitivo del embrión. Al principio la continuidad del ecto y mesodermo al nivel de dicho surco es claramente de-

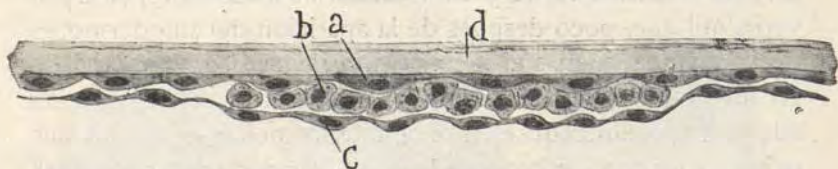


Fig. 132. — Aparición del ectodermo en el embrión de conejo de seis días, según van Beneden. — *d*, zona pelúcida; *a*, trofoblasto o capa de Rauber; *b*, rudimentos del ectodermo; *c*, entodermo.

mostrable; pero luego rómpense los vínculos que enlazaban ambas hojas celulares, y el embrión aparece compuesto de tres membranas netamente separadas: *interna* o *entodermo*, compuesta de una hilera de elementos aplanados; la *externa* o *ectodermo*, formada de células prismáticas voluminosas, particularmente abundantes al nivel del surco primitivo; la *media* o *mesodermo*, constituida de corpúsculos menos regulares y dispuestos en dos hileras fundidas hacia adentro, es decir, cerca del surco primitivo, y limitantes de un intersticio o cavidad llamada *saco celómico* o *celoma*. Entre los dos sacos celómicos aparece una columna hueca, engendrada por un replegamiento del entodermo y situada paralelamente al surco primitivo. Esta columna se designa *notocorda*.

El mesodermo, único en la proximidad del surco primitivo (fig. 133, *p*), donde se espesa para constituir el esbozo de las protovértebras, exfoliase hacia afuera (fig. 133, *B*), presentando una hoja externa llamada *fibro-cutánea*, que engendrará el tejido conectivo de la piel, y otra hoja interna designada *fibro-intestinal*, que se aplica al entodermo y suministrará el material conectivo y muscular del intestino. La cavidad existente entre ambas láminas mesodérmicas representa el primer espacio seroso del organismo (cavi-

dad pleuroperitoneal) (*pp*). La extensión del mesodermo crece progresivamente en torno del entodermo. Al principio, aquél no traspasa los límites del área embrionaria. Después, dividido ya en dos hojas, córrese por todo el huevo, rodeando enteramente el entodermo. Lo mismo sucede con el ectodermo; confinado al principio en el área embrionaria, dará la vuelta al huevo, tocando a la hoja mesodérmica exterior y replegándose dorsalmente para limitar la cavidad del amnios.

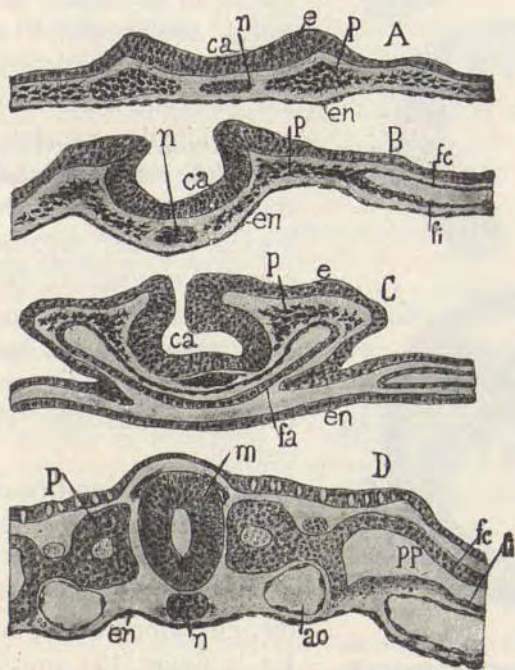


Fig. 133. — Fases de la formación del mesodermo y conducto neural en el embrión de pollo de veintitrés horas, según M. Duval. — A, corte al nivel de la parte posterior del embrión; *ca*, canal medular o neural formado por el ectodermo *e*; *n*, porción entodérmica que originará la notocorda; *p*, porción mesodérmica constructora de las protovértebras; *en*, entodermo; B, corte del mismo embrión, pero algo por detrás de la fosa cardíaca. Adviértase que hacia afuera el mesodermo aparece dividido en dos hojas: la *fibro-cutánea fc*, y la *fibro-intestinal fi*; C, corte al nivel de la fosa cardíaca. El canal medular está a punto de cerrarse para formar el conducto neural o rudimento de los centros nerviosos; D, corte de un embrión de cuarenta y ocho horas (según Vialeton y Renaut). El conducto neural *m* está ya cerrado, y por fuera de él el ectodermo se ha hecho continuo, constituyendo el epidermis cutáneo; *pp*, cavidad pleuro-peritoneal situada entre las dos hojas mesodérmicas; *p*, rudimento de las protovértebras; *n*, notocorda; *fc*, hoja mesodérmica fibro-cutánea; *fi*, hoja mesodérmica fibro-intestinal; *ao*, aortas; *en*, entodermo. (Nota: En esta figura falta naturalmente el trofoblasto.)

Valor histogénético de las hojas blastodérmicas. — Cada hoja blastodérmica posee una significación, tanto organogénética como histogénética. El *ectodermo* engendrará una categoría especial de órganos y tejidos; a saber: el epidermis cutáneo, las glándulas de la piel, el sistema nervioso, el cristalino, las mucosas bucal, ocular, etc. El *entodermo* dará origen al epitelio intestinal y sus glándulas anejas, como el páncreas, hígado, pépsicas, de Lieberkühn, etc. El *mesodermo* producirá, sobre todo, los tejidos vegetativos del organismo, tales como el conjuntivo, óseo, cartilaginoso, seroso, vascular, sanguíneo, adiposo, a los que hay que añadir algunos órganos activos, como los músculos, el ovario y testículo.

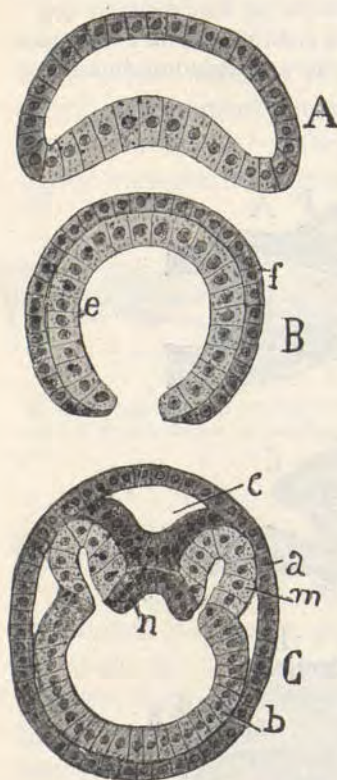


Fig. 134. — Fases del desarrollo embrionario del *Amphioxus*, según Hatschek. A, invaginación del blastodermo (polo inferior) para la formación de la gástrula; B, gástrula provista de dos hojas; e, entodermo; f, hoja externa o ectodermo; C, producción del mesodermo; m, por invaginación del entodermo; n, porción entodérmica que se transformará en notocorda; c, canal medular; a, ectodermo; b, entodermo. Nota. Aquí no existe el trofoblasto.

II. Fases embrionarias en los vertebrados inferiores. —

Fase de gástrula. — La formación de la gástrula se ha estudiado muy bien en el *amphioxus* por Hatschek. En la figura 134 mostramos las fases principales de este proceso. Nótese que, merced a la invaginación de un lado de la vesícula blastodérmica, constitúyese la *gástrula*, en la cual existe una cavidad comunicante con el exterior (*coelenteron*) y un agujero que establece la comunicación (*blastoporo*).

El pequeño espacio que resulta entre las dos hojas se llama *cavidad de segmentación*, y las hojas mismas se conocen con

las designaciones de *ectodermo* u hoja externa, y *entodermo* u hoja interna. El *mesodermo* resulta de la invaginación del entodermo (fig. 134, *m*), lo mismo que la *notocorda* (fig. 134, *n*).

En los gusanos, equinodermos, etc., la fase de *gástrula* constituye una larva independiente que se nutre por sí, experimentando algunas diferenciaciones, tales como la aparición de pestañas, etc. El coelenterón hace oficio de cavidad digestiva, y el entodermo, de mucosa intestinal.

Teorías embriogénicas. — *Hipótesis de la preexistencia.* — Bajo formas modernas y con las modificaciones exigidas por los progresos de la ciencia, ciertos autores, tales como Weissmann, Renaut, Roux, Hansemann, etc., han resucitado la antigua concepción filosófica de la *preexistencia*, en cuya virtud se admitía que todas las partes constitutivas del organismo están preformadas en el germen (óvulo y zoospermo). Mas los citados sabios, en vez de imaginar, como los antiguos, una *preformación morfológica*, contraria a la más vulgar observación, defienden una *preformación representativa*, o a favor de partículas de materia viva, las cuales habitarían exclusivamente en el interior del núcleo y se dispondrían en un orden constante, como en *mosaico*, según la feliz expresión de Roux. En cada una de estas partículas (bióforos, idioblastos, etc.), residirían los legados hereditarios correspondientes a un tejido, y así la mitosis inicial y segmentaciones sucesivas del óvulo fecundado tendrían por objeto seleccionar y entresacar del cúmulo de bióforos representativos los pertenecientes a cada sistema orgánico; es decir, las materias hereditarias determinantes de la especificidad anatomofisiológica de las células adultas. Ocurrido el parto de las susodichas partículas o bióforos, algunas de ellas podrían abandonar el núcleo y estacionarse en el protoplasma, al cual prestarían la capacidad de ejercitar actividades especiales transmisibles por la generación.

Teoría evolutiva por condiciones exteriores. — La crítica de la primera concepción y de las observaciones en que se funda condujo a los embriólogos a una teoría más conforme con los hechos, que puede formularse así: no existe en el óvulo arreglo topográfico de la materia de la herencia, ni representación específica de territorios histológicos. Si las condiciones exteriores son favorables, cualquiera de las regiones nucleares, y por de contado, cualquiera de las esferas de segmentación en que se repartió el *subtractum* hereditario, es susceptible de engendrar la pluralidad de los tejidos lo mismo que un embrión perfecto. De donde se infiere que el núcleo no es un mosaico de bióforos representativos que se distribuyen y clasifican durante la segmentación, sino un grupo de centros evolutivos, cualitativamente equivalentes, y que encierran virtualmente el conjunto del embrión. Y si bien es indiscutible que una vez segmentado el óvulo y for-

madras las hojas blastodérmicas, cada una de éstas produce familias histológicas, fisiológica y estructuralmente diferenciadas, ello dependería de las diversas condiciones físico-químicas a que dichas hojas están sometidas (Delage), y sobre todo, de la excitación funcional específica (Roux). La posición relativa de las células en los órganos primitivos, su proximidad o alejamiento del exterior, las presiones, plegamientos y tensiones elásticas a que cada colonia celular vive sometida, son otras tantas condiciones modificadoras de la evolución de los tejidos y de la división y peculiaridad del trabajo fisiológico.

Como hechos favorables y aun probatorios de esta doctrina epigenética, se citan: *a)* La amplitud que todas las regiones del núcleo y protoplasma del óvulo (rana), poseen para generar indiferentemente el ectodermo o el entodermo (el primer plano de segmentación es constantemente perpendicular al punto de penetración del zoospermo), y éste puede abordar el óvulo por cualquier lado. *b)* La posibilidad de obtener, cuando se destruye una o varias esferas de segmentación del óvulo, un embrión completo, aunque más pequeño. *c)* La demostración, debida a varios autores, de que en ciertos casos excepcionales, aun los tejidos más diferenciados engendran formaciones histológicas extrañas a su estirpe. *d)* En fin, cuando necrosando una esfera de segmentación se consiguen a veces semiembriones, ello depende de que la esfera mortificada continúa ocupando su lugar y crea a su compañera condiciones mecánicas y químicas semejantes a las existentes antes de dicha mortificación. Si en vez de matarla simplemente se la descarta o destruye por completo, la esfera indemne desarrolla constantemente embriones completos.

Preparación de las células. — Siendo las células los elementos que componen los tejidos, resulta superfluo decir que casi todos los métodos de la técnica histológica se encaminan a la demostración de células. Sin embargo, constituyen objeto especial de la técnica citológica, los métodos que tienen por objeto el estudio de células aisladas, o los que de un modo general, sea cualquiera el tejido en que se apliquen, pongan de manifiesto alguno de los componentes estructurales normales de la célula; como en las demás técnicas especiales, que serán expuestas después del objeto correspondiente (tejido, órgano), comenzaremos, cuando sea posible, por los métodos que permiten el estudio in vivo, por considerar que son los que proporcionan imágenes más reales.

Examen de células vivas. — Los protistas constituyen el objeto de estudio más apropiado; basta poner una gota de una infusión de heno de quince días entre porta y cubre, o mejor en gota pendiente sobre una cámara húmeda, para observar una porción de infusorios distintos (paramecias, etc.) de las más variadas formas y movimientos, apreciándose los núcleos, las vacuolas contráctiles, las inclusiones, los cilios y flagelos, cuando el movimiento se hace lento, etc. Si se raspa la capa gelatinosa de las hojas vegetales en putrefacción en los estanques y se examina con una gota de

agua veremos amebas. Para hacer más patente la estructura podemos añadir al líquido en que se observan rojo neutro al 1 por 2.000 u otros colorantes vitales.

También los vegetales suministran en los pelos estaminales de la *tradescantia* un excelente objeto para el estudio de los movimientos protoplásmicos. En cortes de patata, cebolla y numerosos vegetales con navaja barbera se puede estudiar la estructura celular.

En los metazoarios superiores, que son los que a nosotros más nos interesan por su relación con el hombre, esta clase de estudio sólo es posible en los cultivos de tejidos, pero podemos examinar, aunque sólo sea por poco tiempo, células vivas separadas de los organismos vivos; así podemos observar en gota pendiente los espermatoroides, los óvulos de muchos animales, como veremos en su lugar respectivo; se puede ver el movimiento del epitelio vibrátil, raspando o desprendiendo pedazos de la mucosa esofágica, que se colocan en una gota de suero fisiológico, entre porta y cubreobjeto; se puede ver el movimiento amiboide de los leucocitos, etc., etc.

Granulaciones intraprotoplásmicas. Método de Altmann.

1.º Fijación de las piezas en una mezcla, a iguales volúmenes de solución, al 5 por 100 de bicromato potásico y 2 por 100 de ácido ósmico.

2.º Lavado en agua corriente durante algunas horas.

3.º Endurecimiento en alcoholes progresivos y encastramiento en parafina.

4.º Los cortes, delgados, son montados en el porta mediante la albúmina o el licor de Schallibaum, desparafinados al xilol y mojados en alcohol.

5.º Échanse sobre ellos algunas gotas de solución al 20 por 100 de fuchina ácida en agua de anilina a saturación y se calientan después hasta emisión de vapores.

6.º Enfriados los cortes, trátanse con un líquido en donde entran: solución alcohólica saturada de ácido pícrico, una parte; agua, dos. A fin de diferenciar más enérgicamente, llévanse los cortes sumergidos en el líquido precedente a la estufa a 37º.

7.º Lavado en alcohol, xilol, etc.

Antes de la acción de la mezcla osmio-bicrómica, algunos autores (Schridde) fijan en un líquido, formado por formol, 1, y líquido de Müller, 9, durante veinticuatro horas, lavando después.

Si la reacción sale bien, las granulaciones primitivas de las glándulas y de toda clase de células (*neurosomas* de Held, etc.) aparecen teñidas en rojo intenso sobre fondo amarillento.

Mitocondrias. — Prescindiremos del método de Benda, poco usado hoy, y daremos los siguientes, harto más cómodos y seguros.

Proceder de Meves (1908).

Este autor fija las piezas en el líquido de Flemming, incluye en parafina y colorea después los cortes por la hematoxilina ferruginosa de Heiden-

hain, que tiñe las mitocondrias de negro, así como los núcleos. La hematoxilina debe estar bien madura.

Regaud y Mawas (1909) fijan las piezas durante veinticuatro horas en una solución formólica de bicromato (formol, 20; solución de bicromato al 3 por 100, 80); las lavan algunas horas en agua, las trasladan después al bicromato al 3 por 100, donde permanecen de cuatro a diez días; irrigan en agua corriente por varias horas y, en fin, tiñen con la hematoxilina ferruginosa.

Las mitocondrias se tiñen también por el proceder de Río-Hortega (primera variante del método de Achúcarro), y por nuestro método del nitrato de urano (fijación en urano-formol durante seis a ocho horas; animales jóvenes o embriones), de que tratamos a continuación, a propósito del retículo de Golgi.

Aparato Golgi. Método de Golgi-Veratti. — En un principio usó Golgi, para colorar dicho aparato, una variante de su método al cromato de plata; esta variante técnica ha sido modificada por Veratti.

He aquí el nuevo método:

1.º Trozos de tejido se abandonan por veinte a treinta días en este líquido:

| | |
|--|-------------|
| Solución de bicromato de potasa al 5 por 100. | 2 cc. |
| Solución de cloruro, de platino y de potasio al 1 por 1.000. | 2 » |
| Ácido ósmico al 1 por 100. | 1 1/2 a 2 » |

2.º Reducidas a pequeños fragmentos, se llevan las piezas a este líquido, donde permanecen de dos a tres días:

| | |
|---|-------|
| Solución de bicromato de potasa al 5 por 100. | 3 cc. |
| Sulfato o acetato de cobre al 5 por 100. | 1 » |

3.º Inmórgense las piezas en una solución de nitrato de plata al 1 por 100, que actuará cuarenta y ocho horas.

4.º Deshidratación y cortes como en el método de Golgi.

Método de Kopsch. — Consiste en sumergir las piezas frescas, durante una semana o más, en una solución de ácido ósmico al 2 por 100. Lavado de los bloques, alcoholes, inclusión en parafina, etc. Las secciones, que deben ser muy finas, revelan en el protoplasma nervioso cordones y fibras negros, que corresponden al corte del aparato tubular.

Este proceder ha sido mejorado por Sjöwall (1905) de la manera siguiente:

1.º Fijación de las piezas, durante ocho horas, en solución de formol al 25 por 100.

- 2.º Lavado por una hora.
- 3.º Durante dos días déjense las piezas en ácido ósmico al 2 por 100, que deberá actuar en estufa a 35º.
- 4.º Lavado, inclusión en parafina, etc., etc.

Método del nitrato de plata modificado por Golgi. — Recientemente (1908), Golgi ha transformado nuestro proceder del nitrato de plata, acomodándolo a la impregnación exclusiva del retículo intraprotoplásmico.

La siguiente fórmula, ensayada por Collin, Luciani, Vecchi, Brugnatelli, Perroncito, Luna, etc. (1909 a 1913), parece bastante constante, teniendo sobre los demás procederes la ventaja de la rapidez:

- 1.º Fijación, durante seis a ocho horas, en

| | |
|---|--------|
| Formol al 20 por 100. | 30 cc. |
| Solución saturada de ácido arsenioso. | 30 » |
| Alcohol de 96º. | 30 » |

2.º Las piezas se llevan a una solución de nitrato de plata al 1 por 100, donde permanecerán desde trece horas a varios días.

3.º Después de un lavado rápido en agua destilada, redúcense las piezas en

| | |
|---------------------------|-----------|
| Sulfito de sosa | 5 g. |
| Hidroquinona. | 50 » |
| Agua destilada | 1.000 cc. |

4.º Previo lavado rápido en agua, induración, inclusión y cortes, Golgi añade algunas otras operaciones, que no son necesarias, pero que hacen destacar mejor la impregnación.

Son las siguientes:

- 5.º Virado en dos soluciones:

Solución A.

| | |
|---------------------------------|-----------|
| Hiposulfito de sosa | 30 g. |
| Sulfocianuro de sodio | 30 » |
| Agua | 1.000 cc. |

Solución B:

Cloruro de oro al 1 por 100.

6.º Rebajador de intensidad. Después de lavados sométense los cortes por algunos segundos a este rebajador.

| | |
|---------------------------------|---------|
| Permanganato potásico | 0,50 g. |
| Acido sulfúrico. | 1 cc. |
| Agua destilada | 1.000 » |

7.º Lavado de los mismos en ácido oxálico al 1 por 100, y después en agua destilada.

8.º Coloración en *Carmalaun*, lavado, etc.

Método de Cajal al formol-urano (1914) para teñir el aparato de Golgi y las mitocondrias:

1.º Piezas de 2 a 2,5 mm. de espesor son fijadas en:

| | |
|----------------------------|----------|
| Nitrato de urano | 1 a 5 g. |
| Formol | 15 cc. |
| Agua | 100 » |

Este baño debe actuar de nueve a doce horas.

2.º Previo rápido lavado de las piezas se sumergen en nitrato de plata al 1,5 por 100 (si las piezas son pocas o de escasa extensión puede descenderse al 1 y hasta al 0,75 por 100). La acción de este baño debe durar veinticuatro horas por lo menos.

3.º Después de lavadas dos veces en agua destilada para quitar el nitrato superficial (esta maniobra debe durar algunos segundos) se sumergen en este reductor:

| | |
|-----------------------------------|----------------|
| Hidroquinona | 2 g. |
| Formol | 6 cc. |
| Agua | 100 » |
| Sulfito de sosa anhidro | 0,15 a 0,25 g. |

es decir, cantidad suficiente de este último para que el baño adquiriera a los pocos instantes un color amarillo. En algunos casos podrá prescindirse del álcali (tejidos adultos).

4.º Transcurridas nueve a doce horas sácense las piezas del reductor, se lavan rápidamente y se induran en alcohol. Englobamiento en celoidina, etcétera.

Nota importante.— Cuando se trate de colorear el aparato de Golgi, el tiempo de fijación en el formol será de nueve a doce horas. El teñido de las mitocondrias en los embriones y glándulas de los animales adultos exige solamente seis horas. Aumentando la cantidad de formol (llegando hasta el 20 por 100, según ha propuesto Penfield (1920) y prescindiendo del sulfito, conforme hace F. Castro, obtiéndose también espléndidas impregnaciones en los animales adultos. Un poco de alcohol en el reductor, según práctica de Golgi, parece afirmar en ciertos casos el precipitado.

Núcleo y mitosis.— Para observarlas con toda comodidad deben utilizarse animales de células grandes: larvas, testículos, ovarios de anfibios; pero también se ven en todos los demás órganos y animales, sobre todo en la época embrionaria, en que son abundantísimas. Los fijadores más convenientes, las mezclas de Flemming, de Zenker, *Susa* de Heidenhain, subli-

mado acético; para el teñido, además de los métodos generales, son especialmente recomendables:

Método de Mann:

- | | |
|---|--------|
| 1.º Disolución acuosa de azul de metilo (1) al | |
| 1 por 100 | 35 cc. |
| Disolución acuosa de eosina al 1 por 100. | 45 > |
| Agua destilada | 100 > |

Los cortes deben estar veinticuatro horas en el color.

2.º Lavado ligero en agua y deshidratación en alcohol absoluto.

3.º Diferenciación en 60 cc. de alcohol absoluto en 10 gotas de una disolución de sosa en alcohol absoluto al 1 por 100, hasta que los cortes se pongan rojos.

4.º Lavado en alcohol absoluto para eliminar la sosa.

5.º Agua ligeramente acidulada con ácido acético.

6.º Alcohol absoluto, xilol, bálsamo.

Método de Babes-Benda, para las mitosis:

1.º Teñido, durante veinticuatro horas; en Safranina, anilina, que se prepara disolviendo 2 a 3 g. de safranina en 100 cc. de agua de anilina (agua, 100 cc.; anilina purísima, 5 a 10 cc.; agítese fuertemente y fíltrese por papel mojado) a 60º y filtrado por papel mojado.

2.º Rápido lavado en agua.

3.º Diferenciación en alcohol de 96º con el 1 por 100 de verde luz.

4.º Alcohol absoluto, xilol, bálsamo.

(1) El azul de metilo (no metileno) debe ser completamente insoluble en alcohol absoluto.

El presente informe tiene por objeto informar a V. Exa. de los resultados obtenidos en el estudio de campo realizado en el mes de mayo de 1988.

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

El estudio de campo se realizó en el mes de mayo de 1988, en el marco del proyecto de investigación "Estudio de campo sobre el uso de los recursos pesqueros en el sector de la zona de estudio".

SECCIÓN II

HISTOLOGÍA

Concepto de Histología. — Definición de tejido.

Clasificación de los tejidos.

Se llama *Histología* (de *ιστος*, tejido, y *λογος*, tratados) la sección de la Anatomía general que estudia los tejidos orgánicos.

Tejidos. — *Son las masas orgánicas formadas por la asociación, en un orden constante, de células de propiedades estructurales, fisiológicas y químicas semejantes.*

El tejido representa una trama celular típica, siempre idéntica, en cualquier parte del organismo en que se la estudie. La reunión de varias tramas de propiedades diversas engendra los sistemas, o sea la compleja urdimbre de los órganos. Sólo por excepción existen órganos como el cristalino, constituidos exclusivamente de un solo tejido; los músculos, los huesos, las glándulas, etc., resultan de la asociación y entretrejimiento de tres o cuatro tejidos.

Clasificación de los tejidos. — Las analogías y diferencias que, bajo el triple aspecto de la génesis, actividad fisiológica y composición anatómica, ofrecen los tejidos pueden servir de base para una clasificación histológica; empero, ninguno más provechoso que el *principio estructural*, aunque en el estado actual de la ciencia no pueda fundarse en él una clasificación absolutamente irrefutable.

He aquí la clasificación que nos parece más lógica. Se funda en dos consideraciones anatómicas: el modo de unión de las células y el grado de diferenciación del cuerpo protoplas-

mático. Por lo demás, este agrupamiento de los tejidos tiene muchos puntos de contacto con la clasificación de Virchow:

| | | | | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|------------------|--|---|---|---------------------------------------|
| | De células unidas directamente . . . | { | epitelial. | | | |
| | | | tejido del cristalino. | | | |
| <i>Tejidos simples</i> | | | De células separadas por substancia fundamental | { | con substancia fundamental líquida. | sangre. <i>no es tejido</i> linfa. |
| | | | | | { | semilíquida. |
| | { | sólida | | | | cartilaginoso. óseo. dentario. |
| | De células transformadas. | { | muscular. nervioso. | | | |
| <i>Tejidos compuestos</i> | | { | tegumentario. piloso. seroso. glandular. vascular. | | | |

CAPÍTULO PRIMERO

TEJIDO EPITELIAL

Definición. — El tejido epitelial de $\epsilon\pi\acute{\iota}$, (sobre), y $\theta\eta\lambda\acute{\alpha}$, (*mamelón o papila*) es una trama membranosa que reviste las superficies libres del organismo, y consta de células poliédricas unidas entre sí por escasa cantidad de un cemento intersticial.

Caracteres micrográficos. — Son los epitelios membranas transparentes o translúcidas, elásticas, coherentes, exentas de vasos pero no de nervios. Por una de sus caras son libres, limitando la cavidad de los órganos internos o la superficie de la piel; por su cara profunda se adhieren íntimamente al tejido conjuntivo, del cual extraen el plasma de nutrición.

Caracteres micrográficos de los epitelios. — La composición de los epitelios es extremadamente simple, pues constan solamente de células, generalmente voluminosas, exentas de expansiones y limitadas por facetas planas. El contacto de las células no es inmediato; entre ellas existe una materia resistente, diáfana, que se tiñe en negro por el nitrato de plata (*cemento* de unión) y se disuelve por la potasa y el alcohol al tercio. En ciertos epitelios falta el cemento y la unión se refuerza a favor de filamentos intercelulares (piel).

Clasificación de los epitelios. — Atendiendo a la morfología celular pueden distribuirse en tres grupos principales: epitelio de células aplanadas, epitelio de células alargadas o prismáticas, epitelio de células cúbicas. Para establecer los géneros conviene introducir el principio de la diferenciación celular.

He aquí la clasificación:

| | | | | |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|----------------------|------------------------|
| <i>Los epitelios son. . . .</i> | } | De células aplanadas | } de una sola capa . | endotelio. |
| | | o anchas | } de varias capas. . | epitelio tegumentario. |
| | } | De células prismáticas o largas | } con chapa | intestinal. |
| | | | } caliciforme. . . . | secretorio. |
| } con melanina . . . | | | pigmentario. | |
| } | De células cúbicas o cortas | } con pestañas . . . | vibrátil. | |
| | | } | glandular. | |

Endotelios. — Así fueron llamados por His aquellos epitelios aplanados, de una sola capa, semejantes a un pavimento, que tapizan las cavidades cerradas del mesodermo; a saber: el interior del árbol sanguíneo y linfático, el corazón, pleura, peritoneo, pericardio y aracnoides, las sinoviales articulares, etc. Aunque, por lo común, los endotelios reconocen un origen mesodérmico, no faltan excepciones, entre las cuales debe citarse el pulmón, cuyas vesículas terminales, con ser de estirpe entodérmica, están revestidas de células aplanadas de aspecto endotelial. Hay también cubiertas endoteliales que no tapizan cavidades serosas, sino superficies de órganos en contacto con otros tejidos. Tales son, por ejemplo, las cubiertas endoteliales de la vaina laminosa de los nervios, la que rodea los haces tendinosos secundarios, la que tapiza los órganos musculotendíneos de Golgi, las que envuelven las células de los ganglios raquídeos, etc.

Las células endoteliales no pueden estudiarse bien sino en las preparaciones tratadas en fresco por el nitrato de plata, reactivo que produce, al nivel del cemento intercelular, un precipitado negro de plata metálica que dibuja correctamente los contornos celulares. En estas preparaciones se advierte que las células endoteliales son delgadísimas, transparentes, de forma poligonal y de bordes sinuosos, íntimamente ajustados a los de los vecinos elementos. En ciertos parajes, sobre todo en los puntos de convergencia de varias células, nótanse unos acúmulos redondeados de cemento, que algunos autores han tomado erróneamente por agujeros preformados (*estomas*). A

veces, sin embargo, las comunicaciones son reales y alcanzan considerable diámetro, según ocurre en el epiplón mayor del conejo recién nacido (fig. 136, *b*). Tales perforaciones, que cruzan de parte a parte la membrana, son la obra de leucocitos emigrantes.

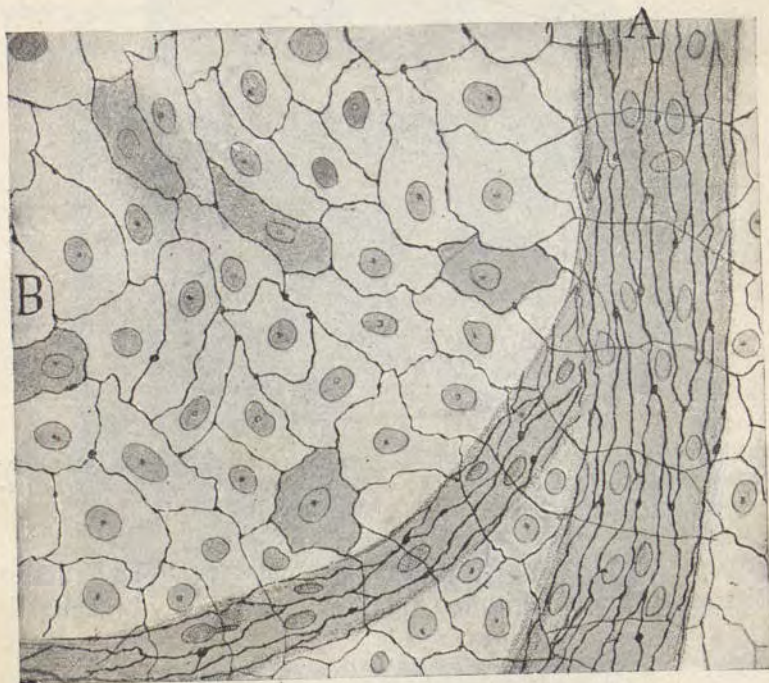


Fig. 135. — Endotelio del mesenterio de la rana. Coloración con el nitrato de plata y carmín. A, endotelio de un capilar sanguíneo; B, endotelio del mesenterio.

Dada la extrema transparencia y delgadez de dichas células, es difícil de apreciar el retículo protoplásmico, así como la membrana; en cambio, los reactivos de la cromatina denuncian constantemente la presencia de un núcleo redondo u oval, aplastado en el mismo sentido que el cuerpo celular. Igualmente se advierte, según hemos demostrado nosotros en los embriones, un aparato de Golgi bien deslindado (fig. 137, *a*). De las dos superficies celulares, la libre es lisa y está lubricada-

da por plasma, en el cual nadan algunos leucocitos; mientras que la adherente es más áspera, toca a los fascículos conectivos

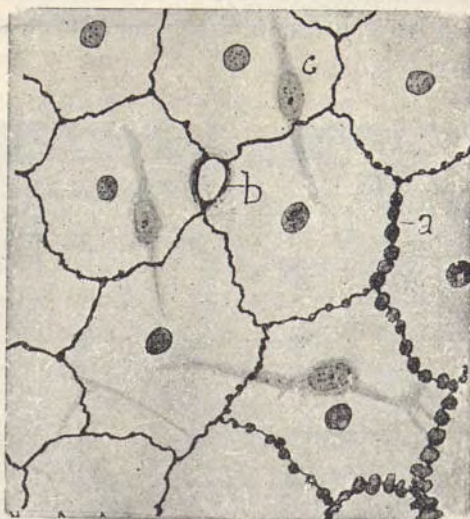


Fig. 136. — Trozo del endotelio que tapiza el epiplón mayor del conejo recién nacido. *a*, aspecto arrosariado del cemento en los parajes en que la membrana fué muy distendida; *b*, perforación amplia; *c*, célula conjuntiva.

próximos, y algunas veces parece presentar, como ha indicado Bizzozero para el peritoneo, una capa basal, fina y brillante.

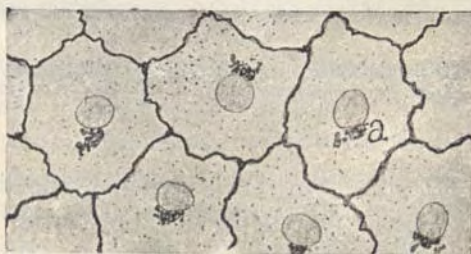


Fig. 137. — Endotelio del endocardio visto de frente. *a*, aparato de Golgi. Embrión de cuarenta y cuatro horas.

La morfología de las células endoteliales se subordina a su topografía y a la disposición del órgano que deben revestir.

Así, en las grandes serosas dichas células son planas o casi planas, mientras que en los capilares y fascículos tendinosos el cuerpo celular se abarquilla, acomodándose a la forma cilíndrica del órgano. Presentan también variaciones topográficas de forma, cuyo origen no puede determinarse, las células de la pleura y peritoneo (fig. 135), las cuales son anchas, poligonales y de bordes irregulares; el endotelio vascular, cuyos elementos

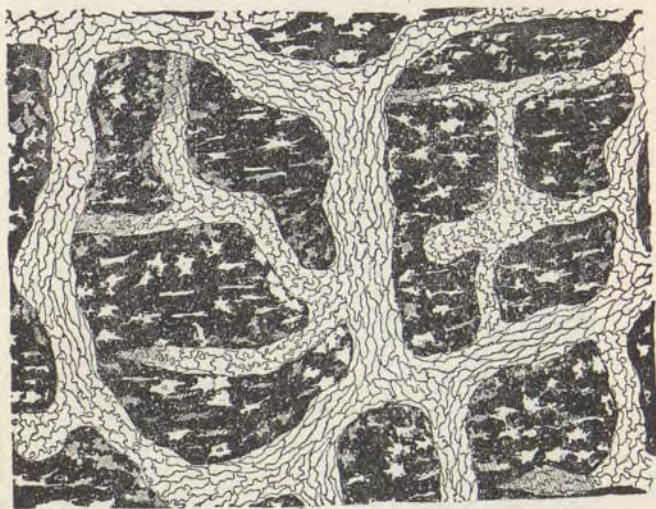


Fig. 138. — Capilares linfáticos del centro frénico del diafragma del conejo, teñidos por el nitrato de plata. Las células que resaltan en el fondo negro son corpúsculos conjuntivos.

afectan figura romboidal, con el eje mayor paralelo al del vaso; el endotelio de los vasos linfáticos, donde dominan células irregularmente romboidales, de bordes engranados a beneficio de anchos dentellones, etc. (fig. 138). Este aspecto dentellado ha sido atribuido por Muscatello al estado de retracción de los endotelios; con la tensión, las sinuosidades de los bordes celulares desaparecerían en gran parte. En algunos endotelios, por ejemplo, en el que tapiza el centro aponeurótico del diafragma (fig. 139), faltan casi enteramente las desigualdades de los bordes. En esta figura nótase también que la dimensión de las células varía según las localidades del diafragma: pequeñas al

nivel de las depresiones, ganan aquéllas en amplitud sobre las eminencias del tejido aponeurótico (fig. 139, *b*).

Admítase, en general, que los contornos celulares están unidos solamente a favor de un cemento resistente; sin embargo, el endotelio de la membrana de Descemet (cara posterior de la córnea) presenta filamentos comunicantes que fueron descritos por Preiss, Smirnow y nosotros (1). En ciertos casos



Fig. 139. — Endotelio del centro frénico del diafragma del conejo. *a*, células situadas al nivel de una depresión intertendinosa; *b*, células correspondientes a las salientes fibrosas.

descúbrese también filamentos de unión en las células peritoneales, como ya habíamos nosotros sospechado (2) y ha demostrado posteriormente Kolosow. La disposición festoneada de los bordes celulares, cuando la membrana endotelial se estira demasiado (fig. 136, *a*), habla también en favor de la existencia de dichas comunicaciones.

Epitelio tegumentario. — Trátase de un epitelio resistente, poliestratificado, que reviste todas las superficies libres expuestas a frotos y presiones enérgicos, tales como la piel, la boca, el esófago y faringe, los órganos genitales externos, la vagina

(1) Véase nuestro *Manual de Histología normal*, pág. 295.

(2) Cajal: *Manual de Histología normal y Técnica micrográfica*, pág. 296.

y tercio inferior de la cavidad del útero, la vagina y uretra, las cuerdas vocales inferiores, el conducto auditivo externo, etc.

Tres rasgos fundamentales distinguen este epitelio de todos los demás: ser poliestratificado, constar de células poliédricas más o menos aplastadas de fuera a dentro y carecer de ce-

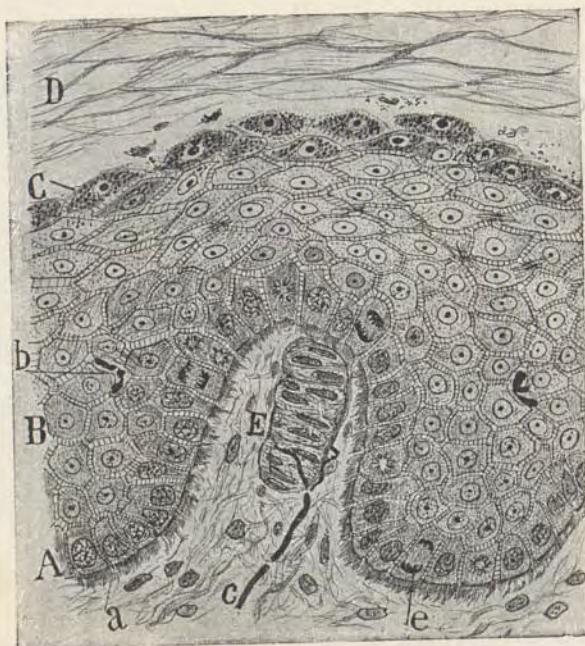


Fig. 140. — Corte perpendicular del epidermis de la piel de un dedo. A, capa germinal; B, células intermedias del cuerpo de Malpigio; C, estrato granuloso; D, epidermis córneo; E, corpúsculo de Meissner situado en una papila del dermis; a, capa basal estriada; b, leucocito emigrado; c, fibra nerviosa; e, célula en vía de mitosis.

mento sólido intercelular, ausencia compensada con la existencia de numerosos puentes de unión, es decir, de ciertos filamentos que, partiendo del retículo protoplasmático de una célula, se continúan con el retículo de las vecinas.

El tipo de los epitelios tegumentarios es el epidermis cutáneo. Cuando se examina un corte perpendicular de la piel, se advierten en el epidermis dos formaciones bien distintas: *zona*

superficial, llamada *epidermis córneo*, cuyas células han perdido el núcleo, el protoplasma y todo resto de vitalidad, y *zona profunda*, designada también *cuerpo mucoso* de Malpigio, y construída de células vivas, nucleadas y provistas de protoplasma filamentososo, anastomosado con el de las vecinas a favor de hilos comunicantes (figuras 140, B, y 142).

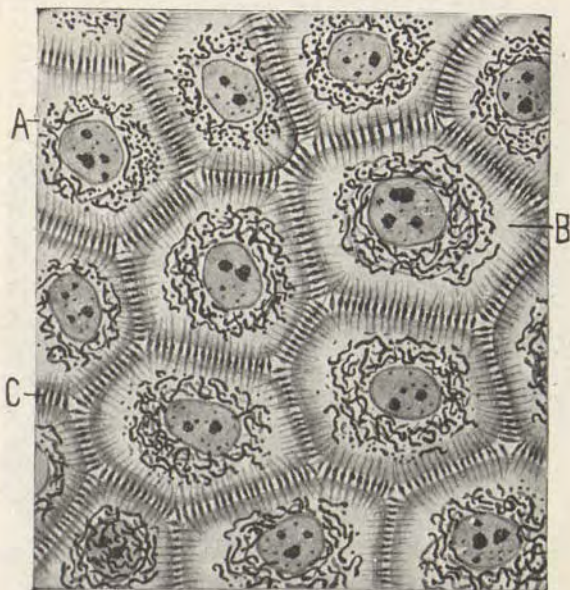


Fig. 141. — Condrioma de las células epidérmicas humanas. A, célula con abundantes mitocondrias; B, ídem con predominio de condriocentes; C, puentes intercelulares (según Río-Hortega).

Un examen minucioso de la *formación profunda* o cuerpo de Malpigio, nos enseñará que no todas sus células constitutivas poseen igual forma y estructura. Bajo este respecto cabe subdividir esta zona en tres substratos: *profundo o germinal*, *medio o principal*, *superficial o granuloso*.

El *substrato profundo o germinal* toca las papilas del dermis y está constituido por una hilera de células cúbicas o prismáticas, provistas por su cara inferior de una chapa o membrana basal brillante y estriada verticalmente (fig. 140, a). El

nombre de *germinal* lo debe este estrato a que casi todas sus células ofrecen fases de mitosis, fases que faltan casi siempre en las demás hileras celulares. Tales corpúsculos germinales tienen por misión proliferar activamente, a fin de reparar, con elementos nuevos, los continuos desgastes experimentados por la formación superficial del epidermis. Ocurrida la segmenta-

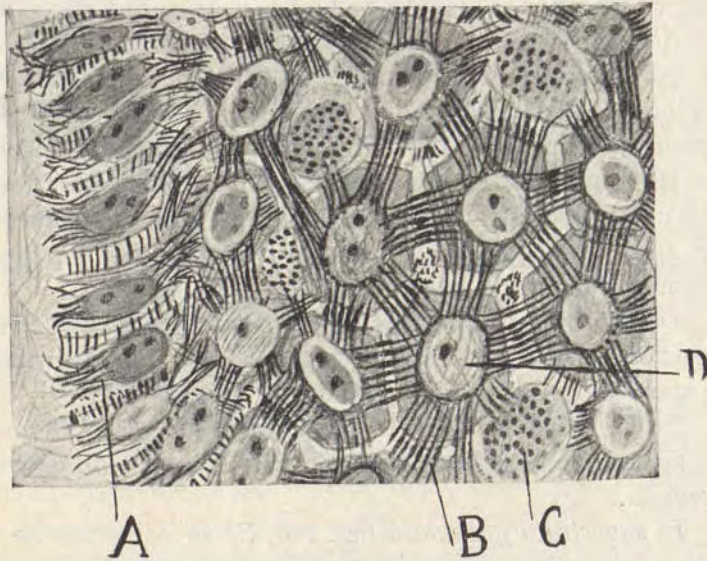


Fig. 142. — Detalles del retículo y filamentos comunicantes de las células del cuerpo de Malpighio, del borde de un epitelioma (Método de Achúcarro).

ción, una de las dos células resultantes emigra hacia arriba recorriendo las diversas capas del epitelio, empujada por la presión de otros corpúsculos más jóvenes; mientras que la otra queda en el yacimiento primitivo, sirviendo a perpetuidad de germen epitélico.

En fin, es común encontrar entre los elementos germinales y hasta en la zona superpuesta *corpúsculos pigmentarios* ramificados, emigrados del dermis. En el negro y en ciertos mamíferos, son abundantísimos.

El *substrato medio* (figuras 140, B, y 142) es el más espe-

so, y consta de varias hileras de células poliédricas, que aumentan en volumen y aplanamiento a medida que ocupan regiones más superficiales. Entre estos corpúsculos se perciben muy bien los filamentos comunicantes, engrosados en su cruce por el líquido intercalar a favor de tenue membrana (1). Este estuche, que aparece más o menos espesado hacia su porción central, posee una composición química algo especial, ya que se tiñe en rojo por el método de Unna, y en pardo claro por el de Achúcarro (Tello). En la figura 147, mostramos el aspecto de estos filamentos en los cortes de epitelomas teñidos por el método de Achúcarro. Adviértase que casi todas las fibras parecen partir de un plexo pálido situado en torno del núcleo (D). En las células del estrato germinal se ven epiteliofibrillas terminarse inferiormente. En ciertos parajes, los hilos intercelulares aparecen apartados para dar paso a leucocitos emigrantes llegados del dermis subyacente.

Dentro de la célula preséntase el *condrioma*, que ocupa una posición perinuclear, según ha demostrado Río-Hortega. En él aparecen condriosomas y condriocotes (fig. 141).

En fin, todos los elementos del cuerpo de Malpigio poseen un aparato de Golgi que ofrece la particularidad de estar disgregado.

El *subestrato granuloso* (fig. 140, C) se compone de dos hileras irregulares, y a menudo discontinuas, de células poliédricas aplanadas, cuyo protoplasma encierra unas esferas brillantes, colorables por el carmín, hematoxilina y anilinas básicas (*eleídina* de Ranvier, *keratohialina* de Waldeyer). A estos granitos se debe el nombre de *stratum granulosum* con que algunos autores designan este subestrato epidérmico. El protoplasma que alberga los granos es brillante y semiqueratiniizado; sus hilos comunicantes se definen con dificultad, y el núcleo retraído y coarrugado dentro de la célula sólo posee un grano cromático central.

La *formación superficial* (fig. 140, D) o *epidermis córneo*

(1) Véase Cajal: «Contribution à l'étude des cellules anastomosées des épithéliums pavimenteux stratifiés.» *Inter. Monatschrift f. Anat. u. Histol.* Bd. III núm. 7, 1886.

consta de células aplastadas, a la manera de escamas, de tamaño considerable, de contornos inciertos y de contenido homogéneo, macizo, transparente, incolorable por el carmín, tingible por el ácido pícrico, ósmico, etc., y constituido en gran parte por la queratina.

La porción más honda del epidermis córneo, fronteriza del *stratum granulosum*, presenta una homogeneidad y una diafanidad especial, por lo que se ha designado *stratum lucidum*.

El estudio de las mucosas, tales como la lingual, esofágica, vaginal, etc., nos revela substancialmente los mismos caracteres. Hagamos constar, sin embargo, que la formación córnea o superficial de las mucosas conserva los núcleos, aunque alterados, y que el contorno de los elementos queratinizados, lejos de desaparecer como en la piel, resalta más que en los corpúsculos del cuerpo de Malpigio. A menudo falta también la capa granulosa. En ciertas mucosas (cardias del conejo) el aparato de Golgi preséntase notablemente desarrollado, según mostramos en la figura 143. Adviértase la disposición difusa del mencionado aparato.

Epitelio alargado o de células prismáticas. — Constituye este epitelio revestimientos de una sola capa en casi todas las cavidades de origen entodérmico, como son: el estómago e intestino, los conductos excretores de las glándulas, la tráquea y bronquios, las fosas nasales, órganos genitales internos, conductos semicirculares, etc.

Consta de células prismáticas de cuatro o más facetas planas, unidas entre sí por un cemento resistente. Cuando se examinan estos epitelios por su superficie libre, previo tratamiento por el nitrato de plata, se advierte que dichas células forman un mosaico poligonal bastante regular (fig. 145). Además del cuerpo, hay que considerar en estos elementos: un extremo superficial o secretor (Hatschec), guarnecido de una cutícula provista o no de pestañas, y un cabo profundo o nutritivo, generalmente puntiagudo o menos espeso que el superficial, fronterizo del tejido conjuntivo, del cual extrae, como las raíces de un árbol, los jugos nutritivos. Cerca de la superficie libre, el cemento aparece reforzado por una banda de cierre.

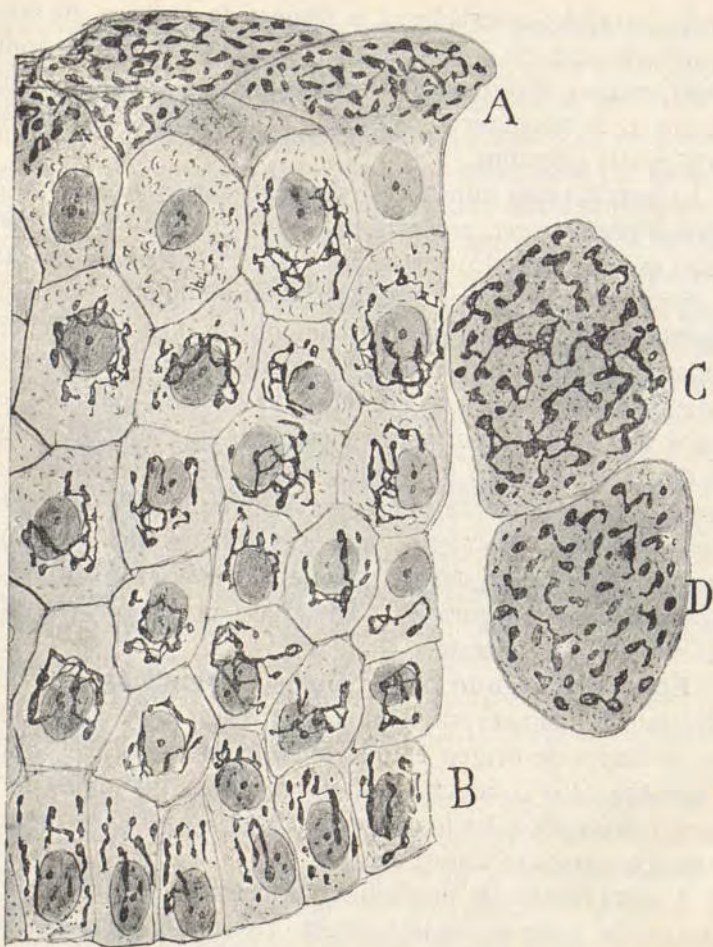


Fig. 143. — Células epiteliales del cardias (unión con el esófago) del conejo de pocos días. A, corpúsculos superficiales; B, hilera germinal; C, D, dos células superficiales vistas de cara. Nótese la falta de polarización bien definida del aparato de Golgi y su hipertrofia en las células superficiales.

Las variedades principales del epitelio alargado son, atendiendo a los caracteres de estructura: las *células con chapa*, las *caliciformes*, las *ciliadas*, las *pigmentarias* y las *neuroepitéticas*.

Célula con chapa (fig. 144, a). — La superficie de las vello-

sidades intestinales de los vertebrados, los tubos flexuosos del riñón de los mismos, la piel y el intestino de muchos invertebrados, singularmente de los anélidos (*hirudo*, *lumbricus*, etc), aparecen revestidos por unos corpúsculos prismáticos, monoestratificados, cuya característica consiste en exhibir, al nivel de la superficie libre, una gruesa orla o placa, de consistencia varia, de aspecto estriado, y que ha recibido el nombre de *chapa epitelial*. En el intestino se adhiere íntimamente a los bordes de las vecinas, constituyéndose un forro continuo, a manera de barniz, que separa el epitelio del líquido intestinal. Se ha dis-

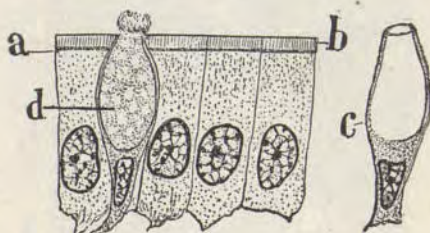


Fig. 144. — Células del intestino del conejo de Indias. a, capa granulosa; b, chapa estriada; d, interior de una célula caliciforme; c, célula caliciforme suelta.

cutido mucho la composición de la chapa epitelial. Algunos autores han tomado las estriaciones que en ella se advierten como conductitos preestablecidos; pero nosotros, coincidiendo con el dictamen de varios autores (Heidenhain, Schiefferdecker, etcétera), nos inclinamos a considerar dicha cutícula como un pincel de bastoncitos rígidos, paralelos y estrechamente unidos, a beneficio de un cemento homogéneo y fácilmente alterable (figura 144, b). Por debajo de la chapa se percibe una fina capa, de aspecto granuloso, continuada lateralmente con la membrana celular (fig. 144, a). En sentir de Heidenhain y Schiefferdecker, cada bastoncito de la placa se continuaría con un hilo del retículo protoplásmico y ofrecería, a su paso por dicha membrana granulosa, un minúsculo engrosamiento (*grano basal*).

El extremo inferior de las células de chapa descansa en el

tejido conectivo, siendo plano o dentellado. En ocasiones da origen a expansiones ramificadas, que se pierden entre los filamentos de la capa basal. Las *caras laterales* son planas, y el cemento intercelular es alguna vez recorrido por leucocitos emigrantes (1).

Recuérdese, según indicamos ya al tratar de los cementos intercelulares, que entre los corpúsculos intestinales, por debajo de la chapa, habita una robusta *banda de cierre*.

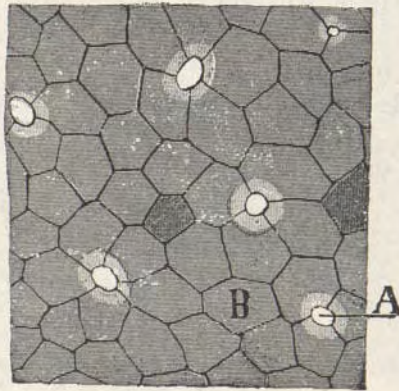


Fig. 145. — Células del intestino de la rana, vistas por sus cabos superficiales. Coloración por el nitrato de plata. A, cabo de una célula caliciforme.

El protoplasma de las células epitelicas del intestino contiene, conforme resulta de las observaciones de Holmgren y nuestras, una red o aparato de Golgi, bien acusado, emplazado entre el núcleo y el polo superficial del corpúsculo (figura 87).

Células caliciformes (fig. 142 D, c, y 87 b). — Así llamadas porque su cuerpo, en vez de ser sólido, posee una cavidad en forma de copa o cáliz, comunicante con la superficie libre de la mucosa. Estas células se hallan salteadas con las de chapa en

(1) Heidenhain y Nicolas han descrito recientemente entre las células con chapa del intestino puentes comunicantes como los que existen en el epidermis. Por nuestra parte, no hemos podido persuadirnos de la realidad de esta disposición.

las vellosidades intestinales, y constituyen la mayor parte del revestimiento de los conductos excretores de las glándulas del estómago e intestino, así como el del conducto colédoco, vejiga de la hiel, glándulas mucosas, tráquea y bronquios, etc.

Las células caliciformes poseen un cuerpo abultado y relleno de una materia transparente, de aspecto reticulado, colorable en violado rojizo por la hematoxilina, y en la cual existe cierta cantidad de mucina. El extremo profundo, a menudo

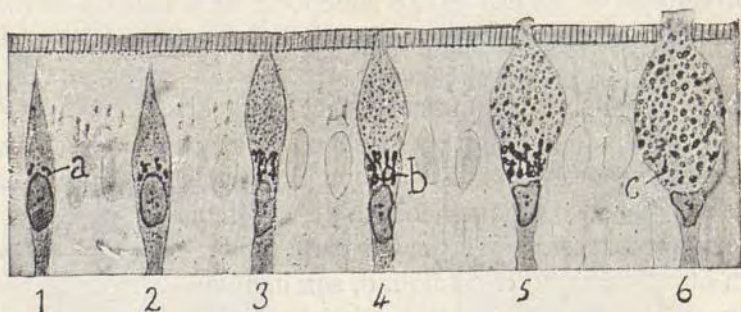


Fig. 146. — Diversas fases funcionales de las células caliciformes del intestino. Gato joven. Proceder del urano-formol. 1, fase de descanso; 2 y 3, fase de regeneración incipiente; 4 y 5, fases de secreción; 6, fase terminal o de excreción; a, aparato de Golgi atrófico; b, aparato de Golgi hipertrófico. Nótese cómo las finas granulaciones glandulares originan los globos de mucina.

adelgazado, alberga el núcleo y cierta cantidad de protoplasma que sirve de fondo a la capa celular; el extremo superficial carece de chapa y presenta un agujero redondeado, por el cual se ve salir a veces el producto segregado (figuras 144, d, y 145, A). El protoplasma de estas células exhibe un aparato de Golgi (fig. 146, a) a veces rudimentario.

Relativamente a la significación de las células caliciformes, no existe acuerdo entre los sabios. Hoy, después de los trabajos de Majewsky y Oppel, de Heidenhain, Mollendorf (1913) y nuestros (1915), hay tendencia a considerarlos como elementos glandulares estables que pasan por dos fases: la de *reposo*, o de corpúsculo delgado y sin cáliz (fig. 146, I, II), y la de *secreción*, durante la cual el protoplasma se ahueca y rellena de globos de mucina (b, c). Las citadas fases con las variaciones

concomitantes del aparato de Golgi, que se hipertrofia conforme avanza el estado secretorio, aparecen en la figura 146. En ningún caso se produce la destrucción completa del elemento. Expulsado el producto elaborado, regenerase el protoplasma (cabo superficial), así como el aparato de Golgi y las granuleciones glandulares primitivas (fig. 146, I, II, III).

Epitelio ciliado (fig. 147 y siguientes). — Reside en la porción respiratoria de las fosas nasales, en la laringe, tráquea y bronquios, en los dos tercios superiores de la mucosa uterina, en las trompas de Falopio, conductos deferentes, epidídimo, etc.

Este epitelio adopta siempre la disposición monoestratificada, y sus elementos, prismáticos y alargados, tocan por su cabo profundo el dermis, y exhiben por su cabo superficial un penacho de pestañas finísimas, completamente libres y dotadas de movimientos espontáneos, ya de vaivén, ya de látigo, ya de flexión y extensión en la mayor parte de los casos (*kinocilios*); en otros, como en el epidídimo, son inmóviles al parecer (*estereocilios*). Por debajo de las pestañas yace una cutícula granulosa (como la mencionada del epitelio con chapa), a cuyo través pasan las pestañas, pareciendo continuarse con los filamentos verticales del retículo protoplasmático (fig. 148). Esta continuación no siempre es fácil de discernir y ha sido descrita por varios autores: Klein, Cajal, Engelmann, Nussbaum, Schiefferdecker, etc. (1).

En las células ciliadas de los invertebrados, la continuación de las pestañas con los hilos del protoplasma es más fácil de establecer, según mostramos en la figura 148, *a*, tomada de M. Heidenhain. Repárese que los filamentos protoplásmicos conexionados con las *cilias* se disponen en haz, que va inferiormente convergiendo hacia un lado del núcleo, desvaneciéndose en las regiones inferiores del cuerpo celular. En la zona cortical del protoplasma, es decir, en el plano de implantación de las pestañas, las granuleciones antes referidas preséntanse con gran claridad, teñidas de negro por la hematoxilina ferruginosa (*a*).

El espesor del epitelio vibrátil varía algo con los distintos

(1) La ausencia de mitosis en las vellosidades intestinales la explica Bizzozero admitiendo que la regeneración tiene lugar al nivel de las glándulas de Lieberkühn, corriéndose las nuevas células de éstas hacia la superficie intestinal.

órganos. Por ejemplo, en los bronquios pequeños, en las fosas nasales, la matriz, etc., las células son relativamente cortas y los núcleos constituyen una línea algo regular. Pero en la laringe y tráquea los elementos son mucho más largos, y los núcleos, en vez de formar una hilera, yacen en planos diversos, simulando una multiestratificación celular que ha sido tomada como realidad por muchos autores (fig. 149). Los cortes finos de la tráquea, así como la disociación, permiten ver que mu-

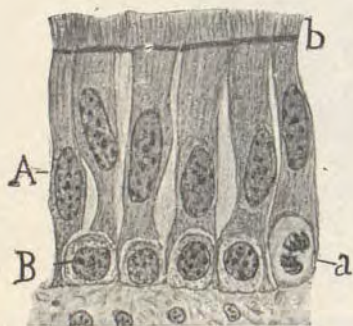


Fig. 147. — Epitelio de la tráquea del gato. A, corpúsculo epitelial con pestañas; B, células germinales o basales; a, mitosis en una célula basal.

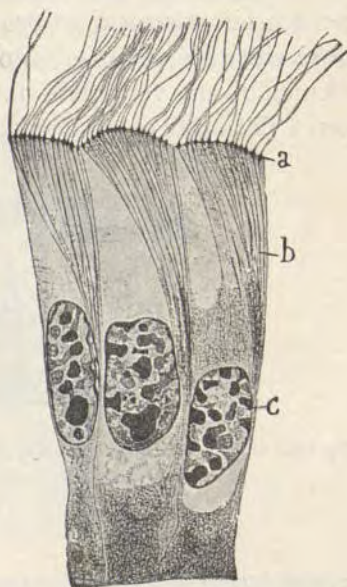


Fig. 148. — Células ciliadas de los conductos hepáticos del *Helix hortensis*. a, granos basales situados en el pie de las pestañas; b, haz de fibras protoplásmicas continuadas con las pestañas; c, núcleo (según M. Heidenhain).

chas células son tan altas como el espesor total del epitelio; si algunas parecen constituir un estrato profundo, es porque la expansión superficial guarnecida de pestañas es tan delgada, que suele pasar inadvertida. Entre el epitelio y el tejido conectivo reside una hilera discontinua de corpúsculos basales, en cuyos intersticios penetran expansiones de los elementos ciliados. Estos corpúsculos basales muestran a veces mitosis, comportándose como las células germinales del epitelio cutáneo (fig. 147, a).

Células pigmentarias. — Por fuera de los conos y bastoncitos de la retina reside una hilera de elementos alargados, prismáticos, cuyo protoplasma alberga cristales de melanina. Examinado este epitelio por su cara posterior o periférica, exhibe un mosaico regular exagonal; mirado por su lado profundo o anterior, se advierte que cada célula acaba mediante un penacho de expansiones protoplasmáticas, las cuales, insinuándose entre los conos y bastones, constituyen en torno de estos elementos un verdadero forro de melanina. El núcleo yace cerca del cabo externo de las células, en un paraje donde el

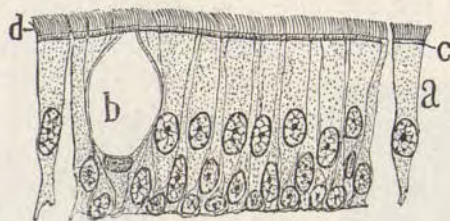


Fig. 149. — Epitelio vibrátil de la tráquea del gato. *a*, célula vibrátil; *c*, banda granulosa situada bajo las pestañas; *d*, pestañas; *b*, célula caliciforme.

protoplasma es macizo y poco rico en pigmento. Cuando tratemos de la retina insistiremos sobre estos corpúsculos, cuyo papel en el fenómeno de la visión debe ser muy importante.

Células neuroepitéllicas. — Los órganos de los sentidos contienen ciertas células epiteliales alargadas, prismáticas o fusiformes que, por relacionarse íntimamente, y a favor de contactos múltiples con fibrillas nerviosas sensoriales, deben estimarse como los primeros anillos de la cadena de conducción, establecida entre el cerebro y el mundo exterior. Citemos, por vía de ejemplo, las *células ciliadas* del caracol y de las crestas acústicas, en contacto con su cabo profundo, más o menos redondeado con filamentos terminales del nervio activo (Retzius, van Gehuchten), y las células fusiformes y prismáticas irregulares de los botones gustativos y de la mucosa lingual (Retzius, Lenhossék). Las pestañas que guarnecen la superficie periféri-

ca de estos elementos neuroepitéllicos no son vibrátiles, como no lo son tampoco los apéndices exteriores de los corpúsculos olfativos.

Epitelio de células cortas. — Reside de preferencia esta variedad epitelial en la porción secretora de las glándulas.

Sus células son cuboideas, granulosas, y se disponen, por lo común, en una sola capa. Por sus caras laterales se adhieren, a favor de un cemento blando, desprovisto de hilos comu-

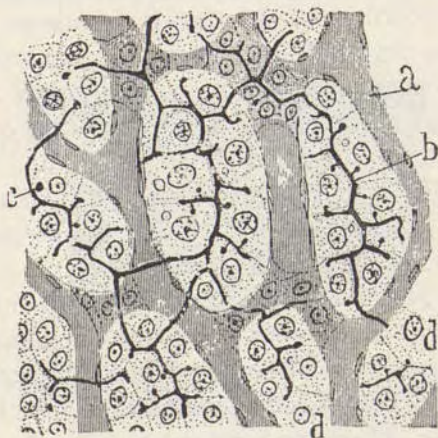


Fig. 150. — Corte de un trozo de lobulillo hepático. Nótese la forma poliédrica de las células y la delgadez de los conductos secretores.

nicantes, a los corpúsculos vecinos; su cara libre limita el contenido glandular y está desprovista de cutícula (hay excepciones, por ejemplo: las células de las glándulas de Lieberkühn, las de los tubos contorneados del riñón, etc., que están provistas de un cepillo de bastoncitos rígidos, que se desprenden durante el reposo de la glándula); su extremo profundo se apoya en una membrana basal, especie de condensación del tejido conectivo limitrofe, y en su interior se albergan, además del núcleo, gotas de materia segregada y granulaciones de fermentos.

En la figura 150 mostramos este tipo de epitelio, tomado de lobulillo hepático del conejo. Adviértase cómo la porción

periférica de las células está casi en contacto con los vasos capilares. En el espesor del protoplasma obsérvanse pequeños divertículos (c).

Caracteres fisiológicos. — Los epitelios carecen de vasos, nutriéndose por inhibición de los jugos circulantes por el tejido conjuntivo limítrofe. La renovación de las células destruidas, por consecuencia de colisiones mecánicas o de la actividad secretoria, se verifica mediante mitosis de los elementos inmediatos o, como ocurre en la piel, por proliferación de la hilera epitelial más profunda. La abundancia de mitosis en un determinado epitelio revela el tanto de destrucción celular que éste debe sufrir en el cumplimiento de sus funciones. Así se ha podido determinar por Bizzozero y sus discípulos que hay epitelios fijos, como son los del riñón, hígado, glándulas salivares, sudoríparas, etc., mientras que existen otros, como los de las glándulas pépsicas, las de Lieberkühn, sebáceas, etc., cuyos elementos están sujetos a rápida renovación.

De la *zona germinal* de los epitelios tegumentarios hemos hablado ya; ahora añadiremos solamente que también el epitelio de las mucosas suele ofrecer una hilera profunda, continua o discontinua, de *corpúsculos germinales* (células basales).

En la figura 147, a, mostramos un corte del epitelio traqueal, cuyos elementos basales o germinales muestran fases mitóticas.

Desde el punto de vista de su actividad funcional dominante se han clasificado los epitelios en *epitelios de protección* (piel y mucosas), *epitelios de secreción* (glándulas), *epitelios de absorción* (el de las vellosidades intestinales), *epitelios de diálisis* o de filtración (el de los vasos y serosas), *epitelios sensoriales* o neuroepitelios (los yacentes en los órganos sensoriales, en donde sirven de colectores de las excitaciones acústica, luminosa, gustativa, etc.).

Entre los epitelios de secreción procede contar el calciforme, siquiera se halle entremezclado con epitelios de protección o de absorción. Como mostramos en la figura 151, las células en cáliz afectan dos estados: fase de producción de granos glandulares o esferas de *mucinógeno* (*células delgadas*), los cuales rellenan todo el hueco del cáliz, y se colorean por la

hematoxilina ferruginosa (*b*), y fase de transformación de estos granos en mucina, pronta a derramarse por el orificio superficial de la célula (*c*)

Histogenesis. — Dimanan los epitelios de las tres hojas blastodérmicas: del *ectodermo* nacen el epidermis cutáneo, el de la cavidad bucal, órganos genitales externos, conjuntiva, conducto auditivo externo, etc.; del *entodermo* deriva el epitelio intestinal y el de todas sus glándulas anejas, inclusive el pulmón y el hígado; del *mesodermo* provienen los endotelios, así como el epitelio de las glándulas sexuales y el riñón.

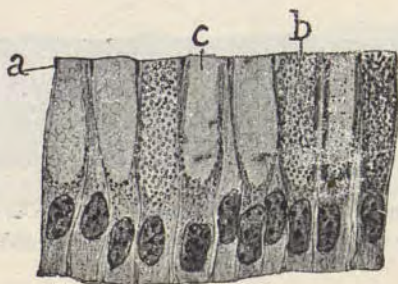


Fig. 151. — Epitelio caliciforme de la entrada de las glándulas pépsicas del perro. *a*, banda de cierre; *b*, célula con granulaciones de mucígeno; *c*, célula en que el mucígeno se ha convertido en mucina (hematoxilina ferruginosa).

Los epitelios experimentan pocas transformaciones en el curso de su evolución, conservando en gran parte su disposición embrionaria y el atributo privativo de los corpúsculos blastodérmicos; a saber: la aptitud de proliferar incesantemente. Esto último sólo es valetero para ciertos epitelios, como ya más atrás dejamos expuesto.

No obstante, el epitelio pavimentoso estratificado pasa por varias fases evolutivas, que pueden estudiarse bien en los embriones de ave o de mamífero. Al principio, la piel está representada por una sola capa de epitelio cuboideo, en curso de multiplicación. Mas desde las treinta a las cuarenta horas de la incubación en el pollo, la hilera epitelial se duplica a causa de que, en las nuevas mitosis ocurridas, el plano de partición celular se torna paralelo a la piel. Fórmanse así: una fila superficial de corpúsculos áplastados, más o menos lenticulares, que conservan el núcleo aunque no su capacidad de segmentación (fig. 152, *a*), y una hilera de células profun-

das (*los corpúsculos germinales*), cuboideas, capaces de división, y entre las cuales aparecen espacios irregulares llenos de plasma. Ulteriormente, se mostrarán entre ambas hileras celulares corpúsculos intermediarios, rudimento del futuro cuerpo de Malpigio. En fin, los elementos aplanados superficiales dispónense en varias líneas apretadas, al paso que pierden su núcleo y keratinizan su protoplasma. Como aparece en la figura 152 *b*, desde muy temprano los contornos de los corpúsculos profundos se irregularizan, erizándose de apéndices que se ponen en contacto con los elementos vecinos. Verosímilmente, estos apéndices, multiplicados y regularizados en estados ulteriores de la evolución, representan el rudimento de los filamentos comunicantes.



Fig. 152. — Trozo de un corte de piel de un embrión de pollo a las cuarenta horas de la incubación. *a*, capa superficial de células aplanadas; *b*, capa germinal.

El aparato de Golgi aparece claramente en los embriones muy tempranos (fig. 153). Repárese en que las primeras trabéculas se orientan hacia afuera (*a*), es decir, en dirección de la superficie del embrión. En los corpúsculos aplanados (*b*) el aparato reticular reside en un lado.

Preparación de los epitelios. — Tres procedimientos técnicos pueden utilizarse con tal objeto: la disociación, los cortes seguidos de coloración y la impregnación argéntica.

A) Disociación. — Difícil de aplicar en los epitelios pavimentosos estratificados, proporciona excelentes resultados en los alargados, como el prismático del intestino, el vibrátil de los bronquios, etc.

El medio aislador preferente es el alcohol al tercio. En este líquido se abandonarán a la maceración, por veinticuatro o cuarenta y ocho horas, trozos de mucosa fresca provistos de su revestimiento epitelial. Al cabo de este tiempo, la capa epitelial aparecerá hinchada y de un aspecto gelatinoso transparente. De esta masa blanda y viscosa, que contiene células disociadas separadas por un líquido como mucoso, se tomará una pequeña parte y se agitará en el centro de un portaobjetos con una gota de hematoxilina o de picrocarminato.

La hematoxilina será filtrada antes de ser usada, y se tendrá cuidado de no colorar con ella sino breves minutos. El picrocarminato podrá actuar mucho más tiempo. En todo caso, se cubrirá la preparación con una lamina y después se depositará en el borde del cubreobjetos una gota de

glicerina. Por el lado opuesto a la glicerina, y en contacto con la materia colorante, es conveniente poner un poco de papel secante; de esta suerte, a medida que la materia tintórea desaparece, penetra el líquido. Para evitar que, a consecuencia de esta maniobra, sean arrastradas casi todas las células aisladas del preparado, se tendrá la precaución de no depositar en el borde del cubreobjetos más que la cantidad de vehículo conservador estrictamente precisa. Resta no más, para terminar la preparación, limpiar el exceso de glicerina que rezuma en torno del cubreobjetos y ejecutar la cementación definitiva.

En vez del alcohol al tercio, podrá usarse también como aislador el bicromato de potasa diluído (al 1 por 300). En este líquido se abandona-



Fig. 153. — Epitelio cutáneo de la piel del embrión de pollo de cuatro días. *a*, células profundas; *b*, células superficiales.

rán los objetos por dos o tres días, al cabo de los cuales será fácil, raspando con un escalpelo la superficie epitelial, arrancar algunas células perfectamente aisladas para su estudio.

B) Método de los cortes. — Se aplica especialmente al análisis de los epitelios pavimentosos estratificados, siendo igualmente provechosos para los alargados.

Después de fijados los epitelios en alcohol, formol o sublimado (véase *Técnica general*), se incluirán en celoidina, y los cortes finos se teñirán por cualquiera de los métodos generales ya descritos. Son recomendables el método de Gieson, el procedimiento de Heidenhain con hematoxilina y hierro, las fórmulas de las anilinas básicas, etc.

C) Impregnación argéntica. — Es el medio casi exclusivamente usado para la preparación de los endotelios y de los epitelios delgados de muchas capas. El *modus operandi* se reduce a lo siguiente: Comiénzase por poner al descubierto la membrana que se desea impregnar, y, a ser posible, se traslada íntegra al portaobjetos; en seguida se irriga durante algunos segundos con la solución argéntica; lávase rápidamente para eliminar los precipitados irregulares y el exceso de reactivo, y, bajo una gota de glicerina, se expone al sol, hasta que los tejidos adquieran color amarillopardo. La conservación se verificará en bálsamo o glicerina. Deberá tener-

se en cuenta: 1.º Que las piezas destinadas a impregnarse deben ser transparentes, por ejemplo: la córnea de la rana o del conejo, el mesenterio, el epiplón mayor, el centro frénico, las aurículas, las delgadas venas, la vejiga, etc., de los pequeños mamíferos. 2.º Que no deben usarse soluciones más fuertes que al 1 por 500, so pena de ver con el tiempo emnegrecerse casi totalmente la pieza. 3.º Que no hay que abusar del lavado preliminar (antes de la impregnación) con agua destilada, pues las células se desprenden y los cementos pierden sus cloruros, por lo cual será conveniente, cuando la superficie epitelial no se ha manchado de sangre, prescindir de todo lavado previo. 4.º Que, finalmente, la plata no debe obrar sino breves instantes.

Existen epitelios susceptibles de examinarse en fresco, en plena vitalidad. Tales son: las células epiteliales de la boca y de las fosas nasales del hombre, y los epitelios de la córnea, de la lengua, esófago, vejiga urinaria, etc., de la rana y pequeños mamíferos. Para estudiar el epitelio bucal del hombre basta raspar la superficie de la lengua con un escalpelo; en la saliva espesa de esta suerte recogida hállanse multitud de células pavimentosas, cuyo núcleo es visible sin ayuda de reactivo alguno. En el moco procedente de la faringe se encuentran células todavía mejores en cuanto a sus caracteres típicos. En ellas aparece fácilmente con los reactivos del núcleo la red cromática y cubierta acromática.

La preparación de las células del esófago y lengua de la rana se efectúa del propio modo. Únicamente cuando se deseen sorprender los movimientos vibrátiles convendrá cortar un pellizco de la mucosa lingual y observarlo doblado entre dos laminillas. En el borde doblado se advertirá un movimiento rápido de oscilación, revelable especialmente por las corrientes del líquido y la agitación de los hematíes y células desprendidas de las inmediaciones del epitelio.

La preparación de las bandas de cierre, así como de los centrosomas y mitocondrias, exigirá la coloración de los cortes por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain. Como fijador se usará el sublimado asociado al ácido ósmico. También el método de Achúcarro y la *variante primera* de Río-Hortega dan buenos resultados.

Las *epiteliofibrillas* se colorean por el método de Heidenhain, el de Unna, etc. Pero el proceder predilecto es el de Achúcarro, según demostraron Tello y Río-Hortega. Recientemente Tello ha conseguido preparaciones todavía más bellas y constantes con la hematoxilina al ácido fosfotúngstico de Mallory (véase pág. 122). Excusado es advertir que las *epiteliofibrillas* se buscarán de preferencia en el epitelio tegumentario (los *epitelios* se muestran particularmente propios a causa de la hipertrofia de dichos filamentos). Para los hilos interiores de las células ciliadas se elegirán, sobre todo, los invertebrados.

Para preparar el aparato de Golgi se escogerán animales recién nacidos (conejo de Indias, perro, etc.). Trozos de mucosa se sumergirán por

cuatro o cinco días en solución de nitrato de plata al 3 por 100 (estufa a 30°) y se operará la reducción, previo lavado de las piezas (por algunos segundos) en la solución de ácido pirogálico (ácido pirogálico, 1; formol, 5; agua, 100). Un día de acción de este líquido es bastante. Después: alcohol, celoidina, etc. Este método es particularmente aplicable a las células de chapa del intestino. Para todos los demás epitelios se preferirá siempre el *proceder del formol urano*, descrito en la técnica de la célula en este libro. Sobre el precedente posee la ventaja de ser mucho más constante. En fin: citemos como métodos eventualmente utilizables el del *ácido arsenioso* de Golgi y el de Kopsch al *ácido ósmico*. (Véase la Técnica de la célula.)

CAPÍTULO II

TEJIDO DEL CRISTALINO

Definición. — Representa el tejido del cristalino una modalidad epitelial ectodérmica fuertemente transformada, cuyas células se han convertido en larguísimos prismas exagonales, transparentes, formados en gran parte de globulina y exentos de núcleo y protoplasma.

Distribución y caracteres físicos. — Este tejido reside exclusivamente en la lente cristalina de los vertebrados y de algunos pocos invertebrados; goza de perfecta transparencia, debida tanto al exacto ajuste de sus elementos constitutivos como a la casi identidad de los índices de refracción del cemento y de los prismas; después de la muerte, y también bajo la acción de los reactivos coagulantes, la cocción, etc., su diaphanidad desaparece, aumentando la consistencia.

No todo el cristalino ofrece la misma dureza; las zonas periféricas son blandas, particularmente después de la muerte, desagregándose y constituyendo lo que se llama *humor de Morgagni*; en tanto que la porción central es dura resiste a la disociación en fresco y ha tomado el nombre de *núcleo del cristalino*.

Caracteres micrográficos. — Tres factores entran en la composición del cristalino: la membrana o cápsula, los prismas y la capa epitelial.

Cápsula (fig. 154, A). — Así se llama la membrana hialina, espesa y resistente, que rodea y protege el cristalino, adhiriéndose íntimamente a sus células. El espesor de la cápsula es mayor por delante que por detrás (sin duda porque la lente exige mayor protección por delante, ordinario camino de los

agentes traumáticos); así, en el hombre, la pared anterior de aquélla (llamada también *crystaloides anterior*) tiene un espesor de 21 a 27 μ , mientras que la pared posterior no suele pasar de 8 a 10 μ . Carece la cápsula de estructura y permanece incolora en presencia de casi todos los reactivos tintóreos; su contorno es limpio y sus fracturas acusan cierta estriación que recuerda la de las membranas basales y chapas epitélicas.

La pared anterior de la cápsula se continúa por su cara profunda con la superficie de las células epiteliales, mientras que la pared posterior parece dependencia del cabo posterior de los prismas cristalinos, puesto que se adhiere íntimamente al contenido de éstos.

En suma, la cápsula cristalina parece representar el producto de secreción del epitelio y de los prismas, y puede identificarse con la membrana basal estriada yacente por debajo de la epidermis de la piel.

Prismas o células del cristalino (fig. 154, D). — Cuando se disocia el cristalino, ya en estado fresco, ya previa acción del ácido sulfúrico diluído, quedan en libertad unas fibras larguísimas, acintadas, exagonales, perfectamente diáfanas y unidas entre sí mediante un cemento transparente y poco resistente ante la tracción de las agujas. Están dirigidas de delante a atrás, acomodándose a las curvas del cristalino y alcanzando casi tanta longitud como un meridiano de éste. Su figura, de prismas exagonales, aparece muy claramente, examinando cortes transversales o ecuatoriales de la lente; y se nota en éstos que cada prisma posee dos caras planas y anchas, paralelas entre sí y con la superficie general del órgano, y cuatro facetas estrechas, dos

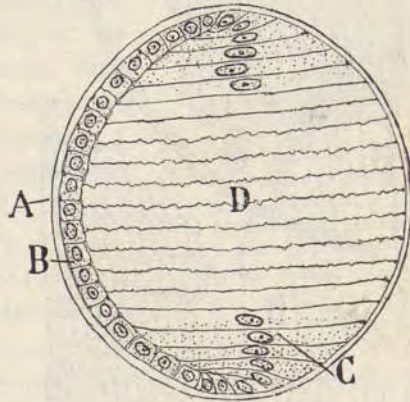


Fig. 154. — Esquema del cristalino de rana. A, cápsula; B, capa epitelial; C, prismas cristalinos periféricos; D, prismas centrales.

en cada borde de los prismas, destinadas a unir a éstos en el sentido de la circunferencia. El espesor de los prismas, algo menor en los profundos que en los superficiales, llega en el hombre a 5 μ ; su anchura pasa de 10 μ .

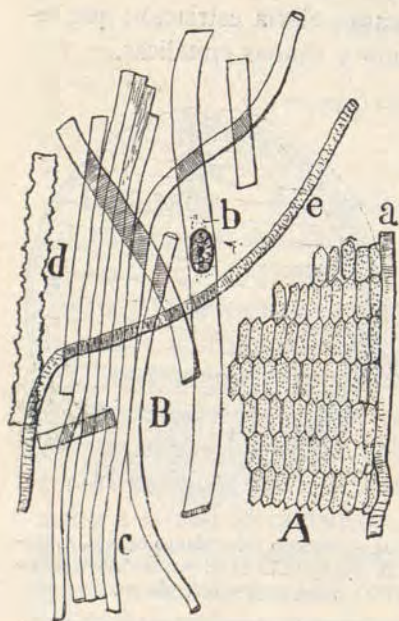


Fig. 155. — Prismas cristalinos del buco. A, prismas cortados de través; B, prismas rotos y disociados; a, cápsula del cristalino; c, manojo de prismas vistos de canto; b, prisma superficial visto de frente; d, fibra cristalina central; e, una de éstas examinada de canto.

La región del cristalino acomodada para la función de lente es la central, cuyas células han sufrido grandes transformaciones; la región periférica permanece en un estado menos alejado de la fase embrionaria.

Los prismas *cristalinos superficiales* son los más largos, y marchan curvilíneos desde la cara posterior del epitelio hasta la cristaloides posterior en donde se fijan; constan de membrana, aunque poco aparente, de un resto de protoplasma todavía granuloso y como reticulado, y de un núcleo alargado, a cuyo nivel la célula se halla algo ensanchada.

Los prismas *cristalinos centrales* son algo más cortos; no llegan, por lo menos

en su mayor parte, a la superficie cristalina, sino que rematan en ciertos septos o radios de cemento que cruzan el espesor del órgano; su estructura es más simple, pues carecen de núcleo, de membrana y protoplasma, quedando reducidos a una materia dura (globulina), diáfana, unida estrechamente a la de los elementos vecinos a beneficio de un cemento semisólido.

Otro carácter distintivo entre los prismas superficiales y profundos atañe a la disposición de los bordes: en los superficiales el contorno es liso, pero en los profundos la arista lateral

o el ángulo agudo aparece dentellado, y sus apéndices se insinúan en huecos o escotaduras de los prismas inmediatos. Seemjantes dentellones se muestran extraordinariamente desenvueltos en los peces, y los engranajes resultantes recuerdan completamente las suturas craneales (fig. 157).

Capa epitelial. — Detrás de la pared anterior de la cápsula y delante de los extremos frontales de los prismas, yace un plano de corpúsculos epiteliales cuboides, algo aplanados de delante a atrás, perfectamente transparentes y de contorno poligonal (fig. 154, B). El cuerpo de estas células varía algo en dimensión, y exhibe un núcleo elipsoide, a menudo excéntrico, rodeado de

protoplasma finamente granuloso. Adhiérense estas células por delante a la cápsula o cristaloides anterior, que representa, como ya dijimos, un producto de secreción de las mismas, y están flojamente unidas posteriormente a los cabos anteriores de las prismas superficiales. En el ecuador del cristalino, las células epiteliales más periféricas se alargan sucesivamente, cambian de dirección y se continúan por suaves transiciones con los prismas cristalinos (figura 154, C). Semejante disposición se advierte muy claramente en el embrión y mamíferos recién nacidos.

Histogenesis. — El cristalino representa una producción secundaria del epidermis cutáneo. Hacia la época en que aparecen las vesículas oculares (expansiones del cerebro anterior destinadas a engendrar la retina), el epidermis facial contiguo se espesa, y hundiéndose ulteriormente, engendra una bolsita epitelial a manera de rudimento de glándula, la cual, después de deprimir la vesícula ocular, rom-

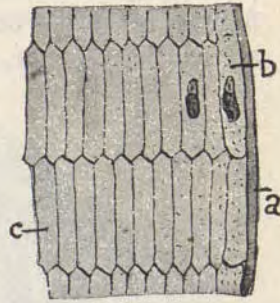


Fig. 156. — Fragmento de un corte ecuatorial de cristalino de conejo. a, cápsula; b, prismas superficiales con núcleo; c, corte transversal de prismas más profundos.



Fig. 157. — Trozo de un prisma cristalino central de un pez.

te, engendra una bolsita epitelial a manera de rudimento de glándula, la cual, después de deprimir la vesícula ocular, rom-

pe el pedículo que la retenía a la piel (figuras 158 y 159, A).

La bolsa epidérmica así engendradora consta de una hilera celular, cuyas metamorfosis ulteriores varían en cada polo del órgano: las células de la pared o polo anterior del cristalino se aplanan ligeramente, segregan la cristaloides anterior y con-

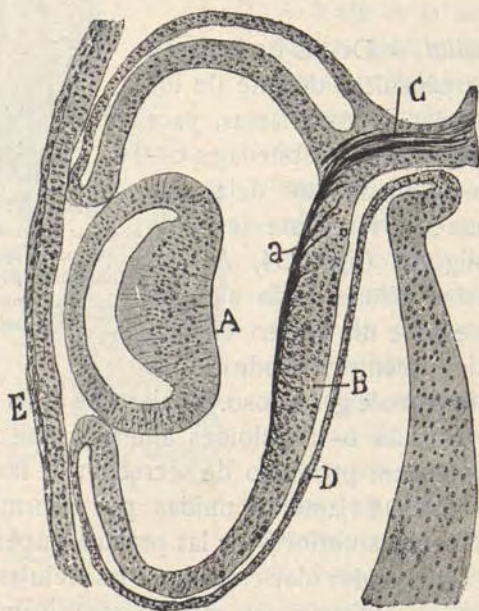


Fig. 158. — Corte de la vesícula ocular y del cristalino de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. A, cristalino; B, retina; D, capa pigmentaria de ésta; E, epidermis del cual ha desaparecido el pedículo que le juntaba al cristalino.

servarán indefinidamente su vitalidad; las células de la pared posterior se alargan de delante atrás, engendrando los prismas cristalinos y constituyendo casi toda la masa de la lente (figura 158, A). Al principio, todos los prismas poseen núcleo situado, poco más o menos, en su región central; pero más adelante, y en una época muy anterior al nacimiento, las células centrales se hialinizan, pierden sus núcleos, transformándose en meras fibras desprovistas de vitalidad, y comparables, por muchos aspectos, a los hematies adultos.

En la figura 159 reproducimos el corte del espesamiento ectodérmico (A) que dará lugar a la bolsa cristalina. Nótese que el aparato de Golgi mira hacia afuera, manteniéndose esta orientación hasta el cierre de la vesícula cristalina.

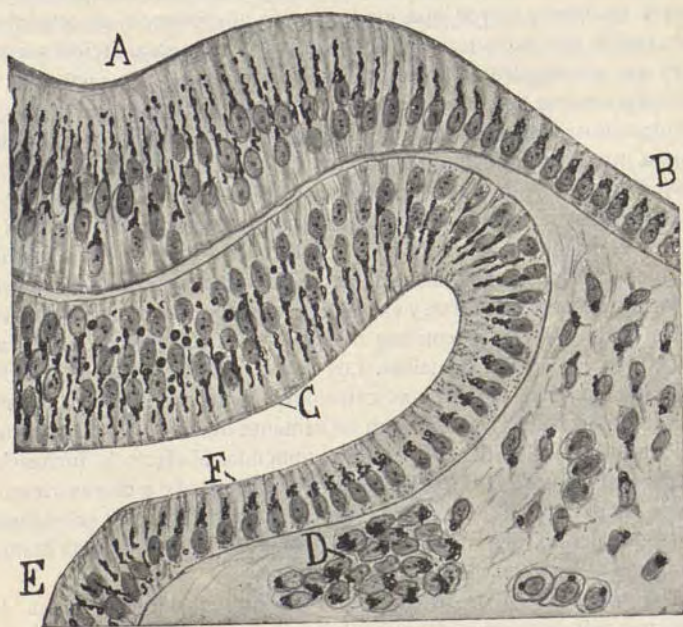


Fig. 159. — Corte sagital del espesamiento inicial del ectodermo para constituir el cristalino. Embrión de pollo de dos días. Método del urano-formol. A, espesamiento cutáneo que generará el cristalino; C, pared anterior de la vesícula ocular (germen de la retina), F, pared posterior. Nótese que el aparato de Golgi mira siempre hacia el cabo orientado al mundo exterior.

Preparación del cristalino. — 1.º *Fibras cristalinas.* — a) *Disociación.* — El mejor procedimiento de estudio de las fibras cristalinas es la disociación mecánica, que podrá efectuarse en cristalinos frescos, desgarrando sus capas superficiales con las agujas en una gota de verde metileno o de picrocarminato. Aplicando el verde metileno, los núcleos y nucleolos de las fibras aparecerán correctamente teñidos y revelarán una textura fibrilar. Pero estos preparados, excelentes para el estudio, no pueden conservarse bien; así que en la mayor parte de los casos deberemos elegir otros métodos. Uno de los mejores consiste en someter el cristalino a la

acción de agentes que obran, a la vez que fijando, facilitando la disociación; por ejemplo: el ácido sulfúrico, el crómico, el líquido de Müller, etc. Nosotros preferimos el ácido sulfúrico diluido, ya aconsejado por Becker. La cantidad de ácido no debe pasar de 4 ó 5 gotas, por 4 ó 6 g. de agua destilada. Trozos frescos de cristalino se abandonarán en este licor por espacio de doce a cuarenta y ocho horas. La maceración en el ácido sulfúrico presta a las fibras mayor opacidad, y actúa disolviendo el cemento de unión, con lo que la disociación de los prismas se verifica facilísimamente, a poco que nos ayudemos de las agujas. Terminada la disociación, se lava la preparación con agua destilada, para arrastrar el exceso de ácido, se tiñe por la hematoxilina o el carmín y se monta en glicerina. Este procedimiento conserva muy bien la forma y estructura de las fibras superficiales.

b) *Cortes*. — A fin de completar el estudio de los prismas, es muy útil la práctica de secciones de la lente en dos sentidos perpendiculares: el meridiano y el ecuatorial. En los cortes ecuatoriales se percibirán claramente los exágonos o secciones transversales de las fibras, apreciándose la verdadera forma y espesor de éstas, y en los anteroposteriores o meridianos veremos las fibras a lo largo con sus núcleos, y las relaciones de los cabos de éstas con la cápsula cristalina. Los cortes deben hacerse lo más finos posible (de 6 a 10 μ), para lo cual convendrá dar al cristalino, ya indurado en el líquido de Müller o alcohol, un suplemento de consistencia por medio del alcohol y la celodina. No es de recomendar al efecto la inclusión en parafina; casi siempre la dureza obtenida es demasiada y corren riesgo de mellarse las navajas. El endurecimiento en el ácido ósmico y subsiguientemente en el alcohol, fija muy bien las fibras, pero les presta tanta homogeneidad, que apenas son visibles sus contornos.

2.º *Epitelio*. — Puede revelarse por la impregnación argéntica. Para ello no hay más que sumergir un cristalino pequeño (de rana o ratón) por pocos minutos en una solución de nitrato de plata al 1 por 300. Lavado y expuesto a la luz en una gota de glicerina, mostrará en su cara anterior tres cosas: 1.ª, unas líneas negras que limitan espacios poligonales bastante extensos, correspondientes al cemento interepitelial; 2.ª, líneas morenas granulosas, paralelas y convergentes a las estrellas de cemento, correspondientes al punto de unión entre los prismas cristalinos superficiales (esta impregnación se ve mejor en la cara posterior del cristalino); 3.ª, ciertas estrellas de cemento representadas por *tractus* gruesos, morenos y granulosos, y cuyo foco reside en el centro de las caras del cristalino. En la rana esta radiación queda reducida a una línea; pero en los mamíferos, y sobre todo en el hombre, nótanse numerosos radios de cemento divididos y subdivididos hacia el ecuador de la lente.

Un estudio más completo del epitelio anterior exige preparaciones de la cápsula, en que las células, convenientemente teñidas, sean vistas de frente. Con este fin comenzaremos por indurar un cristalino humano en bicromato de potasa o ácido crómico. A los pocos días de maceración, la

crystaloides anterior se despegará fácilmente del tejido cristalino, arrastrando consigo el epitelio. Un pedazo de la cápsula extendido en portaobjetos, teñido con hematoxilina, aclarado con el ácido acético diluido y conservado en glicerina, mostrará suficientemente claras las células con sus núcleos, así como las relaciones de éstos con la cápsula. Sin embargo, este último punto, así como las conexiones del epitelio con los prismas, podrán estudiarse mucho mejor en delgados cortes meridianos de la lente. Un análisis bastante detallado de estas células y núcleos, puede practicarse también en fresco, tratando por el verde de metileno ácido un cristalino entero de rana. A través de la cápsula, y a medianos aumentos, se diseñarán admirablemente las células y los núcleos, coloreados de verde claro; se advertirá que son excéntricos en posición y que las células son polígonos irregulares.



CAPÍTULO III

SANGRE Y LINFA

Definición. — La sangre es un tejido caracterizado por su fluidez, color rojo intenso y, sobre todo, por constar de numerosos corpúsculos discoides amarillentos, flotantes en una materia intercelular transparente y espontáneamente coagulable.

Caracteres físicos y distribución. — El tejido sanguíneo yace encerrado en el sistema vascular, y es un líquido espeso, de color rojo claro en las arterias, de color rojo oscuro en las venas, opaco por el gran número de corpúsculos que tienen en suspensión, de un olor *sui generis* y de una densidad de 1,055; su temperatura alcanza unos 38° C y su reacción es alcalina. La cantidad total de sangre es algo variable, pero puede fijarse para el hombre adulto en unos cinco o seis litros. Varía poco la composición anatómica de este líquido en los diversos órganos; en cambio, su composición química experimenta modificaciones cualitativas y cuantitativas, según las localidades orgánicas que recorre.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio una gota de sangre, aparecen a nuestra vista tres clases de corpúsculos: los *hematíes* o glóbulos rojos, los *leucocitos* o glóbulos blancos, y las *plaquetas* (hematoblastos de Hayem).

La cantidad de hematíes es la mayor en la linfa.

Hematíes (fig. 160, A). — Son éstos los elementos más abundantes y a los que la sangre debe su color y muchas de sus propiedades. Poseen pequeña talla, pues que miden en el hombre 7 a 8 μ de diámetro por 2,5 de grueso, y afectan forma de lente bicóncava de contorno circular, lo que se aprecia bien examinando los hematíes de canto; vistos de frente, aparecen

circulares y más claros (efecto de la mayor delgadez) en el centro que en su periferia; su color es amarillo-verdoso claro en los hematíes aislados, rosáceo anaranjado cuando se superponen varios de ellos y rojo intenso en los fuertes acúmulos globulares. Carecen de núcleo y de todo rastro de estructura, exhibiendo un contorno correcto y un contenido absolutamente homogéneo. El número de hematíes es enorme; en un milímetro cúbico se cuentan de cuatro y medio a cinco millones.

Son los hematíes formas sumamente alterables, que sólo se conservan incólumes a condición de que el plasma no experimente variación en sus proporciones de agua, sales y albuminoides. Una ligera evaporación, como la que ocurre en una gota de sangre puesta en portaobjetos y cubierta por una laminita, suscita en los hematíes las siguientes transformaciones: desde luego los discos se achican y su contorno se eriza de dentellones cónicos; ulteriormente, el hematíe adquiere forma esférica y aparece por todas partes cubierto de expansiones cortas, que le dan parecido con la llamada rosa de los vientos (fig. 160, *d*).

El agua los palidece notablemente, robándoles la hemoglo-

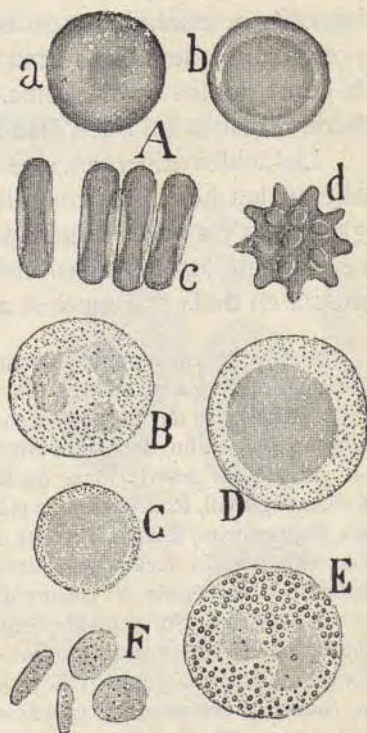


Fig. 160. — Sangre humana examinada en fresco a grandes aumentos. *A*, hematíes; *B*, leucocito grande con granos neutrófilos, *C*, linfocito o leucocito pequeño y de núcleo esférico; *D*, leucocito grande de núcleo esférico y mucho protoplasma (mielocitos de ciertos autores); *E*, leucocito con granos eosinófilos; *F*, plaquetas; *a* hematíe visto de frente y enfocado en su plano superior; *b*, el mismo, enfocado algo más abajo; *c*, hematíes vistos de perfil; *d*, hematíe alterado.

bina y reduciéndolos a esferas blancas casi invisibles (estroma).

Las soluciones salinas de proporción inferior a la concentración salina del plasma, obran como el agua; pero si su densidad es superior, actúan como la evaporación, retrayendo los hematíes y erizándolos de espigas. El éter y el cloroformo prestan a los hematíes forma esférica y provocan la solución de la hemoglobina en el plasma. En cambio, una mezcla de éter y alcohol resulta un buen fijador del hematíe.

Los ácidos minerales, el alcohol, el bicromato de potasa, etc., alteran los hematíes, coagulando su contenido y tornándolo granuloso y a veces reticulado. Por último, los ácidos diluidos revelan en los hematíes una finísima cubierta, que ha sido puesta en duda por muchos autores (1).

Aunque tenemos por absolutamente demostrada la falta de núcleo en la hematíes de los mamíferos, no han faltado autores que han supuesto la existencia, ya de un verdadero núcleo, ya de órganos de apariencia nuclear, ora, en fin, de residuos del antiguo núcleo desaparecido. Véanse las ya antiguas descripciones de Brucke (1849), Jones, Bottcher, Rollett, Kollmann, Wedl, Rinfleisch y las más modernas de Grosso, Capparelli, Negri, Pappenheim, Pichini, Petrone, Maestre (entre nosotros) y Golgi (1920). Este último sabio declara resueltamente que el órgano central del hematíe teñido por su método del cloruro de oro nada tiene que ver con el núcleo.

A nuestro juicio, se olvida demasiado que para que un cuerpo intracelular pueda ser considerado como legítimo núcleo, no basta la coincidencia morfológica y topográfica, sino que es preciso, además, que ofrezca un contenido cromático de caracteres químicos idénticos a los observados en los núcleos indiscutibles, una membrana y, sobre todo, la textura específica de dicho órgano celular.

En los hematíes nucleados de los vertebrados inferiores, diversos sabios han hallado un *centrosoma*. Golgi pretende, apoyándose en un método especial a base de cloruro de oro (1920), haberlos sorprendido también en los hematíes de los mamíferos. Mas la posición algo insólita de estos pretendidos *diplosomas* y otras razones, hacen dudosa su identidad. Por lo demás, apariencias diplosomáticas fueron señaladas hace tiempo por nosotros (1910) en los hematíes del gato impregnados por el nitrato de plata reducido. En cuanto al *aparato de Golgi*, parece faltar por completo. Como veremos más adelante, Fañanás lo ha demostrado, pero sólo durante las fases embrionarias del glóbulo rojo (fase de eritroblasto y sucesivas).

(1) Cajal: «Las plaquetas de la sangre». *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, 1910.

En suma: los glóbulos rojos de los mamíferos representan células muertas que, merced a una diferenciación química, perdieron núcleo y protoplasma, adquiriendo en su lugar un principio inmediato esencial, la hemoglobina, al que deben su particular actividad funcional y el importantísimo papel que desempeña en la economía viviente.

Hematíes en los vertebrados inferiores (fig. 161, a). — Los glóbulos rojos de las aves, reptiles, batracios y peces, discrepan de los de los mamíferos por los siguientes caracteres:

1.º, afectan una forma de disco elíptico u oval (exceptúanse los ciclostomos, cuyos hematíes son circulares); 2.º, albergan un núcleo elíptico central algo aplanado y rico en cromatina; 3.º, ofrecen una talla considerable; 4.º, vistos de perfil, no aparecen bicóncavos, sino biconvexos, a consecuencia del abultamiento central producido por el núcleo (fig. 161, b). Desde el punto de vista de las dimensiones, son notables los hematíes de los batracios, y singularmente los de los urodelos. Por ejemplo: en la rana, el diámetro mayor de los hematíes es de unas 22 μ ; en la salamandra maculosa, de 40 μ ; en el gallipato, de 35 μ , y en el proteo, de 56 a 60 μ .

Se sigue de lo expuesto, que los hematíes de los vertebrados inferiores conservan el tipo embrionario, reproduciendo la forma primitiva de los hematíes de los mamíferos. Parecidos ejemplos nos ofrecen también otros tejidos, como tendremos ocasión de observar más adelante.

Leucocitos (fig. 160, B, C, D). — Estos glóbulos llamados leucocitos (de *λευκός*, blanco) por carecer de color, son células perfectas, de forma esférica y de un diámetro oscilante entre 9 y 12 μ . Su número en el milímetro cúbico es de 5.000 a 10.000, guardando con los hematíes la proporción de 1 por 250 ó por 300.

Un buen objetivo denuncia en los leucocitos frescos, pero mucho mejor en los tratados por el agua acetificada o por un

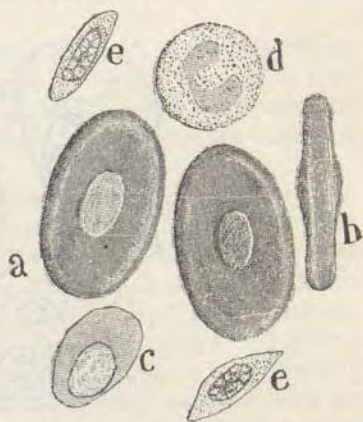


Fig. 161. — Glóbulos de la sangre de rana. Examen en fresco. a, hematíes vistos de frente; b, hematíes de perfil; d, leucocito; c, hematíe joven; e, plaquetas.

color básico de anilina, tres partes bien diferentes: el protoplasma, el núcleo y la membrana.

El *protoplasma* es de aspecto granuloso y ofrece señales de reticulación. En los leucocitos vivos y en plena contracción amiboide, apréciase una o más vacuolas circulares. El *núcleo* se distingue por su forma frecuentemente irregularizada por gibas y expansiones lobuladas y por la circunstancia de que la cromatina, escasa en el retículo central, se condensa en espesa

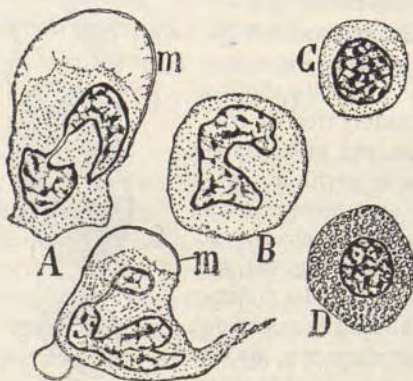


Fig. 162. — Leucocitos de la sangre de rana, tratados por la solución acetificada de verde de metileno. *m*, membrana; *A* y *B*, leucocitos grandes; *C*, leucocito pequeño o linfocito.

membrana nuclear (*cubierta cromática*). Por último, en torno del protoplasma el agua y el ácido acético diluido revelan una fina *membrana* que tiende a levantarse en gibas o vacuolas periféricas (fig. 162, *m*). Añadamos aún que Flemming primero y después otros autores, entre los cuales citaremos a Pittaluga y Golgi (1920), han sorprendido un *centrosoma*. Estos dos últimos sabios lo han encontrado en los leucocitos de los mamíferos.

En sus fases embrionarias poseen, según hemos demostrado, Fañanás (1912) y nosotros (1915), un *aparato de Golgi* rudimentario. En el leucocito adulto no hemos podido sorprenderlo. Acaso esté fraccionado en cordones a gránulos sueltos,

según se advierte en muchas células dotadas de movimientos amiboides.

Relativamente a su tamaño y estructura, pueden distinguirse varias especies de leucocitos, sobre todo: una variedad de gran talla y de núcleo lobulado (fig. 163, C, D), y otra de pequeño volumen, escaso protoplasma y núcleo esférico (figuras 160, C, y 163, A).

Los trabajos de Ehrlich y de sus discípulos han permitido individualizar las siguientes clases de leucocitos, cuyo origen y actividad fisiológica acaso sean muy diversos:

1.º *Linfocitos*, o sean pequeñas células (de 8 a 9 μ) provistas de un núcleo esférico, rico en cromatina y rodeado por escasa cantidad de protoplasma (fig. 163, A). Según Ehrlich, engéndranse estos corpúsculos en los ganglios linfáticos; forman escasamente el 25 por 100 de los leucocitos sanguíneos (Weichselbaum).

2.º *Leucocitos* grandes de protoplasma abundante, que alberga un núcleo grueso, esférico u oval, pero de red cromática floja. Son también poco numerosos (figuras 160, D, y 163, B). Algunos autores designan estas células *leucocitos mononucleados*, para distinguirlos de los de núcleo lobulado, de apariencia plurinucleada. Representan, según Courmont, el 11 por 100 de todos los leucocitos. Los tipos leucocíticos 1 y 2 ofrecen la particularidad de carecer de granulaciones, razón por la cual Dœnys y otros autores los designan con el nombre de *hialinos*, oponiéndolos a los tipos siguientes, calificados de *granulosos*. Algunos autores (Ferrata, etc.) designan con el nombre de *monocitos* a los mononucleados más grandes y sus formas de transición con los leucocitos de núcleo lobulado.

3.º *Leucocitos* algo menores que estos últimos y provistos, ya de un núcleo alargado en forma de riñón, ya de un núcleo cuyo contorno está irregularizado por lobulillos más o menos numerosos, unidos de ordinario por estrechos istmos (figuras 163, C y D, y 162, B). Algunos de estos leucocitos pueden alojar dos o más núcleos (1). Esta clase de leucocitos ofrece comúnmente finísimas granulaciones neutrófilas, y es el grupo más numeroso de todos los glóbulos blancos (el 60 ó 70 por 100 de la totalidad); goza también más que ninguno de la capacidad amiboide o emigratoria, así como de virtudes fagocíticas (fig. 163, D). A esta variedad de fagocitos incumbe principalmente el importante oficio de limpiar la sangre e intersticios orgánicos de toda partícula extraña, bien provenga del exterior, bien

(1) Ehrlich distingue en esta variedad dos especies (con núcleo único, pero giboso, y con núcleo múltiple); mas como en realidad estas dos especies (3 y 4 de Ehrlich) no representan otra cosa que fase de transformación nuclear de un mismo tipo celular, nosotros hacemos una de ambas.

se origine de la desagregación de células de tejido. Según Metchnikoff, la forma arrosariada y como lobulada del núcleo respondería al propósito de facilitar el paso de éste, durante el proceso de la extravasación, a través de los angostos resquicios inter-endoteliales. La cuna de estas células estaría en la médula ósea (Ehrlich).

4.º *Leucocitos de transición o intermediarios*. — Así califican algunos histólogos ciertas células blancas semejantes a la especie precedente, pero cuyo núcleo presenta transiciones de forma con el de la variedad mononucleada que acabamos de exponer. Su número, según Courmont, sería de 0,5 a 2 por 100 (fig. 163, C).

5.º *Leucocitos con granulaciones gruesas*. *Granulocitos* de Pappenheim y otros autores. El protoplasma de algunos leucocitos del tipo tercero encierra verdaderos productos de secreción. Fundándose en las especiales

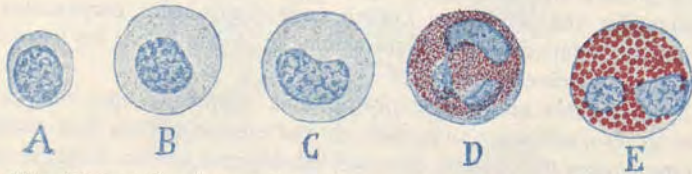


Fig. 163. — Diversos tipos de leucocitos de la sangre humana. A, linfocito; B, leucocito mononucleado; C, leucocito intermediario; D, leucocito neutrófilo; E, leucocito eosinófilo.

apetencias colorantes de estos gránulos, Ehrlich ha llegado a distinguir hasta siete variedades de leucocitos. Nosotros indicaremos aquí solamente las dos especies granuladas más comunes; a saber: a) *eosinófilos* (fig. 163, E), de núcleo con gibosidades, cuyo protoplasma alberga granos gruesos, esféricos, parecidos a micrococos, y colorables por la eosina y anilinas ácidas (granulaciones acidófilas): su número no llega al 1 ó 3 por 100; b) *leucocitos basiófilos* polinucleares o con núcleo abollado, cuyo protoplasma aloja granos finos colorables por las anilinas básicas (granitos basiófilos). Esta especie de leucocitos es más frecuente en otros vertebrados que en el hombre, en el cual no llegan al 0,5 por 100. Aseméjense mucho a las células cebadas del tejido conjuntivo, con quienes comparten la propiedad metamórfica de los gránulos basiófilos. En fin, algunos autores admiten una variedad de leucocitos de protoplasma basiófilo que identifican con las *Plasmazellen* (nuestras *células cianófilas*). Estos corpúsculos serían sumamente raros.

Con pequeñas diferencias, las precedentes especies de leucocitos hállanse en todos los vertebrados superiores. Algunas de dichas variedades encuéntnanse hasta en los invertebrados. Así, en el cangrejo muéstranse dos especies leucocíticas: 1.ª, *glóbulos blancos, ásperamente granujientos*, con gruesas esferas eosinófilas; y 2.ª, *leucocitos de protoplasma finamente*

granulado y granitos neutrófilos. Ambos tipos corresponden a las especies 3.^a y 5.^a de los leucocitos del hombre.

Las dos citadas categorías de leucocitos, que deben considerarse como las formas primordiales de fagocitos errantes del líquido nutritivo, aparecen también en el plasma intersticial del *lumbricus* y otros invertebrados.

Plaquetas (fig. 160, F). — En la sangre viva pululan también unos diminutos corpúsculos, señalados hace tiempo por Zimmerman, mejor descritos por Hayem, quien reconoció su existencia en casi todos los vertebrados, y cuya historia ha sido completada modernamente por Bizzozero, Eberth y otros. Por alusión a su propiedad de formar trombos o tapones vasculares, Dekhuyzen y Gigliotto les conocen con el nombre de *trombocitos*.

Las *plaquetas* (designación que les ha sido dada por Bizzozero) son más numerosas que los leucocitos; su relación con los hematíes es de 1 a 20, y en un milímetro cúbico de sangre se encuentran unas 245.000. El diámetro de estos glóbulos oscila entre 3 y 5 μ ; su forma es

la de un disco circular u oval, ya plano, ya biconvexo; carecen de núcleo y de hemoglobina, pareciendo formados de una masa transparente, blanda y finamente granulosa. Los ácidos diluidos revelan en torno de esta masa una sutilísima cubierta (fig. 164, D).

Gozan estas plaquetas de la curiosa propiedad de deformarse rápidamente en cuanto salen de los vasos, atrayéndose unas a otras y construyendo unos acúmulos irregulares de dimensión variable, que se han llamado *zoogreas de plaquetas* (fig. 164, C). Tan súbita es esta transformación, que algunos

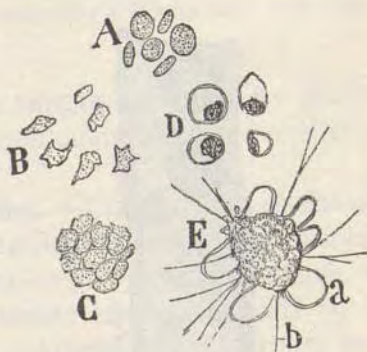


Fig. 164. — Plaquetas de la sangre humana. A, plaquetas normales; B, alteradas y tales como se ven en una gota de sangre recién extraída; C, reunidas en montón; D, mostrando una membrana tras la acción del ácido acético diluido; E, plaquetas de la sangre coagulada, en torno de las cuales se separan, bajo la acción del agua acetificada, finas membranas (a); b, hilo fibrinoso.

segundos después de extraída una gota de sangre, ya no se descubre ninguna plaqueta íntegra, sino granulaciones irregulares o acúmulos informes; no obstante, se logra impedir, durante algunas horas, la coagulación de estos corpúsculos, mezclando la sangre viva con cierta cantidad de líquido sódico-metílico de Bizzozero (agua, 100; sal, 0,75; violeta de metilo a saturación). Esta rápida transformación explica que algunos au-

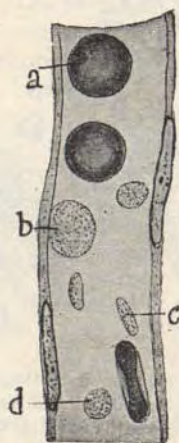


Fig. 165. — Elementos de la sangre viva circulante en un capilar del mesenterio del conejo de Indias narcotizado. *a*, hematie; *b*, leucocitos; *c*, plaqueta de canto; *d*, plaqueta de frente.

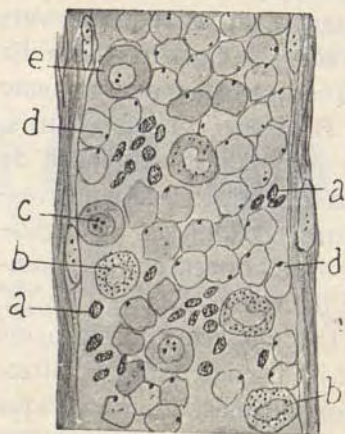


Fig. 166. — Vaso sanguíneo de gato. *a*, plácula coloreada en oscuro por el nitrato de plata reducido; *b*, *c*, leucocitos; *d*, hematies con un gránulo que semeja una esfera atractiva atrofiada.

tores como Pianese, Marino, etc., hayan dudado de su existencia en la sangre normal. Las plaquetas se coloran por diversos métodos: en negro, con el proceder del nitrato de plata reducido; en azul, más o menos morado, con el método de Giemsa y sus variantes (May-Grünwald-Giemsa, etc.).

Plaquetas de los vertebrados inferiores. — A la manera de lo que acontece con los hematies, las plaquetas de las aves, reptiles, batracios y peces, son de talla considerable, afectan figura de discos elípticos, generalmente biconvexos, y están provistos de un núcleo alargado rodeado de escasa cantidad de plotoplasma granuloso (fig. 161, *e*). En la rana y los uro-

delos, este protoplasma, como ya hemos demostrado hace años, es capaz de movimientos amiboides y de englobar cuerpos extraños. En la figura 104 mostramos varias plaquetas de la sangre de rana, que habían engullido un microbio (*el staphiloccus pyogenes aureus*) previamente inyectado en el saco linfático dorsal. Por lo demás, también en los batracios gozan las plaquetas de la propiedad de transformarse y conglutinarse, sirviendo sus zoogleas, en la sangre extravasada, de focos de la red de fibrina coagulada.

En los vermes, moluscos, equinodermos y crustáceos, se han encontrado en el plasma nutritivo células amiboides semejantes a plaquetas, ya que son capaces de conglutinarse en plasmodias y de engendrar masas granulosas que recuerdan el trombus.

Caracteres químicos de la sangre. — Es preciso distinguir en este líquido la composición química de los hematíes y la del plasma.

Composición de los hematíes. — Constan estas células de dos sustancias íntimamente mezcladas: una incolora e insoluble, llamada *estroma* o *globulina*; otra coloreada y soluble, la *hemoglobina* (oxigenada en la sangre arterial, reducida en la venosa). La cantidad de materia colorante de los hematíes humanos alcanza, según Hoppe-Seyler, al 40,4 por 100 de peso de los mismos. El *agua* es relativamente escasa; pues, según dicho autor, sólo llega en el hombre al 57,7 por 100. El *estroma* o globulina engloba, además, cierta cantidad de *colesterina*, *lecitina* y *sales* (fosfatos y cloruros a base de potasa, etc.), y una *nucleoalbúmina* (Arthus).

La importancia fisiológica de la materia colorante de la sangre exige que le consagremos algunos párrafos.

Hemoglobina y sus derivados. — La hemoglobina es un albuminoide cristalizable, de composición compleja, puesto que entran en su molécula el carbono, el hidrógeno, el oxígeno, el nitrógeno y el hierro. Según modernas investigaciones, la hemoglobina representa una *proteína* complicada, resultante de la combinación de un principio albuminoide, la *globina*, con el *hemocromógeno*, cuerpo ferruginoso, cuya fórmula es: $C^{32}H^{32}FeO^2Az^4$. En presencia del aire, la molécula de hemoglobina fija otra molécula de oxígeno. Llegados los hematíes a los tejidos, las oxidasas de éstos privanles de dicho gas; en su lugar, la hemoglobina fija CO^2 en tan floja combi-

nación, que se desprende en cuanto los hematíes arriban al pulmón.

No cristaliza la hemoglobina con igual facilidad ni en igual forma geométrica en todos los vertebrados (fig. 167). Así, en el

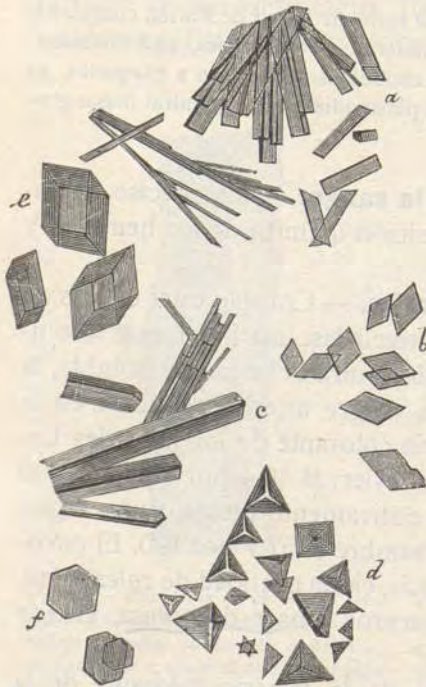


Fig. 167. — Cristales de hemoglobina. *a* y *b*, cristales de la sangre venenosa del hombre; *c*, cristales de la sangre del gato; *d*, del conejillo de Indias; *e*, del castor; *f*, de la ardilla (según Frey).

hombre cristaliza en láminas y prismas romboidales; en el conejo de Indias, en tetraedros, y en la ardilla, en láminas exagonales. La hemoglobina es soluble en agua, insoluble en el cloroformo, éter y alcohol. Vista al espectroscopio exhibe dos bandas de absorción entre la raya *D* y *E* (oxihemoglobina); cuando esta substancia pierde el oxígeno (*hemoglobina reducida*), muestra con dicho instrumento una sola banda oscura, situada entre las rayas *D* y *E* (*banda de reducción de Stockes*).

Derivados de la hemoglobina. — *a*) Hematina ($C^{23}H^{32}N^4FeO^4$).

— Es una materia morena, incristalizable, que se considera como resultado del desdoblamiento de la oxihemoglobina. Insoluble en agua, alcohol y éter, goza de solubilidad en los álcalis y en el alcohol mezclado con ácido sulfúrico. Hay varias especies de hematina: la *hematina ácida*, la *alcalina*, la *reducida*, etc.

b) Hemina o clorhidrato de hematina ($C^{32}H^{31}ClN^4F^3$). — Es otro derivado de la hemoglobina, que se presenta al microscopio bajo la forma de cristales finos color café oscuro, insolu-

bles en agua y alcohol, solubles en los álcalis y en ácido nítrico y sulfúrico hirviendo. Dichos cristales, que son dicroicos y birrefringentes, afectan la figura de romboédricas alargadas, a menudo dispuestas en estrellas. Se obtiene la hemina diluyendo una gota de sangre o una costra sanguínea seca, a favor del ácido acético, y en presencia de una pequeña cantidad de cloruro de sodio, una gota al 1 por 1.000 (fig. 168).



Fig. 168. — Cristales de hemina o clorhidrato de hematina. *a*, del hombre; *b*, del cordero (Landois).



Fig. 169. — Cristales de hematoidina (Frey).

c) Hematoidina ($C^{17}H^{15}N^2O^5$). — Cuando la sangre se extravasa y permanece secuestrada largo tiempo en el tejido conectivo, fórmanse, a expensas de la hemoglobina, unos cristales de color rojo naranja, de forma de tablas romboidales, solubles en cloroformo y sulfuro de carbono, pero insolubles en agua. La hematoidina carece de hierro. Muchos autores la identifican con la bilirubina (fig. 169).

Composición del plasma. — (El plasma sanguíneo corresponde a la materia intercelular de otros tejidos; es perfectamente líquido, transparente, y lleva en disolución un gran número de principios inmediatos y de sales; lo que se comprende bien recordando que el *plasma sanguinis* es el vehículo de todas las materias nutritivas y el colector de todas las sustancias desasimiladas.

Según Hammarsten, los albuminoides del plasma hállanse en las proporciones siguientes:

| | |
|---------------------------------------|-----|
| Fibrina o fibrinógena | 6 |
| Globulina o fibrinoplástica | 38 |
| Serum-albúmina | 24 |
| Agua | 917 |

Por lo demás, estas proporciones varían para cada autor. Por ejemplo, Arthus encuentra en la sangre humana: *serum-albúmina*, 34; *serumglobulina*, 30; *fibrinógena*, 4. Cita además la existencia de un *núcleoproteído*.

Las proporciones de todas las materias del plasma de la sangre humana nos las da Hoppe-Seyler en la tabla siguiente:

| | |
|-------------------------------|-------|
| Agua | 914 |
| Albuminoides | 67 |
| Lecitina | 2 |
| Colesterina | 2,654 |
| Grasa | 3 |
| Extracto alcohólico | 1 |
| » acuoso | 2 |
| Sales | 7 |

Opiniones relativas a la coagulación de la sangre. — Uno de los albuminoides más importantes, al par que más discutidos, en lo que se refiere al mecanismo de su producción, es la *fibrina*, substancia a que la sangre debe la propiedad de coagularse.

A despecho de la diversidad de opiniones que reinan sobre el mecanismo de la coagulación de la sangre, hay tres puntos en que casi todos los autores coinciden y que pueden darse como resueltos: 1.º Que la mayor parte, si no todo el coágulo fibrinoso, se engendra por la solidificación de la fibrinógena del plasma. 2.º Que el paso al estado sólido de la fibrinógena es determinado por un fermento intracelular, que se pondría en libertad tan pronto como la sangre abandona los vasos y siempre que este líquido tropieza en su curso intravascular con obstáculos que tienden a remansarlo o con asperezas de las paredes endoteliales. Este fermento, que ha tomado el nombre de *trombina*, sería precedido de otro en estado inmaturo, lla-

mado *protrombina*. La trombina sólo se produciría en el momento de la coagulación. 3.º Que las sales de cal son indispensables a la precipitación de la fibrina en virtud de un mecanismo no bien esclarecido todavía.

El problema del mecanismo de la coagulación y del papel desempeñado por los precedentes factores, es todavía muy discutido. Créese generalmente que la *protombina* reside en los leucocitos y plaquetas, y que su transformación en *trombina*, es decir, en el fermento maduro capaz de precipitar la fibrinógena, es obra de las sales de cal (Macleod y G. Pearce, 1919).

El yacimiento de éstas, así como el del protofermento, son también dudosos. Pudiera suceder que la *protombina* residiera exclusivamente en los leucocitos, donde todos los autores la señalan, y que las *sales de cal* se encerraran en las plaquetas, donde se revelan (*fosfato cálcico*, sobre todo), conforme prueban nuestras investigaciones con el método del nitrato de plata reducido, bajo la forma de granulaciones negras (*fosfato argéntico* reducido por el ácido pirogálico) (fig. 166, a).

Retardadores de la coagulación. — El fenómeno de la solidificación de la fibrinógena fuera del organismo puede retardarse y aun impedirse por diversos procedimientos: 1.º, recogiendo la sangre a temperatura próxima a la de congelación; 2.º, extrayéndola de las venas mediante jeringa parafinada y guardándola en vasijas untadas de parafina o vaselina (en estos casos se impide la conglutinación de plaquetas); 3.º, añadiendo a la sangre extravasada *hirudina*; es decir, extracto de las glándulas salivares de sanguijuela, etc.

Dentro del organismo lógrase también igual efecto mediante inyecciones intravenosas de peptona, de veneno de culebra, etc.

El porqué la sangre viva circulante no coagula a pesar de contener todos los factores determinantes del proceso, explícase admitiendo en el plasma normal cierta cantidad de *antitrombrina*, que neutralizaría los efectos de la trombina. Sólo cuando merced a la destrucción de los leucocitos y plaquetas prodúcese una cantidad de trombina muy superior a la exigua de antitrombina, acaecería la coagulación.

Fenómenos microscópicos de la coagulación. — El fenómeno de la coagulación puede observarse al microscopio con sólo colocar entre dos laminillas una gota de sangre fresca. Al principio los hematíes se adhieren por sus caras, constituyendo columnas que a su vez se reúnen con otras para engendrar vastas redes globulares.

A los pocos minutos de examen todas las plaquetas se han alterado, adhiriéndose al porta o cubreobjetos y constituyendo

acúmulos, en donde los contornos de cada elemento quedan fundidos en un magina granuloso (fig. 170, A). Más tarde, en la periferia de estos conglomerados surgen unas gotas hialinas (quizá son las portadoras de la cal) que se mezclan al plasma, y la coagulación comienza. Esta se inicia junto a las plaquetas, de cuyo contorno brotan hilos fibrinosos divergentes, que no

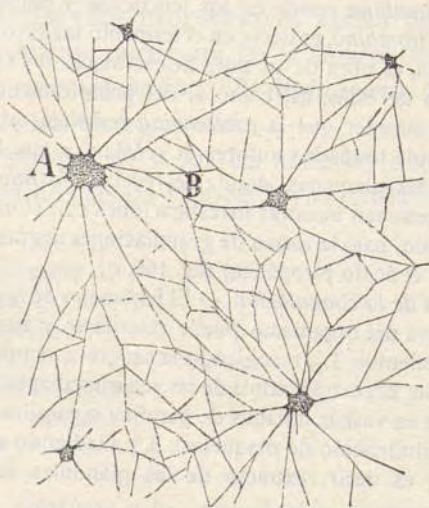


Fig. 170. — Red fibrinosa de una gota de sangre. A, zooglea de plaquetas; B, hilos de fibrina. Los hematíes han sido destruidos por el agua.

tardan en anastomosarse con los procedentes de otros acúmulos placulares, generándose una vasta red de trabéculas hialinas, brillantes, difícilmente perceptibles sin el auxilio de las materias tintóreas. En las mallas de la red quedan englobados los hematíes y leucocitos, y una parte del plasma o suero.

Los *fenómenos macroscópicos de la coagulación* son bien conocidos. La sangre, recogida en un receptáculo cualquiera, tórnase, pocos momentos después de extravasada, consistente y pastosa; a los pocos minutos todo el líquido se solidifica como una masa gelatinosa que se enfría, englobando en su seno los hematíes, por cuya circunstancia el coágulo adquiere color rojo obscuro. El coágulo comprende al principio toda la

masa sanguínea, mas al cabo de algunas horas la red fibrinosa se retrae, y expulsado el suero de sus mallas, queda en libertad una gran cantidad de líquido cetrino, en donde acaba por nadar el coágulo mismo, considerablemente empequeñecido. En la parte superior del coágulo vese una costra blanca, compuesta exclusivamente de fibrina y leucocitos, y debida a que, en el

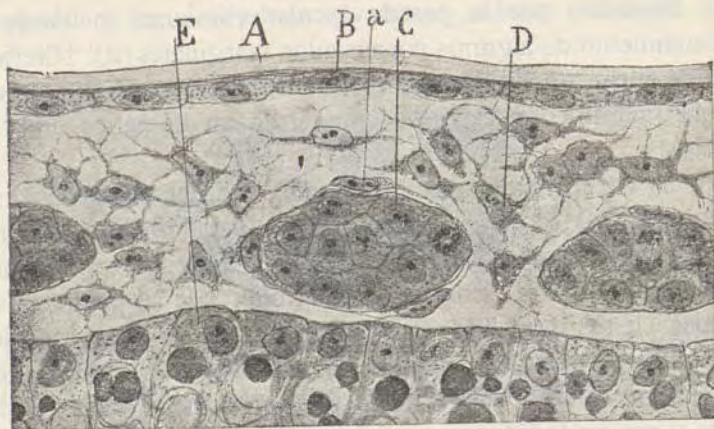


Fig. 171. — Trozo del área vascular de un embrión de pollo de veinticuatro horas. A, zona pellúcida o membrana vitelina; B, ectodermo; C, islotos vásculo-sanguíneos; D, células conectivas del mesodermo; E, entodermo *a*, pared vascular en vías de formación.

momento de ocurrir la solidificación, casi todos los hematíes, cuyo peso específico es superior al de los leucocitos, han logrado descender algunos milímetros. La citada retracción explica el desprendimiento del coágulo de las paredes de la vasija.

Histogenesis. — 1.º *Epoca embrionaria.* — La sangre es una producción mesodérmica que tiene origen fuera del embrión, en la llamada *área vascular* de la hoja media. Según las opiniones más concordantes, a un tiempo mismo nacen vasos y sangre, iniciándose el proceso para la construcción de una red de islotos macizos, irregulares, compuestos por un conglomerado de células mesodérmicas. Más adelante (de la vigésima a la trigésima hora de incubación en el embrión de pollo) ocurre una diferenciación en las células constitutivas de estos

islotes: las periféricas se aplanan y se transforman en endotelio; las centrales aparecen separadas por un líquido transparente, y se metamorfosean en hematíes nucleados o embrionarios. En la figura 171 mostramos una sección del área vascular de un embrión de pollo de veinticuatro horas. Advuértense varios islotes vásculo-sanguíneos (*islotes de Wolf*) en vías de formación (C), en algunas de cuyas células se observan fases mitóticas. Repárese que la pared vascular comienza mediante el aplanamiento de algunos corpúsculos marginales (a). Posteriormente surge un líquido entre los elementos constitutivos del islote sanguíneo y éstos se convierten en hematíes embrionarios.

Una vez formada la sangre y adelantado el desarrollo embrionario, los glóbulos se multiplican en el mismo torrente circulatorio, como puede advertirse fácilmente examinando este líquido en los embriones de mamífero de las primeras semanas. Estos hematíes embrionarios son de dos especies: 1.^a, *células semihialinas* (Cajal) o *eritroblastos* (Lœwit), corpúsculos esféricos, nucleados, hialinos y exentos de hemoglobina o apenas teñidos por esta materia; y 2.^a, *células rojas* o glóbulos rojos nucleados, cuyos caracteres son: la esfericidad, contener un núcleo ya central, ya periférico, y presentar un protoplasma hialino, fuertemente cargado de hemoglobina. Tanto las células pálidas o semihialinas como las rojas exhiben fases mitóticas. Entre estas dos especies celulares advuértense todas las transiciones. En los últimos meses de la vida embrionaria, las células rojas nucleadas, así como los eritroblastos o células semihialinas, desaparecen, siendo reemplazadas por hematíes normales, es decir, por glóbulos discoideos y desprovistos de núcleo. La desaparición de este órgano ocurre por un acto de expulsión (fig. 172, f); aunque no falten autores, como Papenheim y E. Israel, que sostengan la desaparición del núcleo por atrofia y reabsorción. Algunos hematólogos, como Weindenreich y Jolly, suponen que la expulsión, hoy generalmente admitida, se opera después de la fragmentación del núcleo.

La filiación más probable de todas estas formas parece ser

la siguiente: 1.º Las células semihialinas o *eritroblastos*, que representan los gérmenes de los hematíes, proliferan abundantemente; una parte de la progenie resultante se transforma, por secreción de hemoglobina, en hematíes nucleados; otra porción subsiste algún tiempo en estado de células-gérmenes, para dar origen a nuevas proliferaciones. 2.º Las células rojas engendradas proliferan todavía, y el ciclo termina expulsándose el núcleo y convirtiéndose el cuerpo celular esferoidal en

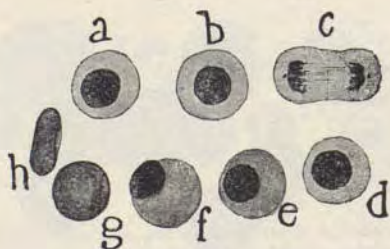


Fig. 172. — Diversas fases evolutivas de los hematíes circulantes en un embrión de ratón. *a* y *b*, células semihialinas o eritroblastos; *c*, eritroblasto en vías de mitosis; *d*, *e*, células rojas nucleadas esferoidales; *f*, hematíe cuyo núcleo está a punto de expulsión; *g*, *h*, hematíes adultos.

discoideo. Antes de su expulsión, el núcleo suele fragmentarse, tornándose homogéneo (embrión de conejo). En la actualidad los hematólogos tienden a admitir la existencia de una célula-germen o indiferente, de que provendría la estirpe de los eritrocitos y la de los glóbulos blancos.

En el embrión de pollo, según ha probado Fañanás (1), la fase primordial de los hematíes nucleados (*eritroblastos*) posee un diminuto aparato reticular de Golgi concentrado cerca del núcleo (fig. 172). Conforme la célula pasa al estado adulto, esta red se atrofia y desaparece. En la fase de multiplicación el aparato de Golgi está representado por granitos extendidos difusamente por el protoplasma (*c*). Añadamos que Heidenhain (1911) señala en los hematíes jóvenes (embrión de ave) un *diplosoma*.

En la figura 172 mostramos en serie el ciclo de la formación de los hematíes en un embrión de ratón.

(1) J. R. Fañanás: «Nota preventiva sobre el aparato de Golgi en el embrión de pollo». *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

Formación de los hematíes en el adulto. — Los trabajos de Neumann, Bizzozero, Torre, Rindfleisch, Dœnys, Jolly, etc., confirmados por nosotros (1), ponen fuera de duda que la médula del hueso y acaso el bazo son los órganos donde en la edad adulta se engendran los hematíes. En ellos se refugian los gérmenes hemáticos (células eritroblásticas y glóbulos rojos nucleados), que durante los primeros tiempos de la vida fetal circulaban libremente por todo el árbol sanguíneo.

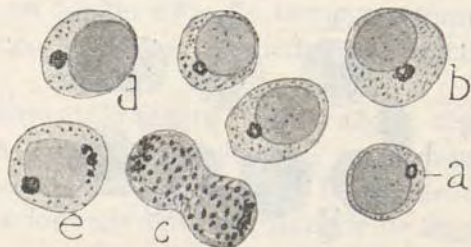


Fig. 173. — Aparato de Golgi en los hematíes nucleados del embrión de pollo de treinta y cuatro horas de la incubación. *e*, eritroblasto en vías de división.

Disociada en fresco, bajo una gota de líquido indiferente, la médula roja (médula de los huesos cortos y epífisis de los largos), nos presenta dos clases de corpúsculos emparentados con los hematíes, y que no son otros que los ofrecidos por la sangre fetal; a saber: 1.º, eritroblastos o células blancas e hialinas (fig. 174, *A, B*); 2.º, hematíes nucleados o células de Neumann (fig. 174, *J, I*). La filiación es la que dejamos reseñada más atrás; las células semihialinas o eritroblastos proliferan abundantemente y se convierten (una parte de ellas) en células rojas de Neumann; éstas se multiplican también, como ha demostrado Bizzozero, alcanzando a veces talla notable (*megaloblasto* de Maximow); continuando la división por mitosis, prodúcese un tipo más pequeño (el *normoblasto*), el cual, llegado a su madurez, pierde el núcleo por expulsión, se torna discoide y entra en el torrente circulatorio.

(1) Véase nuestro *Manual de Histología normal*, pág. 381 y siguientes, 1883. Valencia.

Este fenómeno de expulsión del núcleo, que fué primeramente observado por Rindfleisch y nosotros, según dejamos dicho, ha sido notado también por Van der Stricht, Maximov, Ferrata, etc. Para ciertos autores (Bizzozero, Neumann, Prenant, Pappenheim, etc.) el núcleo desaparecería por una suerte de disolución dentro del cuerpo del hematíe. Semejante parecer pugna contra dos hechos evidentes: la existencia constante de fases de excentricidad del núcleo hemático, que acaba por hacer hernia al exterior (fig. 174 *M, N*), y la ausencia total de esas supuestas gradaciones de disolución o fragmentación admitidas hipotéticamente.



Fig. 174. — Diversas fases presentadas por los eritroblastos de la médula ósea del conejo de Indias. Examen en fresco en un líquido indiferente. A, célula semihialina o eritroblasto voluminoso; B, eritroblasto en vías de mitosis; D, eritroblastos pequeños; F, E, J, I, células rojas de Neumann o hematíes nucleados; H, hematíes en vías de mitosis; K, L, M, N, diversas fases de expulsión del núcleo.

La localización de los eritroblastos y células rojas de Neumann en la médula roja de los mamíferos, no está suficientemente precisada. Muchos autores han supuesto que dichos elementos constituyen pléyades o acúmulos residentes fuera de los vasos, en el interior de los cuales penetrarían los glóbulos anucleados por un mecanismo todavía desconocido. Se ha imaginado, para hacer más verosímil esta penetración, que las venitas y capilares de la médula ósea de los mamíferos están contruídos de un epitelio discontinuo, es decir, salpicado de agujeros, por los cuales ocurriría la inmigración de los hematíes transformados. Mas todo quedaría llanamente explicado si, como parece probable, cupiera generalizar a los mamíferos un importante descubrimiento de Bizzozero y Dœnys, realizado en la médula ósea de las aves. En estos seres las células semihialinas y glóbulos rojos nucleados residen en el interior de capilares o venas cavernosas, constituyendo estratos concéntricos por debajo del endotelio, y en los cuales, como en el

epitelio de los tubos seminíferos, pueden seguirse todas las fases de la multiplicación y metamorfosis de dichos elementos. Las capas más periféricas del contenido sanguíneo están ocupadas por las células semihialinas, que Dœnys identifica, con razón, con los eritroblastos de Lœwit; las zonas concéntricas subsiguientes alojan los corpúsculos de Neumann; y, finalmente, el centro del vaso encierra los hematíes, que han terminado ya su evolución y pueden entrar en la corriente sanguínea. De lo que se infiere que los hematíes son engendrados, como los zoospermos y óvulos, en una glándula especial de actividad constante, merecedora, mejor que ninguna otra, del título, tan prodigado, de glándula vascular sanguínea. Esta glándula está representada por la médula roja en los vertebrados superiores, aves y batracios y por el bazo en los reptiles y peces.

Células vaso-formativas de Ranvier (fig. 175). — Ciertos autores, singularmente Schaffer y Ranvier, han sostenido la opinión de que los hematíes pueden formarse también en el interior de células conectivas gigantes por un mecanismo análogo al de la producción de las inclusiones en las células glandulares. Tales células, que Ranvier designa *células vaso-formativas*, hallaríanse en diferentes órganos embrionarios, y singularmente en el gran epiplón del conejo de pocos días. De forma variable, fusiforme, sacciiforme o estrellada, tales elementos producirían, a expensas de su protoplasma marginal y expansiones, las paredes vasculares; mientras que su materia central generaría numerosos hematíes adultos; es decir, henchidos de hemoglobina y desprovistos de núcleo (fig. 175, g).

Esta doctrina, fundada por Ranvier en 1874, fué aceptada casi sin discusión en las escuelas, y singularmente en Francia, donde solamente estos últimos decenios han comenzado a impugnarla Renaut, Prenant y Jolly. Y, sin embargo, hace ya tiempo que S. Mayer de Praga (1882), y nosotros (1883) demostramos independientemente uno de otro que las consabidas *células vaso-formativas* representan en realidad trozos de capilar en vía de atrofia y regresión, dentro de los cuales, interrumpida la circulación sanguínea, se conservan cierto tiempo los hematíes. Nuestras investigaciones aportaron un dato de interés para la discusión del problema; esto es, que las tales células encierran a menudo, no sólo glóbulos rojos inalterados y dispuestos en pila, sino leucocitos de diversos tipos y legítimas plaquetas (fig. 175 A, d, c). Estos hallazgos, si armonizan con la opinión de Mayer y nuestra de que las células vaso-formativas son capilares atróficos (al objeto de crear las tardías perforaciones del epiplón), resultan incompatibles con la paradójica concepción de Ranvier, la cual aparece en palmaria contradicción

con cuanto sabemos acerca del mecanismo célula-genético de los tejidos funcionalmente diferenciados, y con el hecho incontestable de la individualidad celular de los hematíes en las series filogénica y ontogénica. Luego veremos que este error de Ranvier ha sugerido otro no menos grave acerca del origen intracelular de las plaquetas.

Origen de los leucocitos. — Cuestión es ésta que ha sido muy controvertida, y lo es aún, sobre todo en lo referente a la

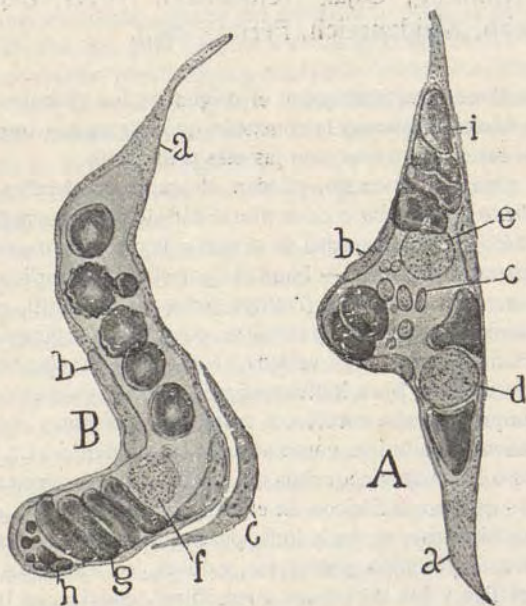


Fig. 175. — Células vaso formativas de Ranvier. A, pretendida célula que encierra en su interior hematíes, leucocitos (*d, e*) y plaquetas *c*; B, otro corpúsculo pretendido, cuyos hematíes (*g*) se disponen en columnas; *a*, expansión protoplásmica en vías de atrofia; *c*, célula conjuntiva perivascular.

cuna de ciertas variedades de leucocitos; pero del fondo de los trabajos publicados en estos últimos tiempos, arranca una convicción; a saber: que el origen de los leucocitos es doble, pudiendo ocurrir: o por proliferación intrasanguínea de leucocitos preexistentes, como ya demostraron de *visu* Stricker, Arnold y Ranvier y nosotros, y más recientemente Spronck y van der Strich, mediante el reconocimiento de fases carioquinéti-

cas, o por mitosis de ciertas células gérmenes, los verdaderos leucoblastos, residentes en los ganglios linfáticos, bazo y médula ósea. Este último origen parece con mucho el más importante, y armoniza bien con el aumento de leucocitos que la linfa presenta después de atravesar los ganglios linfáticos, así como con las numerosas y constantes mitosis que se ven en los folículos de los ganglios, médula ósea y demás tejidos linfoides (Flemming, Cajal, Heidenhain, Hoyer, Benda, Saxer, Pappenheim, Weidenreich, Ferrata, etc.).

Las opiniones emitidas sobre el origen de los glóbulos blancos son numerosas. Abandonaríamos la concisión que nos hemos impuesto si hubiésemos de reseñarlas todas, aun las más principales.

Todas ellas, sin embargo, pueden, descartando detalles, reducirse a tres: la *doctrina polifilética* o de la pluralidad de razas leucocíticas, la *doctrina monofilética* o de la unidad de origen y de raza, y la *doctrina dualista*.

a) Doctrina polifilética. — Fundada por el ilustre Ehrlich y defendida por sus numerosos discípulos (Dœnys, Schmaus, Levaditi, etc.), goza de mucha boga entre los anatomopatólogos, que aducen argumentos de valía.

Según dichos sabios, cada variedad leucocítica descende de una raza especial perfectamente fija e individualizada y con asiento en órganos especiales. Y aunque no cabe establecer tantas localizaciones como razas de glóbulos blancos, se admiten como seguras las siguientes: 1.^a, la estirpe de los *linfocitos* o leucocitos pequeños tendría sus células-gérmenes o leucoblastos en los ganglios linfáticos, en el territorio de los folículos, de donde los elementos hijos caerían en la linfa, pasando después a la sangre; 2.^a, la estirpe de los corpúsculos granulosos, esto es, los leucocitos de granulaciones neutrófilas y los de granos eosinófilos, tendrían, en totalidad, sus células-gérmenes en la médula ósea, dentro de distritos próximos a los vasos, de donde ingresarían por progresión amiboidea en el torrente sanguíneo; 3.^a, y en fin, la estirpe de las células gruesas mononucleadas (*esplenocitos* de Pappenheim y otros autores), de patria un tanto dudosa, dimanaría, según algunos autores, de los cordones citógenos y corpúsculos de Malpigio del bazo, aunque reconocen que este órgano es el menos activo de los hematopoyéticos (hay autores que ponen la cuna de los mononucleados en la médula ósea).

Indicios, ya que no pruebas decisivas de esta concepción, son las siguientes observaciones: *a*, la ausencia en los ganglios linfáticos de células eosinófilas y neutrófilas, abundando, en cambio, los linfocitos; *b*, el notable caudal de elementos eosinófilos y neutrófilos existentes en la médula ósea; *c*, y, en fin, la observación de que en las leucemias varían las proporciones de las especies leucocíticas arribadas a la sangre, según que

los órganos afectos de hiperplasia (linfomas) sean el bazo, la médula ósea o los ganglios linfáticos.

b) Doctrina monofilética. — Iniciada por Lœwit y especialmente defendida por los modernos histólogos, Guillauds, Hauthack, Grawitz, Helly, Prenant, Weidenreich, etc., esta concepción supone que todas las variedades de leucocitos derivan de un tronco común, es decir, de una sola especie de células-gérmenes o leucoblastos de Lœwit, diversificándose después, durante su circulación por la linfa y sangre, hasta constituir los diversos tipos conocidos, que no representan, en suma, otra cosa que fases más o menos duraderas de una evolución incesante.

Semejante evolución arranca del *leucoblasto* o célula germen; de éste deriva el linfocito, que pasa después a célula gruesa mononucleada, la cual a su vez se convierte, previa alguna gradación intermedia (*leucocitos intermediarios*), en el leucocito de granos neutrófilos y, en definitiva, en la célula de granitos eosinófilos o basiófilos. El orden de transformación aparece representado en la figura 163, donde puede notarse que los anillos extremos del ciclo evolutivo están constituidos por el linfocito y por el leucocito con granos eosinófilos.

En cuanto a la localización de los leucoblastos o células-gérmenes, tendría lugar indistintamente en el bazo, médula ósea, ganglios linfáticos, tejido citógeno de la mucosa intestinal, etc.

La precedente hipótesis monofilética, que de día en día granjea más adeptos, se basa en las siguientes observaciones: *a*, cuando se extirpa el bazo o se separan numerosas glándulas linfáticas, no desaparece de la sangre ninguna especie leucocítica; *b*, el mismo resultado se obtiene cuando la médula ósea se inutiliza (caso de Nothnagel, en que a causa de una esclerosis ósea con desaparición de la médula roja e hiperplasia de ganglios linfáticos y bazo, no faltó ninguna categoría de leucocitos); *c*, los leucocitos con granulaciones basiófilas y acidófilas habitan también en el bazo y los ganglios linfáticos; *d*, las granulaciones leucocíticas distan mucho de ser específicas, como suponen los discípulos de Ehrlich, antes bien se encuentran glóbulos blancos provistos de los dos órdenes de granulaciones basiófilas y acidófilas (Arnold, Hesse) y hay indicios para suponer que las eosinófilas representan substancias fagocitadas (Weidenreich, 1906); *e*, en fin, entre el linfocito y el leucocito mononucleado, así como entre éste y el multinucleado neutrófilo, encuéntrase en la sangre circulante todas las transiciones.

c) Doctrina dualista. — Defendida por Pappenheim, Ribbert, Dominici, Lefas, Hermann y Morel, etc., consiste en admitir dos tipos de células gérmenes: *linfocitos* o *protolinfocitos* brotados en los ganglios y bazo, y el *mieloblasto*, que tendría su cuna en la médula ósea. Ambos serían corpúsculos de gran talla. El primero originaría los linfocitos pequeños y medianos; el mieloblasto produciría todos los granulocitos o leucocitos con granulaciones.

Origen de los leucocitos en el embrión. — En un principio se había supuesto que los leucocitos se diferencian en el embrión al mismo tiempo que los hematíes, apareciendo en el interior de los islotes sanguíneos o de Wolf. Pero actualmente va ganando terreno otra hipótesis, que se enlaza con las interesantes observaciones de Saxer. Según este sabio, ya desde muy temprano contiene el mesodermo ciertas células emigrantes esféricas, relativamente voluminosas, mononucleadas, que denomina *corpúsculos emigrantes primarios*. Tales células diseminanse sucesivamente por las formaciones mesenquimatosas y, llegada la época fetal, se concentran, colonizando muy especialmente en el bazo, ganglios linfáticos y médula ósea. De este corpúsculo primitivo o *célula de Saxer* procede el linfocito y los diversos tipos de células blancas ulteriormente diferenciadas (Saxer, Spuler, Maximow). Buena parte de los corpúsculos de Saxer invadirían por inmigración los vasos embrionarios, convirtiéndose en células blancas intrasanguíneas (Prenant). Mas en lo tocante al modo de aparición de los primeros leucocitos intravasculares, la ciencia dista mucho de haber dicho la última palabra.

Una doctrina que podría calificarse de *ultranitaria* ha sido recientemente proclamada por Maximow y acogida por algunos hematólogos modernos (origen de los glóbulos de la sangre del embrión de conejo). Para este sabio, cuyos trabajos han sido confirmados por Vera Dantschakoff, en los islotes de Wolf del área vascular, así como en el espesor del mesenquima (embrión del conejo de ocho días), aparecerían unas células incoloras, gruesas, semejantes a linfocitos, que designa *corpúsculos sanguíneos primitivos* o *células indiferentes* (Pappenheim). Consérvanse con iguales caracteres durante la vida extrauterina, refugiándose en los órganos hematopoyéticos (médula, ósea, bazo, etc.), donde evolucionarán para producir toda las células sanguíneas. Ahora bien, la descendencia de tales elementos germinales es doble. Mediante progresiva diferenciación, dan origen: 1.º, a la raza de los hematíes, es decir, a corpúsculos rojos nucleados (eritroblastos de Lœwit), dotados de capacidad mitótica y que pasan a ser primeramente hematíes grandes (*megaloblastos*) y después hematíes normales (*normablastos*); 2.º, a la raza de los leucoblastos, que Maximow designa, con poca fortuna, *linfocitos*, esto es, a corpúsculos mononucleados pequeños, sin aptitud para formar hemoglobina y que sucesivamente se transforman en la conocida serie leucocítica (linfocito, célula grande mononucleada, leucocito con granulaciones, etc.). Para el histólogo ruso la raza de los leucocitos aparecería separada y casi simultáneamente, tanto en el interior del árbol sanguíneo (por diferenciación del *corpúsculo sanguíneo primitivo*), como en pleno tejido mesenquimatoso del embrión. En el mesodermo del conejo, las primeras células leucocíticas dotadas de poder amiboide (elemento de Saxer) surgen a los nueve días de vida embrionaria.

Origen de las plaquetas. — Es desconocido y sólo pueden hacerse conjeturas sobre la localidad y modo de producción de estos corpúsculos.

He aquí algunas opiniones:

1.^a Algunos autores reputan las plaquetas fragmentos de hemátios o derivados de estos elementos (Arnold, Weideinreich, Maximow, Jolly, Guarnieri, Preisich, Wlasow, Vasale, Pappenheim, Samele y Fotí). Excusado es decir que no concuerdan las opiniones en cuanto al mecanismo del origen (1).

2.^a En los vertebrados inferiores, las plaquetas, que son células perfectas, nacerían por excisión de las preexistentes (Mondino y Fusari).

3.^a *Teoría mielógena*. — Según Wrigt (1906), las plaquetas o trombocitos se generarían en el interior de los *megacariocitos* o *células gigantes* de la médula del hueso, por un fenómeno de diferenciación intraprotoplásmica, seguido de expulsión del elemento diferenciado, el cual, después de adquirir las propiedades morfológicas y tintoriales de las pláculas, penetraría en el torrente circulatorio. En la producción de estos corpúsculos intraprotoplásmicos no tomaría ninguna participación el núcleo.

Esta hipótesis, actualmente muy en boga entre los hematólogos, ha sido acogida entusiásticamente por Cesaris Demel (1915), Ferrata y Negreiros-Rinaldi (1915 a 1920), Ogata, Naegeli, Foa, Le Soud, Paignez, Aschof, Karnelson (1918), Guglielmo (1920), etc. En cambio, dudan de su legitimidad Pianesse, Oelafen y Perroncito, quien da a entender que los corpúsculos placuloides observados en las células gigantes podrían representar elementos fagocitados.

Los principales argumentos en que se fundan los secuaces de la audaz concepción de Wrigt, son:

1.^o Los citados corpúsculos interiores se tiñen de azul, al modo de las plaquetas (*granos azurófilos*), por el método de Romanowski y el de May-Grünwal-Giemsa.

2.^o Cuando se inyecta en la sangre una pequeña cantidad de *pirodina* (6 centigramos por 1 kilogramo de animal) aumenta enormemente la producción de granos placuloides dentro de los megacariocitos, concomitantemente con el incremento del contingente placular de la sangre. En la figura 176, tomada de Demel, mostramos el aspecto de las células gigantes durante la pretendida génesis de las plaquetas. Nótese la tendencia de los grumos a dislocarse hacia las expansiones.

Nuestras observaciones no son suficientes para juzgar del valor de la hipótesis de Wrigt. Limitarémonos a expresar: 1.^o, que la presencia de grumos interiores dentro de las células gigantes (con o sin envenenamiento con *pirodina*) no demuestra que las plaquetas deriven de dichas formaciones; éstas podrían ser plaquetas fagocitadas (Perroncito) o quizá más bien organitos interiores normales de los megacariocitos, cuya función

(1) Este dictamen es el que nosotros defendimos hace muchos años (1883) y que, en ausencia de pruebas, hemos abandonado. Ningún sabio parece conocer este remotísimo antecedente.

desconocemos (¿fragmentos del aparato de Golgi?); 2.º, que aun admitiendo la mencionada concepción, no se concibe cómo unos grumos de sustancia muerta sean capaces de penetrar en los vasos sanguíneos; 3.º, que, siendo las pláculas elementos nucleados en los vertebrados inferiores, resulta muy extraño que no pasen en los mamíferos por una fase nucleada al modo de lo ocurrido en los hematíes; 4.º, en fin, que, según nota juiciosamente Perroncito (1920), cuanto sabemos de la ontogenia de los tejidos no muestra un solo hecho bien establecido de célula en cuyo protoplasma se engendren elementos anucleados, absolutamente diferentes en morfología, estructura y actividad fisiológica, del elemento anatómico progenitor.

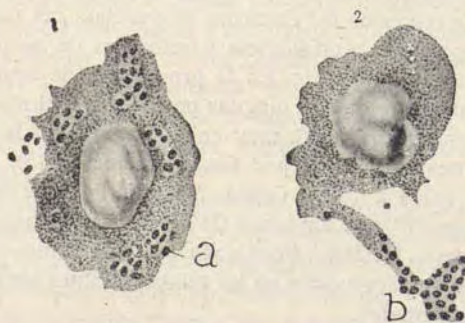


Fig. 176.—Células gigantes de la médula ósea (megacariocitos) en función de elaboración intraprotoplásmica de plaquetas. Figura tomada de Cesaris Demel. 'a', b, pláculas embrionarias.

Propiedades fisiológicas. — Cada uno de los factores de que la sangre consta desempeña un oficio dominante, para el que se ha diferenciado especialmente.

El *hematíe* es una célula muerta, que ha perdido su estructura para mejor ejecutar su papel, que no es otro que servir de vehículo al oxígeno, tomándolo del aire en el pulmón y llevándolo a las intimidades de los tejidos. Hasta la ausencia de núcleo en los hematíes de los mamíferos implica una diferenciación utilitaria, puesto que de este modo pueden los glóbulos condensar más oxígeno en menos masa.

Los *glóbulos blancos* parecen ser los encargados de realizar la asepsia intraorgánica, impidiendo el acceso de microbios y de toda clase de partículas extrañas. Son asimismo los agentes de la destrucción y absorción de todos los órganos o tejidos, cuya oportunidad fisiológica pasó definitivamente.

Estas múltiples funciones realizanlas los leucocitos gracias a dos propiedades dominantes: aptitud de variar de forma para escurrirse por las junturas endotélicas y recorrer libremente las lagunas conjuntivas, y capacidad de englobar en su protoplasma y acaso digerir, como quiere Metchnikoff, todas las partículas orgánicas sólidas de pequeña dimensión.

Cuando el microbio o célula fagocitable es de pequeña dimensión, el leucocito lo encarcela en su protoplasma y acaba,



Fig. 177. — Célula nerviosa sensitiva en vías de destrucción (transplantación de un ganglio sensitivo de un perro bajo la piel de un animal de la misma especie). A, protoplasma granuloso de la célula nerviosa; a, leucocitos que han creado galerías de corrosión dentro del protoplasma; b, c, leucocitos que han fagocitado granos de mielina y detritus de cilindros-ejes.

en el supuesto de ser digestible, por devorarlo. Mas si la talla del cuerpo extraño es considerable, el leucocito lo corroe, y aun puede, caso de ser blando, penetrar en su interior, labrando en él galerías que facilitan su destrucción y reabsorción. Esta singular acción, estudiada hace años por nosotros en las neoplasias (1895), y a la que dimos el nombre de *traumacitosis*, aparece claramente en la figura 177, a, donde reproducimos una célula nerviosa trasplantada, atacada y destruída por corpúsculos emigradores. Una citolisis semejante, operada también por leucocitos, ha sido comprobada por Anglas en la metamorfosis de los insectos (*lyocitosis*), y por Nageotte en la célula nerviosa. En la desaparición de la cola del renacuajo y

atrofia de muchos órganos embrionarios, combinase a menudo la fagocitosis con la *traumacitosis* o *citolisis*.

Es probable que algunos de aquellos leucocitos portadores de granulaciones tengan además carácter de glándulas monocelulares errantes, cuyo destino podría ser llevar, ora materias nutritivas a ciertos territorios orgánicos, ora fermentos defensivos capaces de esterilizar (como imaginan algunos patólogos) los tejidos invadidos por microbios patógenos. También Prenant (1903) confirma este papel de glándulas monocelulares, adjudicable, sobre todo, a los leucocitos provistos de granulaciones.

La misión de las *plaquetas* parece responder asimismo a prudentes previsiones del organismo (1). Cuando un vaso sufre un traumatismo (pequeña herida, contusión, ligadura, etc.), las plaquetas acuden en masa al punto lesionado, conglutinándose en bloques considerables y produciendo un tapón obturador que cohibe o previene la hemorragia, ínterin las energías proliferantes de las células de tejido intervienen para reparar el daño con arreglos definitivos. Como nosotros hemos probado, las plaquetas de la rana poseen movimientos amiboides, así como cualidades fagocíticas, puesto que pueden englobar partículas de carmín y diversas especies de microbios (2). La tendencia de las plaquetas a conglutinarse y formar plasmodios y trombus blancos les ha valido el nombre de *trombocitos*. Añadamos que las plaquetas podrían intervenir también en el fenómeno de la coagulación de la fibrinógena por su dotación de sales calcáreas.

Estos ejemplos prueban que muchas de las disposiciones orgánicas no han sido creadas para desempeñar una función actual fisiológica, sino para ocurrir a conflictos posibles, aunque extraordinarios, entre el organismo y los agentes exteriores.

En cuanto al *plasma*, además de constituir el medio nutri-

(1) Entiéndanse siempre en sentido metafórico las expresiones antropomórficas del texto. Las diferenciaciones y actos celulares carecen de intencionalidad y representan adaptaciones y variaciones útiles fijadas por la herencia y exageradas por la selección.

(2) Cajal: «La fagocitosis en las plaquetas.» *Rev. trim. microg.*, 1896, núm. 2.

tivo interior del organismo, contiene en estado normal, y sobre todo en estado patológico, multitud de fermentos o *encimas* de poderosa eficacia defensiva contra células extrañas, microbios, toxinas y hasta contra sustancias albuminoides exógenas. De ellas tratamos en la Anatomía patológica.

Circulación de la sangre vista al microscopio. — El orden de marcha de los corpúsculos sanguíneos no es el mismo en los vasos gruesos que en los delgados. Cuando se examina la circulación de la sangre en una arteria o vena de algún calibre, se nota que la corriente sanguínea es sumamente rápida y que todas las células parecen marchar con igual velocidad. Mas si el examen recae en las arteriolas o en las pequeñas venas, advertiremos que la sangre se divide en dos corrientes o zonas: *capa periférica* o blanca, por la cual sólo discurren el plasma y los leucocitos; *capa central* o roja, por donde marchan los hematíes y plaquetas. En la zona periférica el movimiento es lento, observándose cómo los leucocitos se deslizan perezosamente por el endotelio, en el cual pueden permanecer a veces pegados e inmóviles; por el contrario, los hematíes circulan con tanta rapidez que cuesta trabajo distinguir sus contornos.

Muerte de los glóbulos. — Las células sanguíneas, cuya cuna conocemos ya, son corpúsculos efímeros, que quizá no duran sino algunas semanas. Continuamente se destruyen hematíes en el bazo, hígado y médula ósea, y sus restos aparecen a menudo englobados por las células de dichos órganos. En cuanto a los leucocitos, las emigraciones constantes a que están sometidos y su continuo vagar por las superficies epiteliales (glándulas, intestino, pulmón, amígdalas, etc.), producen la muerte de muchos de ellos.

Comprendese, por tanto, que sea permanente el trabajo reparador en los órganos hematopoyéticos (médula ósea, ganglios linfáticos y bazo), y que aumente todavía durante las afecciones microbianas, a fin de recompensar las pérdidas leucocíticas exigidas por la lucha entablada entre el organismo y los parásitos invasores.

LINF A Y QUILO

La *linfa* es un líquido blanco, transparente, coagulable, que circula por los vasos linfáticos. El líquido acarreado por los linfáticos intestinales durante la digestión es de aspecto lechoso y toma el nombre de *quilo*.

Tanto el quilo como la linfa encierran un gran número de leucocitos pertenecientes a todas las variedades que hemos descrito en la sangre. El quilo contiene, además, multitud de finísimas gotas de grasa, incapaces de conglutinarse, pues se hallan rodeadas, según se cree, por delicada cubierta albuminoide. Según Lœwit, la linfa alberga también leucoblastos y eritroblastos, aserción que necesita confirmarse.

El *plasma linfático* es alcalino, más rico en agua que el de la sangre y espontáneamente coagulable; no se solidifica sino fuera de los vasos, bajo la acción del aire, y el coágulo es blanco y más blando y pequeño que el de la sangre, a causa de la escasez de elementos englobados. Este coágulo no es retráctil como el de la sangre, particularidad que Arthus atribuye a la ausencia de plaquetas.

Según Hensen y Dähnhard, la linfa humana consta en mil partes de:

| | | |
|--|---|------------------------|
| Albuminoides 2,6 | } | 1,070 fibrinógena. |
| | | 0,984 serum-globulina. |
| | | 1,408 serum-albúmina. |
| Grasa, coleslerina, lecitina | | 0,03 |
| Materias extractivas | | 1,28 |
| Sales | | 8,38 |
| Agua | | 987,07 |

El quilo posee análoga composición que la linfa, coagula igualmente por la acción del aire, y distínguese de la linfa por contener más grasa.

Preparación de la sangre. — 1.^a *Examen de los hematíes sin coloración.* — Nada más fácil que el estudio de los glóbulos rojos. No hay más que hacer una picadura en la yema de un dedo y extender la sangre así obtenida entre dos laminillas, teniendo cuidado que la capa de líquido no

contenga más que una sola capa de hematíes. A fin de evitar la desecación y resguardar los glóbulos de la influencia atmosférica, se cementará la preparación con parafina, o se lubricará simplemente el contorno con aceite.

Mezclando con la sangre agua destilada, clorato potásico al 5 por 100, bilis, disoluciones hipotónicas, etc., se verán las transformaciones de los hematíes.

Si se desea estudiar la sangre de rana, animal que puede elegirse como tipo de los vertebrados ovíparos, el procedimiento de extracción y de preparación será análogo. Convendrá, sin embargo, en vez de extraer la sangre por picadura o sección de los dedos (lo que nos daría un líquido tan rico de linfa como la sangre), acudir al corazón mismo, donde aquel humor es puro y abundante.

No hace falta conservar las preparaciones de sangre: tan fácil es hacerlas y renovarlas. Alguna vez puede convenir, empero, conservar en preparado definitivo los hematíes fijados por desecación rápida, los tratados por el ácido ósmico (al 1 por 100) y los fijados en bicloruro de mercurio. Estos dos últimos reactivos consienten el montaje en la glicerina. Los glóbulos preparados por desecación se cubrirán no más de una laminilla. También los líquidos de Giemsa y May-Grünwald-Giemsa, de que hablaremos más adelante, son buenos fijadores, gracias al alcohol metílico que encierran.

2.^a *Examen de las plaquetas.* — El mejor procedimiento es estudiarlas en la sangre circulante, donde se muestran con todas sus propiedades fisiológicas (véase el examen de la circulación al microscopio). Para observarlas sin alteraciones en la sangre extraída, es preciso recoger este líquido en el licor conservador de Bizzozero: agua destilada, 100; cloruro de sodio, 0,75; violeta de metilo, c. s. para dar al reactivo un matiz violeta obscuro. A este fin, lo más cómodo y lo más seguro es derramar una gota de este licor en el mismo paraje de la piel donde ha de practicarse la puntura; así la sangre no toca ni un momento el aire, y las plaquetas se conservan algunas horas con su forma típica. El estudio de las plaquetas alteradas y de las redes fibrinosas debe hacerse en la sangre pura, frescamente extraída. Únicamente con la mira de que las redes fibrinosas destaquen mejor, será provechoso el empleo de la solución yodo yodurada. El proceder de Romanowsky y sus derivados tiñen también las plaquetas (fijación del *azur*).

En la sangre coagulada de los mamíferos las plaquetas son fácilmente reconocibles mediante el proceder del nitrato de plata reducido. Para ello conviene especialmente la fijación del tejido en piridina al 60 por 100 (cuatro días de estufa). Véanse más adelante los detalles de este método (tejido nervioso).

3.^a *Leucocitos.* — El examen de los leucocitos vivos no reclama ninguna precaución particular. Se recordará solamente que los movimientos amiboides exigen para su observación en los animales de sangre caliente una temperatura próxima a 37°.

La coloración de los leucocitos y de sus granulaciones exige métodos especiales. Para teñir los leucocitos provistos de granitos eosinófilos (α , de Ehrlich), se comenzará por desecar una gota de sangre (y en capa delgadísima) sobre un cubreobjetos; luego se llevará el preparado a un baño de arena (con la capa de sangre al descubierto) donde sufrirá una temperatura de 120°, y por último, se colocará en una solución de eosina en hematoxilina, disolución que se prepara añadiendo a 100 g. de hematoxilina de Ehrlich 1 g. de eosina. Este líquido se hará obrar algunos minutos sobre la preparación, que se terminará lavándola en mucha agua, desecándola entre papel de filtro y montándola en resina damar. Los hematíes se presentarán rojos, azules los leucocitos y rojas las granulaciones eosinófilas de éstos.

La demostración de las granulaciones neutrófilas, exige la aplicación sobre una capa de sangre desecada y sometida a 120° de esta mezcla: agua, 5; solución acuosa saturada de fuchina ácida, 5; solución concentrada acuosa de azul metileno, 1. Después de varios minutos de acción y efectuada la decoloración en agua, se procede al secado y al montaje en damar. En el protoplasma de los leucocitos así tratados se mostrarán teñidos en violado ciertos granitos; es decir, los *neutrófilos*. También proporciona excelentes resultados el *triácido* de Ehrlich-Biondi: de las disoluciones acuosas saturadas de Orange G. 10 cc., de fuchina ácida 1 cc., de verde de metilo 3 cc. Después de cinco a 10 minutos se lava hasta que no suelte más color, se seca y se monta. Núcleos verdes, granulaciones eosinófilas rojas, neutrófilas violetas, hematíes anaranjados.

El teñido de las granulaciones basiófilas (γ , de Ehrlich) se logra con cualquier anilina básica. Particularmente recomendables son: la solución de dalía, la tionina, el azul de metileno y el proceder de Giemsa.

Si se desea impregnar solamente el núcleo de los leucocitos, no hace falta desecar la sangre: bastará mezclar con ésta, recién extraída de los vasos, una solución concentrada de azul o de verde de metileno, adicionada de unas gotas de ácido acético.

Un buen método para el teñido de la sangre es el empleo del líquido de Giemsa.

Es éste una mezcla de azul y azul de metileno y eosina, que por las dificultades de su preparación se debe adquirir hecha por la casa Grüber, en disolución o en polvo (para disolver en una mezcla de alcohol metílico y glicerina, 4 por 1). La disolución se diluye en la proporción de una gota del líquido de Giemsa por cada centímetro cúbico de agua, completamente neutra, inmediatamente antes de usarla. Se la hace actuar treinta minutos sobre las extensiones de sangre fijadas en alcohol metílico dos-tres minutos, o alcohol absoluto o la mezcla de alcohol y éter aa, veinte minutos; después se lava cinco minutos en agua corriente; se seca (no por el calor), y se monta en bálsamo directamente.

Núcleos y neutrófilos rojo violeta; basiófilos y protoplasma de los linfocitos azul, hematíes y eosinófilos rojo pálido.

Método May-Grünwald.— Consiste en colorar con la mezcla siguiente:

| | |
|--|-----|
| Azul de metileno + eosina ácida. | 1,0 |
| Alcohol metílico. | 100 |
| Glicerina. | 50 |

El azul de metileno-eosina es el precipitado obtenido mezclando soluciones de azul de metileno y eosina. Esta substancia compleja, poco soluble en agua, se disuelve muy bien en alcohol metílico. En la precedente fórmula, el alcohol obra como fijador.

La sangre, extendida en portaobjetos y rápidamente desecada, se fija durante dos o tres minutos en dicha solución colorante. Después se diluye ésta, añadiéndole igual volumen de agua destilada, y se procede a la tinción, que dura cinco o seis minutos. Lavado final en agua, desecación, bálsamo, etc. Esta fórmula tiñe bien los núcleos y las granulaciones de los leucocitos.

Parecidos resultados da la fórmula de May-Grünwald-Giemsa, modificada por Pappenheim, y otros métodos derivados de los primitivos de Romanowsky y Giemsa.

Quien desee más detalles sobre este punto consulte las obras de hematología de Pappenheim (1919), y la de Ferrata (1920).

4.^a *Circulación de la sangre.*— Este interesante fenómeno puede sorprenderse fácilmente al microscopio en todos los órganos transparentes de los vertebrados: el mesenterio, la lengua y la membrana interdigital de la rana, las expansiones de la cola del renacuajo, y el epiplón y mesenterio de los pequeños mamíferos (rata, conejo de Indias, etc.), son las partes ordinariamente preferidas. Al tratar de los métodos de examen, hemos hablado ya del *modus operandi* adecuado para observar la circulación en la rana.

Entre los mamíferos, el más cómodo para este examen es el conejo indiano de pocas semanas. Antes de extraer el mesenterio, se inmovilizará el animal por el método de Bizzozero; es decir, por inyección en la cavidad peritoneal de cierta cantidad de hidrato de cloral (2 gramos de solución acuosa al 5 por 100).

5.^a *Examen de las células rojas nucleadas, etc.*— El procedimiento que más confianza debe merecernos para el estudio de estas células, es el examen en fresco, sin otro vehículo que el plasma que naturalmente empaqueta y separa los elementos vivos. A veces, los corpúsculos están tan apiñados (barro esplénico, médula ósea), que se hace precisa su separación y dilución: en tal caso usaremos exclusivamente como vehículo inofensivo el licor salino (sal, 0,50 a 0,75 por 100 de agua), que conserva no sólo la forma, color, etc., de los hematíes embrionarios, sino los movimientos amiboides de los leucocitos y medulocitos. Para estudiar los fenómenos mitóticos de los eritroblastos y sus relaciones con los hematíes adultos, preferimos, siguiendo a Bizzozero y Dœnys, la médula ósea de las aves (gallina,

paloma). Abierto el fémur de estos animales, y extraído el tuétano (que forma una columna blanda y rojiza), será fijado éste en sublimado, o en líquido de Hermann, o en la solución de formol; luego se incluirá, según las reglas, en celoidina y se colocará ya con la tionina (solución saturada en agua y decoloración en alcohol), ya con la safranina, ora con la hematoxilina de Böhmer, ora con la hematoxilina ferruginosa de M. Heidenhain.

También puede emplearse con éxito el método de Lœwit, que consiste en fijar los ganglios, bazo o médula ósea en una solución de cloruro platínico al 0,1 por 100, incluir después en parafina, colorar los cortes en safranina y decolorar por diez o quince segundos en una mezcla de 3 cc. de solución alcohólica de ácido pícrico y una a dos gotas de tintura de yodo. Este líquido roba el color a casi todos los núcleos, menos a los de los eritroblastos, que se presentan intensamente teñidos en rojo. En fin, en la coloración de *frottis* o de cortes de médula de hueso y bazo serán también muy ventajosos los procedimientos ya relatados de Giemsa y el de May-Grünwald.

6.^a *Hemoglobina*. — Para preparar fácilmente los cristales de la sangre debe escogerse un animal cuya hemoglobina sea poco soluble en el plasma, como, por ejemplo, el conejillo de Indias. La sangre de este roedor, despojada de la fibrina por el batido, se mezcla en proporciones iguales con éter sulfúrico; a los pocos minutos la materia colorante, que se ha disuelto en plasma, comienza a precipitarse en el fondo y paredes del recipiente bajo la forma de elegantes tetraedros anaranjados, casi todos microscópicos. La observación se efectuará en el agua madre.

Desgraciadamente, estas preparaciones son difícilísimas de conservar. Hemos ensayado con tal fin la desecación, el ácido ósmico y el yodo, pero sólo el alcohol absoluto nos ha proporcionado resultado tolerables. El *modus faciendi* se reduce a tratar por el alcohol absoluto una capa extendida y todavía húmeda de cristales hemoglóbicos. Fijos los cristales por el reactivo, se lava el preparado y se conserva en glicerina. La forma de los cristales se conserva bien, pero desmerece el color.

7.^a *Preparación de la linfa y quilo*. — Para efectuar el examen de estos líquidos en los animales superiores, se elegirá un mamífero de gran talla (asno, caballo) muerto en plena digestión. A favor de una pipeta capilar, se tomará linfa del conducto torácico o de los linfáticos del mesenterio, muy visibles cuando están ingurgitados por el quilo.

En los animales inferiores es más difícil recoger linfa perfectamente pura. No obstante, en la rana cabrá obtenerla casi pura introduciendo un tubo capilar esterilizado en el saco linfático dorsal y soplando el líquido que haya penetrado por capilaridad sobre un portaobjeto. Prolongando la observación algún tiempo, se comprobarán fácilmente los fenómenos de contractilidad amiboide y de englobamiento de corpúsculos extraños.

CAPÍTULO IV

TEJIDOS DE SUBSTANCIA CONJUNTIVA

Consideraciones generales. — Los tejidos que vamos a exponer ahora, a saber: el conjuntivo, el adiposo, el cartilaginoso, el óseo y el dentario, poseen, sin perjuicio de su cabal individualidad, rasgos comunes reveladores de su íntimo parentesco, los cuales conviene, por razón de método, anteponer a la historia circunstanciada de cada especie. Estos rasgos son: analogías de origen, de estructura, de composición química y de fisiologismo.

Analogías genéticas. — Los tejidos conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, óseo y dentario son diferenciaciones del mesodermo, por lo menos en los vertebrados superiores.

Analogías estructurales. — Los mencionados tejidos se componen de dos cosas: las células, comúnmente estrelladas o fusiformes, y una materia fundamental, generalmente abundante y descompuesta en finas hebras y hacesillos.

Analogías químicas. — La materia fundamental de estos tejidos encierra un principio proteico (colágena, osteína, condrina), susceptible de ser reducido por la cocción a jalea o gelatina.

Analogías funcionales. — Todas las especies conjuntivas desempeñan un oficio común: construir el esqueleto del organismo y servir de medio de unión y protección a los diversos órganos y tejidos.

TEJIDO CONJUNTIVO PROPIAMENTE DICHO

Definición. — Este tejido, llamado también *unitivo*, *fibrilar* y *celular*, se caracteriza por su color blanquecino, consistencia semiblanda y por constar de dos factores principales: células aplanadas y asteriformes, a veces anastomosadas, y una materia homogénea, intersticial, recorrida por infinitos haces de fibras colágenas.

División. — Aunque el tejido conjuntivo conserva sus rasgos esenciales en todas las localidades orgánicas, experimenta en ciertos órganos modificaciones de detalle que autorizan una división. La variedad conjuntiva más importante está representada por el *tejido conectivo laxo*, cuyos caracteres más salientes son: la ubicuidad y el no modelarse jamás en órganos especiales.

Las otras variedades, tales como el *tejido conjuntivo fibroso*, el *citógeno* o *adenoideo*, el *corneal* y el *membranoso*, poseen una distribución menos general y constituyen casi exclusivamente ciertos órganos (tendones, ganglios linfáticos, epiploones, etc.).

VARIEDAD CONJUNTIVA LAXA

Definición — Es una modalidad conjuntiva blanda, extensible, esparcida por casi todo el organismo y constituida por células aplanadas y escasas, separadas por hacillos colágenos flojos y dispuestos en todas direcciones.

Caracteres físicos y distribución. — El tejido conjuntivo laxo es blanco, grisáceo, grandemente extensible y elástico. Entra como factor de composición en casi todos los órganos, bien proporcionándoles envolturas protectoras (*membranas* o *cápsulas*), bien rellenando sus intervalos (*tejido conectivo interorgánico*), bien penetrando en su trama microscópica, a fin de sostener, separar y nutrir los elementos activos (*tejido conectivo intersticial*). El tejido conectivo se modela en capas de

vario espesor por debajo de los epitelios (dermis de la piel y mucosas) y acompaña constantemente a los vasos a través de todos los tejidos.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio un pedazo de tejido conjuntivo laxo, convenientemente disociado a favor de inyecciones intersticiales, atrae



Fig. 178. — Tejido conjuntivo laxo del conejillo de Indias. Preparación por inyección intersticial del líquido sódico metílico de Bizzozero. A, haces de fibras colágenas; B, célula fija vista de canto; C, células fijas examinadas de frente; D, célula emigrante; E, leucocito de núcleo giboso; F, fibras elásticas; G, células de Ehrlich o con gránulos basiófilos; V, vaso sanguíneo.

nuestra atención la presencia de varios factores constitutivos: los *haces conectivos*, la *materia amorfa*, las *fibras elásticas*, las *células fijas y emigrantes*, etc.

Hacecillos conjuntivos (fig. 178, A). — Son manojos transparentes, incoloros, que surcan la preparación en todos sentidos y están formados por la reunión de finísimas hebras paralelas. Varía mucho el grosor de estos haces, oscilando entre 2 μ .

y 20 ó más μ ; su curso es tortuoso, describiendo zig-zags, e incorporándose, sin presentar jamás extremo libre, a otros hacillos.

Las frecuentes ramificaciones de los haces y sus anastomosis repetidas dan origen a una vasta red, cuyos espacios, llamados *lagunas conjuntivas*, alojan el plasma linfático y los elementos morfológicos.

El *carmin* y la *hematoxilina* tiñen los haces conjuntivos, aunque menos intensamente que los núcleos. Más enérgica y selectivamente se coloran por la *fuchina pícrica* de v. Gieson y por el *carmin picro-índigo* (solución de carmin de índigo en ácido pícrico a saturación); la substancia que contiene es, pues, notablemente *acidófila*. El agua de cal, las soluciones concentradas de ácido pícrico, de hipermanganato potásico, etc., destruyen el cemento que mantiene asociadas las fibrillas, obteniéndose éstas en estado libre. Con poderosos objetivos se nota que cada fibra es un cordón cilíndrico, hialino, irreductible a nuevos hilos. El ácido acético hincha los fascículos, tornándolos homogéneos y haciéndole desaparecer las fibrillas. Bajo la influencia de la *cocción prolongada*, dichas hebras se convierten en *gelatina*; resisten, en cambio, a la digestión tripsínica y no se alteran por el alcohol, bicromato potásico, ácido ósmico, etc.

Quando una preparación de tejido laxo, previamente coloreada por el picrocarminato, se trata por el ácido acético o el clorhídrico muy diluídos en agua, los hacillos adquieren aspecto homogéneo y se hinchan, menos en ciertos cuellos o parajes circulares que resisten a la dilatación. Al nivel de tales estrangulaciones (fig. 179, a) aparecen ciertos anillos (*anillo de Henle*), que exhiben color rojizo, y no ciertamente porque atraigan preferentemente el carmin, sino porque a su nivel hállase concentrado el material colágeno coloreado en rosa. Mucho se ha discutido la significación de los referidos anillos de Henle, que Ranvier observó también en el tejido conectivo fresco del edema. Tiende, no obstante, a prevalecer la opinión que los considera como refuerzos locales acintados e inextensibles de la membrana o cubierta fascicular.

Cemento o materia intersticial. — Entre las hebras de cada fascículo hay un cemento semilíquido, soluble en el agua de cal, de barita, etc.; pero existe además otra materia intersticial, de consistencia líquida, poco acumulada, difundida por los vacíos o lagunas interfasciculares, y la cual no es otra cosa que el plasma de nutrición exudado de los vasos sanguíneos y destinado a la alimentación, no sólo de los corpúsculos conjuntivos, sino de las células de los tejidos activos inmediatos.

Fibras elásticas (fig. 178, F). — Además de los haces conjuntivos, cruzan también la materia fundamental unas fibras especiales, de contorno puro, de gran refringencia y dotadas de notable elasticidad, a cuya propiedad deben el nombre de *fibras elásticas*. Nunca se disponen en haces, sino que marchan sueltas en todas direcciones, cruzando los fascículos colágenos y trazando, ya simples flexuosidades, ya grandes revueltas, bien trayectos espiroideos. Permanecen incoloras en presencia del carmín, pero se tiñen por el ácido pícrico y muchas anilinas.

Las fibras elásticas son refractarias a la potasa y ácido acético, agentes que semidisuelven o palidecen notablemente los haces colágenos. Merced a esta propiedad resulta empresa facilísima la demostración de dichas fibras en un preparado conectivo. Las fibras elásticas se presentan bajo tres formas principales: 1.^a, como fibrillas independientes; 2.^a, en redes, y 3.^a, en membranas perforadas.

Las *fibrillas independientes* son finas y sumamente flexuosas; habitan de preferencia el tejido conectivo del dermis y el intersticial de músculos y vísceras (fig. 178, F).

Las *redes elásticas* se asocian igualmente al tejido conectivo de la piel y al de los músculos; pero su asiento preferente es la túnica media de las arterias y venas y los ligamentos amarillos de las vértebras.

En estos últimos ligamentos el tejido elástico domina sobre



Fig. 179. — Haz conectivo sometido, después de teñido por el carmín, al ácido acético diluido. a, anillo de Henle.

el conjuntivo, apenas representado por alguna célula y tal cual fascículo. Las fibras elásticas son espesas, se ramifican en ángulo agudo y engendran redes de mallas irregulares y angostas (fig. 180, A).

Las *membranas perforadas* representan redes elásticas cuyas fibras han adquirido, por crecimiento en superficie, una

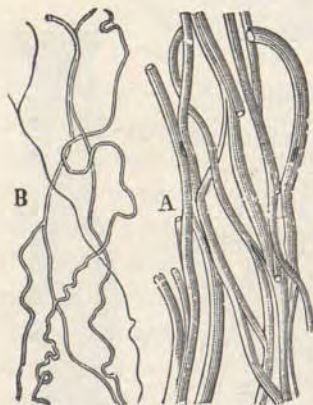


Fig. 180.—Fibras elásticas aisladas por el ácido acético. A, gruesas redes elásticas de los ligamentos amarillos; B, finas redes del dermis cutáneo.

anchura tal que las mallas se han reducido a simples agujeros. Residen estas membranas en la túnica media de las gruesas arterias y en el límite externo de la *íntima* de las pequeñas.

Células. — Los elementos vivos y constantes del tejido conectivo son las llamadas *células fijas* o *sedentarias*; menos constantemente y sólo en ciertas localidades orgánicas se hallan las *células emigrantes*, las *Mastzellen* de Ehrlich, los *clasmotocitos* de Ranvier, las *pigmentarias*, las *cianófilas* y las *enanas de protoplasma pálido*.

a) *Las células fijas* (fig. 178, C), llamadas también *fibroblastos* (Maximow), afectan forma de laminillas poligonales, cuyos ángulos se prolongan en largos apéndices, frecuentemente anastomosados con los emanados de vecinas células (Renaut, Cajal). Muchos de estos corpúsculos se superponen a los haces cuya dirección siguen; otros aparecen sueltos en el interior de las lagunas conjuntivas.

Cada célula posee un *núcleo aplanado*, pobre en cromatina; un *protoplasma laminar finamente granuloso* y tan transparente hacia sus bordes que cuesta trabajo discernirlo, y una *membrana delicadísima* que sólo con fuertes objetivos puede percibirse. Las caras son lisas, mostrando excepcionalmente las crestas de impresión señaladas por Ranvier (fig. 178, C, B.) El método de Heidenhain muestra una *pareja de centriolos* no lejos del núcleo. Mediante el proceder *argéntico de Golgi* (for-

mol, ácido arsenioso, etc.), Verson (1909) y Deineka (1912) han puesto de manifiesto un *aparato reticular* concentrado cerca del núcleo y hacia el origen de una expansión protoplásmica. Nosotros, así como Fañanás (1912) y Tello (1912), hemos impregnado muchas veces este aparato reticular en todos los elementos conectivos del conejo, perro y gato jóvenes. En la figura 183, *b*, mostramos la citada red (que a veces aparece reemplazada por un conglomerado de trabéculas y grumos más o menos ramificados) en los corpúsculos del dermis lingual del conejo adulto.

b) Células emigrantes (fig. 178, *D, E*). — Así se llaman unos elementos esféricos poco numerosos, de contorno áspero, que circulan libremente por las lagunas conjuntivas. Gozan de movimientos amiboideos y pasan por ser leucocitos sanguíneos o linfáticos emigrados. Algunos de ellos poseen un núcleo esférico y poco protoplasma (fig. 178, *D*); otros presentan un cuerpo más robusto (fig. 178, *E*) y un núcleo con gibosidades, como el de los leucocitos de la tercera especie (*polinucleados* de Ehrlich, leucocitos con núcleo vegetante).

c) Células con granulaciones (*Mastzellen*, es decir, *células cebadas* de Ehrlich). — En algunas localidades orgánicas, de preferencia cerca de los epitelios y de los capilares y venas, muéstranse unos corpúsculos gruesos, redondeados, ovoideos o fusiformes, portadores de un núcleo pobre en cromatina, y cuyo protoplasma se caracteriza por contener numerosas granulaciones gruesas, esféricas, semejantes a micrococos, colorables por las anilinas básicas y por el método de Gram (figura 181, *B*). La tionina las colora en rojo heliotropo, distinguiéndolas de la cromatina nuclear que se tiñe en azul. También el rojo neutro aplicado en fresco (animal recién sacrificado) las colorea intensamente (Arnold, Maximow, etc.). El método de Unna-Pappenheim las tiñe en rojo. Estas granulaciones son de naturaleza albuminoide, alterables en ácido acético e insolubles en alcohol y éter.

Se ignora la significación de las células de Ehrlich. Este autor suponía que dichos corpúsculos abundaban en aquellas partes en donde, por ser asiento de movimientos proliferativos, se produce sobrealimentación; pero

los trabajos de Ballowitz y Bergonzini (1893), los nuestros y de Calleja (1), echan por tierra esta interpretación, haciendo probable la opinión de que semejantes corpúsculos se hallan constantemente en ciertas localidades del tejido conectivo, variando sólo su distribución según las diversas especies de animales. En torno de las células cebadas se advierte, en ocasiones, una atmósfera circular, formada por una materia colorable por las anilinas

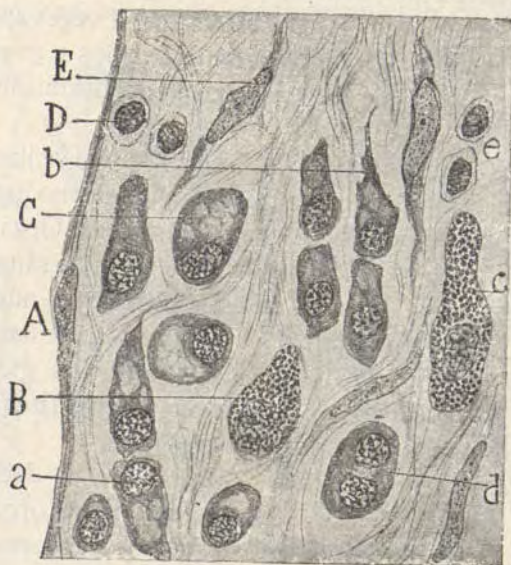


Fig. 181. — Diversos tipos celulares del tejido conectivo intersticial de la glándula submaxilar del hombre. A, pared de un vaso; B, célula cebada; C, célula cianófila; E, corpúsculo conectivo fijo; D, célula enana; a, parejas de células cianófilas.

básicas. Esta atmósfera prueba que la materia granular basiófila es susceptible de ser eliminada y disuelta en el plasma intracelular. Cerca del núcleo aparece un diplosoma (Maxintow, 1906).

Según Maximow (1908), las células cebadas serían leucocitos modificados incapaces de transformarse en *fibroblastos*.

Las llamadas por Waldeyer *células del plasma*, residentes también cerca de los vasos y provistas de granulaciones interiores, corresponden probablemente a los corpúsculos de Ehrlich o representan una variedad de los mismos. Las *células plasmáticas* de Unna constituyen, como luego veremos, una variedad especial.

(1) C. Calleja: «Distribución y significación de las células cebadas de Ehrlich.» *Revista trimestral microgr.*, núms. 2 y 3, 1896.

Clasmatocitos (Ranvier). — Constituyen una variedad especial de células cebadas, provistas de expansiones ramificadas y largas, que residirían abundantemente en el tejido conectivo de los urodelos. Las granulaciones, así como el protoplasma de la porción terminal de las expansiones, son susceptibles de disgregarse (*clasmatoxis*) en el plasma conjuntivo, fenómeno destructivo que ha valido a dichas células la designación que llevan.

En los mamíferos hállanse también estas células, pero con otros caracteres que en los batracios, caracteres que varían algo según los animales explorados. En general, trátase de corpúsculos fusiformes o estrellados, de núcleo esférico, más pequeño que el de las células sedentarias, y provistos de un protoplasma pálido, sembrado de escasas y desiguales granulaciones amarillentas (Ranvier, Schreiber, Neumann, etc.). A menudo tales granos constituyen acúmulos cerca del núcleo (Maximow, 1906). Dichas esferas, que afectan tamaño desigual y poseen acaso diversa composición química, coloréanse también en fresco por el rojo neutro (Maximow). Los clasmatocitos hállanse esparcidos por toda la trama conectiva, abundando más cerca de los vasos y en la vecindad de los epitelios.

Los trabajos modernos, y singularmente los de Maximow (1906), acerca de los clasmatocitos, prueban que Ranvier, descubridor de estos elementos, se equivocó al identificar los gruesos clasmatocitos de los batracios con los corpúsculos de igual nombre de los mamíferos. En realidad, los clasmatocitos de los batracios son legítimas *células cebadas* de Ehrlich, las cuales adoptan en estos animales figura fusiforme o estrellada; poseen notable dimensión y gozan de la propiedad de liberar gránulos basiófilos que se disuelven en el plasma intersticial (éstas son las partes del protoplasma que pueden estimarse autoseparables); mientras que los elementos de igual nombre de los mamíferos constituyen en realidad una casta celular especial, algo así como una variedad de células con granulaciones, que carece de la propiedad de la *clasmatoxis*.

Del origen y destino de los clasmatocitos nada seguro cabe afirmar. Para Maximow, quien en diversas Memorias ha consagrado a tales corpúsculos un estudio minucioso (1906-1909), representarían linfocitos crecidos, evolucionados y caídos en inmovilidad, por pérdida del poder emigrador. De ahí el nombre que les da de *células emigrantes reposadas* (*Ruhende Wanderzellen*). No obstante, durante la inflamación recobrarían su activi-

dad amiboide y fagocitaria, aunque sean siempre incapaces de generar tejido cicatricial.

Renaut (1907) identifica las células cebadas de los mamíferos con los clasmaticitos de Ranvier, a pesar de los caracteres diferenciales señalados por Ranvier mismo y modernos histólogos. En su sentir, las células fusiformes y estrelladas descritas como clasmaticitos por Ranvier en el epiplón del conejo, no serían otra cosa que el resultado de la transformación de un tipo celular específico, que Renaut bautiza con el nombre de *célula ragiocrina* (véase más adelante).

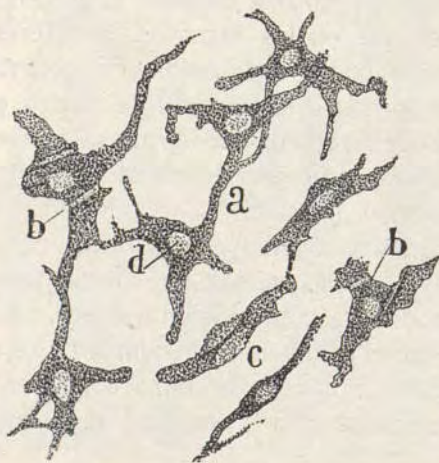


Fig. 182. — Células pigmentarias de la coroides del ojo humano. Las células aparecen vistas de plano. *a*, puente intercelular; *b*, depresión lineal causada por haces conectivos; *c*, células vistas de canto.

(*d* Células pigmentarias (fig. 182). — En el hombre sólo se encuentran estos corpúsculos en la coroides y el iris, y con gran rareza en el dermis de la piel y papilas pilosas. Poseen una forma en huso o en estrella y su cuerpo encierra multitud de granitos redondeados de melanina. No es raro ver sus apéndices anastomosados en red.

Las células melánicas son muy abundantes y adquieren gran desarrollo en la piel y otros tejidos de los reptiles, batracios y peces. Por ejemplo, en el dermis de los batracios estos corpúsculos alcanzan gran espesor y sus ramificaciones protoplásmicas se dilatan en una extensa superficie, constituyendo con

las de los vecinos corpúsculos una red pigmentaria difusa. El núcleo destaca del protoplasma moreno por carecer de gránulos melánicos.

En los reptiles (camaleón), los peces y los cefalópodos, las células pigmentarias están en relación con fibras nerviosas terminales, equiparables a los tubos centrífugos o motores (Brucke, Ballowitz). Resulta, por tanto, que la contracción de tales elementos, en cuya virtud el animal imita el color del paraje en que se encuentra, constituye un acto reflejo; la vía aferente o sensorial está representada por el nervio óptico. Según resulta de las experiencias de P. Ramón, efectuadas en el camaleón, dicho reflejo falta cuando la piel es cloroformizada, se destruye la médula espinal o se cortan los filetes motores periféricos.

Las células pigmentarias son también abundantísimas en los batracios, donde pueden estudiarse en vivo con comodidad. Basta para ello fijar una rana en la platina del microscopio y explorar la membrana interdigital. En el seno de los tejidos transparentes presentes aparecerán a nuestro examen gran número de cromatóforos de color negro, especialmente concentrados en torno de los vasos y en el espesor del dermis y epidermis.

Si, a ejemplo de Eternod y Robert (1908), se somete dicha membrana interdigital, simultáneamente y por zonas, a la acción de la luz y a la de la obscuridad, se confirma el hecho del *mimetismo cromático*, ya señalado hace tiempo por Pouchet en los peces, y estudiado por Fischel y Flemming en la salamandra; esto es: que la obscuridad produce un movimiento de *diástole* o de extensión del pigmento, con lo que la piel se ennegrece, en tanto que la luz causa un movimiento de *sístole* o de retracción del pigmento, lo que se traduce por el aclaramiento tegumentario. El *sístole* es rápido, pudiendo reducirse a dos minutos; en cambio, el *diástole* demanda horas (Eternod). La ceguera de la rana, aboliendo todo reflejo visual, incapacita al animal para retraer los cromatóforos; la piel permanece, pues, indefinidamente oscura, aun en presencia de la luz. En caso de prolongarse la oscuridad muchos meses, los cromatóforos se atrofian, según ha observado Ognéff en el axolote.

Células cianófilas. — Cerca de los epitelios, y particularmente en el dermis de la lengua y otras mucosas, en la trama intersticial de las glándulas salivares, etc., hállanse unos corpúsculos esféricos u ovoideos sin expansiones; con un núcleo esférico, frecuentemente excéntrico y provisto de un protoplasma vacuolado, coloreable uniformemente por las anilinas básicas, y singularmente por el azul de metileno (1).

(1) Véase Cajal: «El estroma de las neoplasias.» *Rev. trim. microg.*, núms. 2 y 3, 1898.

Tales elementos, descubiertos independientemente por nosotros (1890) y Unna (1891), autor que les dió el nombre poco afortunado de *células plasmáticas*, representan un factor normal del tejido conectivo, y no leucocitos emigrados, como suponen algunos autores. En ellos hemos sorprendido muchas veces fases mitóticas (fig. 181, *d*). Indicio de esta multiplicación celular son las parejas de corpúsculos cianófilos que se tocan por una de sus caras (fig. 181, *a*). No es raro ver los ca-

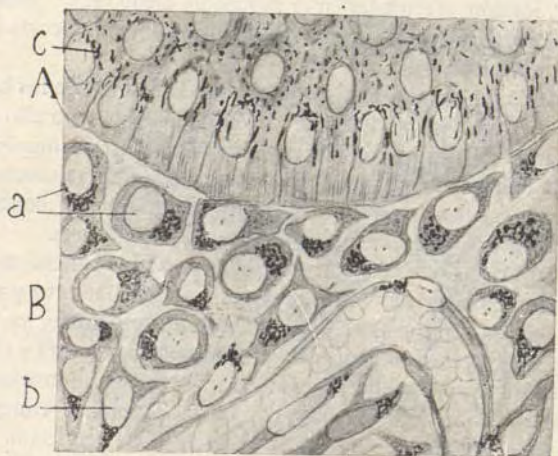


Fig. 183. — Trozo de la mucosa lingual del conejo adulto. A, epidermis profundo con el aparato de Golgi disperso y en forma de bacilos; B, dermis papilar, cuyos elementos cianófilos y fibroblastos ofrecen un retículo bien caracterizado; *b*, fibroblasto; *a*, corpúsculos cianófilos. (Proceder de impregnación del urano-formol.)

bos distales de tales parejas modelarse en apéndice (*b*), semejando uno de los brazos polares de la célula conectiva sedentaria.

Las células cianófilas poseen un aparato reticular de Golgi bien desarrollado, según mostramos en la figura 183, *a*, donde reproducimos numerosos *corpúsculos del plasma* del dermis lingual del conejo.

Células enanas o de protoplasma pálido. — Nuestras investigaciones, ya antiguas (1895), sobre la trama conectiva de las neoplasias nos persuadieron de la existencia constante de unos

elementos diminutos, esferoidales o poliédricos, provistos de protoplasma escaso e incolorable por las anilinas y de un núcleo globuloso rico en cromatina (fig. 181, *D*). Semejantes células, menos abundantes que los corpúsculos cianófilos, no faltan nunca en el tejido conectivo normal e intersticial de las glándulas, en el dermis de las mucosas y piel y, aunque en menos cantidad, en la trama conectiva subcutánea e intermuscular. Verosímilmente, según consignamos en otro trabajo, estos elementos diminutos representan las formas más jóvenes (*cianofiloblastos*) de los corpúsculos cianófilos. Multiplícanse por mitosis y forman acúmulos considerables en la trama de las neoplasias y, en general, en toda substancia conectiva en vías de regeneración. Por lo demás, los elementos enanos han sido señalados recientemente (1907) por Maximow, que los considera, sin pruebas, como linfocitos, asignándoles propiedades amiboides. Añadamos que en estos últimos años (1915 a 1920) se nota entre los hematólogos la tendencia a considerar muchos tipos celulares del tejido conectivo (*plasmazellen*, corpúsculos de Ehrlich, etc.) como glóbulos blancos extravasados.

Algunos autores añaden todavía otras especies celulares menos comunes. Tales son: las células emigrantes con bastoncitos eosinófilos, hallados por Maximow en el tejido conectivo del ratón, rata y cobaya, y semejantes a los leucocitos del mismo tipo; y las células *ragiocrinas*, de Renaut, corpúsculos estrellados anastomóticos, abundantes en la vecindad vascular, que ofrecerían la particularidad de presentar numerosas vacuolas coloreables en vivo por el rojo neutro, vacuolas en cuyo interior morarían especiales productos de secreción. De la descripción de Renaut se deduce que sus células ragiocrinas no son una especie corpuscular nueva, sino que representan una fase evolutiva del corpúsculo fijo o fibroblasto, ya que, según dicho sabio, todos los elementos del tendón (rata), así como los fibroblastos del tejido conectivo laxo del gato, presentan caracteres de ragiocrininos durante las semanas siguientes al nacimiento, para perder dicha cualidad en cuanto alcanzan la fase adulta.

Tejido conectivo de los invertebrados y vertebrados inferiores. — En el tejido conectivo de los invertebrados encontramos también células conectivas fijas y emigrantes, así como una materia fibrilar comparable a los haces colágenos de los vertebrados. Pero además pueden hallarse tipos celulares sin representación ostensible en los animales superiores. Tales son, por ejemplo, las *células de Leydig*, corpúsculos gigantes vesiculosos

reellenos de reservas alimenticias y señaladamente de sustancias glicógenas, las cuales habitan en el mesenquima de los moluscos, crustáceos, decápodos, insectos, etc.

En las formas larvares de los vertebrados inferiores es común hallar una trama conectiva construída exclusivamente por las expansiones de células estrelladas complejamente ramificadas. Tal es, por ejemplo, el tejido conectivo subcutáneo e intermuscular de la cola del renacuajo que repro-



Fig. 184. — Células conectivas estrelladas del tejido conectivo intermuscular de la cola de renacuajo. Impregnación del nitrato de plata reducido.

ducimos en la figura 184, en la cual puede apreciarse, merced a la coloración del nitrato de plata, un principio de fibrilación o de transformación en haccillos de las expansiones celulares. Repárese también que al nivel de algunas dicotomías los citados apéndices presentan verdaderos kiasmas de hebras entrecruzadas sumergidas en un material protoplásmico finamente granuloso. También en los peces jóvenes aparece esta variedad conjuntiva, que representa, según veremos más adelante, una de las fases evolutivas del tejido conectivo laxo de los mamíferos. Por excepción, sin embargo, encontramos en el tejido perilinfático del laberinto de los mamíferos adultos una muestra de dicho tejido reticular.

VARIEDADES CONJUNTIVAS (FIBROSA, CORNEAL, CITÓGENA,
ELÁSTICA, RETICULAR Y MEMBRANOSA)

Tejido conjuntivo fibroso. — Constituye la trama principal de los tendones, ligamentos y aponeurosis. Es duro, nacarado y poco extensible. La disociación lo descompone fácilmente en haces paralelos (fig. 185).

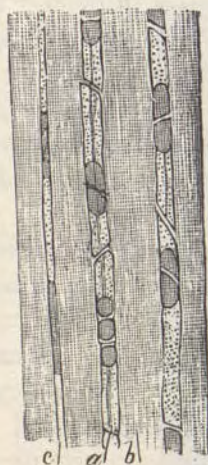


Fig. 185. — Un haz secundario estirado de la cola de ratón. a, hilera de células; b, haz conectivo.

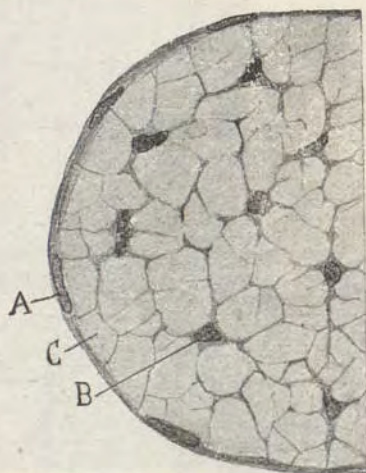


Fig. 186. — Corte transversal de un fascículo secundario de los tendones de la cola del ratón. A, endotelio; B, célula fija; C, fascículo primitivo.

Consta este tejido de fascículos y células. Los *fascículos* son espesos, larguísima (tanto como el órgano que engendran), perfectamente paralelos y de curso flexuoso o en zigzag, que se convierte en rectilíneo cuando aquéllos son estirados por disociación.

Las *células* (fig. 185, a) forman series paralelas que ocupan los intersticios lineales de los fascículos; su forma es la de láminas cuadrilongas, de bordes irregulares y de caras lisas, de las cuales arranca a menudo una cresta penetrante en el intersticio fascicular inmediato (*cresta de impresión* de Ranvier); sus

extremos tocan, por lo común, los de las células vecinas de la misma serie, y sus bordes, más o menos estirados en apéndices, acaban libremente entre los fascículos. Las células, profundamente situadas en el interior del haz secundario, pueden poseer dos y más crestas de impresión (fig. 187, A).

Para formar idea de la verdadera disposición de las células, es preciso estudiar comparativamente los cortes longitudinales

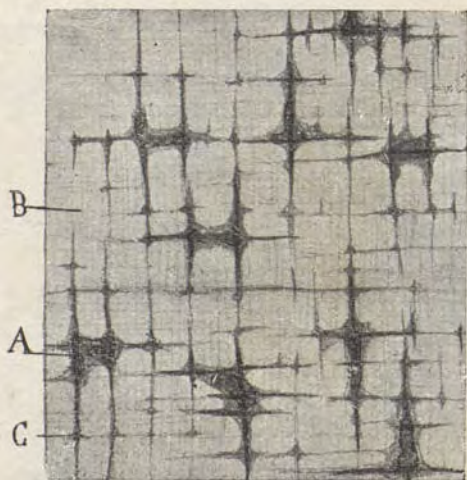


Fig. 187. — Trozo de la aponeurosis femoral de la rana, visto de plano y coloreada por la hematoxilina. A, cresta nuclear; B, haz conectivo; C, expansión celular con ramas en ángulo recto.

y transversales de un tendón. En los longitudinales tales corpúsculos afectan forma de laminillas, provistas de uno o más espesamientos protoplásmicos lineales, que ocupan la misma posición en toda la fila celular. Nótese que muchas células se tocan por sus cabos, mostrando una verdadera articulación transversal (fig. 185). No es raro hallar parejas con sus núcleos próximos a la superficie de contacto, disposición reveladora de que ambos elementos proceden de la segmentación de un corpúsculo progenitor (fig. 185). Pero la palidez excesiva del contorno lateral del protoplasma impide apreciar con certeza la

extensión de las expansiones celulares y la forma real del corpúsculo tendinoso. Esta forma se revela muy bien en los cortes transversales (fig. 186, B). En ellos se nota que dicho corpúsculo exhibe varias prolongaciones laminares divergentes (tres, cuatro o más), que rodean los hacecillos, llegando a menudo a tocar los apéndices de los vecinos elementos. El núcleo muestra a menudo sección triangular y aun disposiciones lobuladas para acomodarse a los intersticios interfasciculares. En fin, un líquido plasmático poco abundante rellena estos intersticios. Células cebadas y cianófilas no aparecen.

Fascículos primarios y secundarios.

Los haces entre los cuales se alínean las células corresponden exactamente a los hacecillos del tejido conectivo laxo y toman el nombre de *fascículos primarios* (fig. 185, b).

Los fascículos primarios se reúnen en un grupo más o menos numeroso, individualizados y protegidos por una cubierta endotelial, constituida por células poligonales laminares, análogas a las de las serosas y fácilmente revelables por el nitrato de plata (figuras 186 y 188, A). Tales son los *fascículos secundarios*. Esta cubierta endotelial, bien perceptible en los finos tendones de la rana y del ratón, nos parece faltar en los haces secundarios de los recios tendones de los mamíferos. En éstos la individualización se efectúa a favor de tabiques separatorios de tejido conectivo laxo.

Por último, la agrupación de varios haces secundarios da origen al *tendón* o *ligamento* propiamente dicho, que a su vez está rodeado por una túnica de tejido conjuntivo laxo, rico en

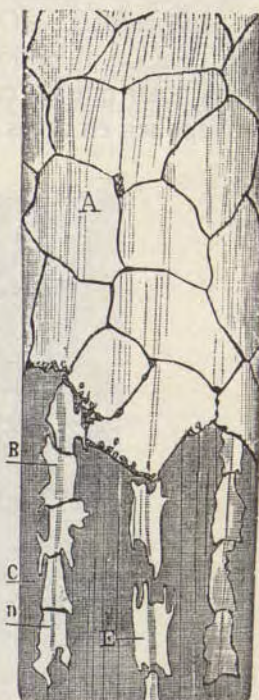


Fig. 188. — Haz secundario de los tendones de la cola de ratón. Coloración por el nitrato de plata. A, células endoteliales; B, células dispuestas en serie; C, haz conectivo coloreado en castaño por el reactivo; D, cresta de impresión de las células; E, célula suelta.

vasos sanguíneos. Esta cubierta envía tabiques, provistos también de capilares, al espesor del tendón, es decir, a los huecos resultantes entre los haces secundarios. Semejantes tabiques alojan a veces células cebadas y corpúsculos cianófilos.

Aponeurosis. — Ofrecen algunas diferencias estructurales con relación al tendón. Por lo que hace a los fascículos, importa notar que no marchan en una misma dirección, sino que se disponen en capas alternadas y entrecruzadas en ángulo rec-

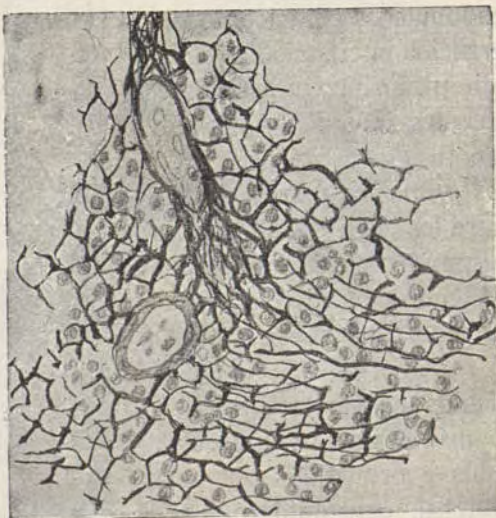


Fig. 189. — Haces conectivos del corpúsculo de Malpigio del bazo.
(Proceder de Achúcarro.)

to. Como mostramos en la figura 187, que representa el objeto clásico de las observaciones de Ranvier (la aponeurosis femoral de la rana) a través de un primer plano de haces longitudinales, vislúmbrase otro plano profundo de fascículos transversales.

Tocante a las células, repárese que, en vez de formar series, se diseminan irregularmente entre los planos de hacecillos, afectando forma estrellada y expansiones dicotomizadas en ángulo recto (fig. 187, A). Esta manera de ramificación repre-

senta una acomodación a la dirección de los intersticios de ambos planos fasciculares limítrofes. Adviértanse, además, las crestas de impresión, a menudo cruzadas en ángulo recto; mostradas por las caras de la célula, así como por los espesamientos de las expansiones. En fin, llaman también la atención las deformaciones del núcleo, que se dobla y retuerce, presentando a veces lóbulos y verdaderas crestas para adaptarse a los espacios interfasciculares. En torno de la aponeurosis yace,

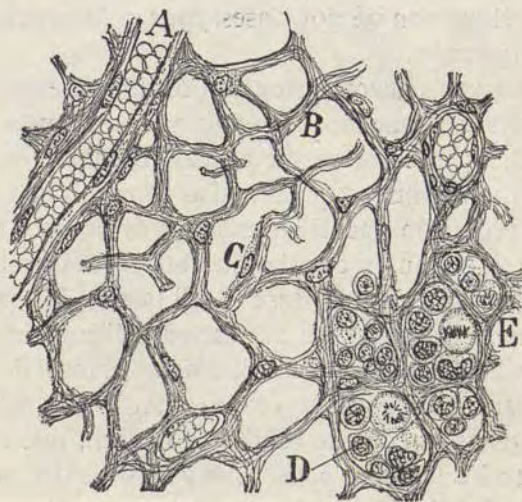


Fig. 190. — Tejido citógeno de un ganglio linfático. Las células de las mallas han sido desprendidas por el pincel. A, capilar sanguíneo; B, haces colágenos finos; C, célula conectiva vista de borde; D, células linfáticas o leucoblastos alojados en las mallas de la red.

como en derredor del tendón y del ligamento, una cubierta de tejido conectivo laxo.

Tejido conjuntivo citógeno. — Reside esta variedad en los folículos linfáticos de los ganglios, en el bazo, placas de Peyero y órganos linfoides. Consta también de hacecillos y células.

Los *hacecillos* (fig. 190, B) son sumamente finos (de 2 a 3 μ), pálidos y dispuestos en red, cuyas mallas son poligonales, y tan estrechas que en ellas caben solamente tres o cuatro célu-

las. Los filamentos colágenos constitutivos de cada haz, se perciben menos bien que los del tejido conjuntivo laxo, y al nivel de las nudosidades se ven pasar aquéllos de un fascículo a otro, sin nacer ni terminar en ningún punto. Como ya observaron Ranvier y Bizzozero, estos haces son totalmente independientes de las células. En la figura 189, tomada de Achúcarro, mostramos detalles de la forma y dimensión de tales hacecillos (que adquieren color intenso con el proceder del tanino-plata) en la trama de los corpúsculos de Malpigio del bazo. Las células son de dos clases: *fijas* o *laminares* y *leucógenas* o *emigrantes*.

Las *leucógenas* (*leucoblastos* de Lœwit) son esféricas o poliédricas, alcanzan tamaños diversos y muestran, a menudo, fases mitóticas. Ocupan estas células, reunidas en paquetes apretados, todo el hueco de las mallas conjuntivas, y en cuanto acaban su evolución ganan los espacios cavernosos recorridos por la linfa, y entran en circulación convertidas en leucocitos.

Las *fijas* o *sedentarias* (fig. 190, C) poseen forma de laminillas tenues, portadoras de un núcleo; hállanse íntimamente adheridas a los hacecillos, particularmente al nivel de las nudosidades. (Para más detalles, véanse *ganglios linfáticos*.) Las masas citógenas carecen de células de Ehrlich, que moran, sin embargo, en los tabiques conectivos y cápsula del ganglio.

— **Variedad reticular.** — Aparte la trama colágena común, formada de recios haces, coloreables por las anilinas ácidas, encuéntrase en ciertos órganos musculares y glandulares una urdimbre delicadísima peri o intercelular, compuesta de hebras y hacecillos sutilísimos, organizados en retículo de angostas mallas, poco o nada coloreable por las anilinas ácidas y singularmente ávido de la plata coloidal. Semejante trama aparece en el dermis de la mucosa intestinal, en los intersticios de los lobulillos hepáticos, en torno de las fibras cardíacas (Achúcarro y Calandre), en la glándula pineal, en la adventicia de los capilares cerebrales, en los espacios interlobulares del riñón, en la glándula suprarrenal, médula del hueso y otros muchos órganos. Como ejemplo de esta delicada malla inter o pericelular, mostramos en la figura 191 el retículo que Achúcarro,

confirmando y ampliando la descripción de Mall, ha logrado impregnar en los lobulillos hepáticos.

En estos últimos años se ha hecho un estudio cuidadoso del tejido reticulado, habiéndose demostrado que sus fascículos, aunque respondan a los caracteres esenciales de los colágenos ordinarios, poseen algunos atributos que le son propios. Como Siegfried ha hecho notar, la substancia de que se componen (*reticulina* de este autor) no da gelatina por la cocción,



Fig. 191. — Trozo de un lobulillo hepático del hombre. Nótese entre las células glandulares y en torno de vasos una urdimbre de fibras finas anastomosadas. (Dibujo y preparación de Achúcarro. Proceder al tanino y plata amoniacal.)

se disuelve en caliente por el agua alcalinizada y resiste a la digestión péptica y trípica. Las especiales aptitudes tintóreas de dichos fascículos han sido reveladas por Mall, que los ha coloreado por un método especial, tanto en los ganglios linfáticos como en el bazo, riñones, vesículas pulmonares, mucosa intestinal, etc., demostrando así que las citadas redes de hilos y finos fascículos hallados en el tejido citógeno no son exclusivas de éste, sino que se las encuentra, con importantes variantes, en el dermis de las mucosas y en la trama intersticial de los paránquimas glandulares.

Los resultados de las investigaciones de Mall y Siegfried han sido comprobados por nosotros a favor de una fórmula especial del método del nitrato de plata reducido (fijación en formol solo o en la mezcla de formol-acetona, seguida de endurecimiento en el alcohol amoniacal). En presencia

de la plata coloidal, los haces del tejido citógeno se tiñen en pardo rojo, casi negro, mostrando redes de gran complicación y finura; mientras que los manojos conectivos ordinarios apenas muestran apetencia por el depósito metálico, presentándose de color amarillento. También algunas fórmulas de Río-Hortega (variantes del método de Achúcarro) impregnan intensamente estos haces de reticulina.

Esta propiedad del tejido reticular de reaccionar, de un modo especial, con la plata coloidal, ha sido comprobada estos últimos años por C. Ciaccio (1908), que ha estudiado la trama reticular del bazo; por Alagna (1908), que ha explorado las tonsilas; por Balabio (1908), cuyas investigaciones han recaído en los ganglios linfáticos, y sobre todo por Achúcarro (1912), Río-Hortega (1918) y P. Ramón Vinós (1923), que han analizado el tejido reticular, gracias a la exquisita electividad de la técnica empleada (tanino o formol-bromuro y óxido de plata amoniacoal, en gran número de parenquimas glandulares.

Variiedad elástica. — Las fibras elásticas acompañan, según dejamos dicho, al tejido conectivo laxo; pero a veces adquieren tal abundancia y dominan de tal suerte sobre el factor, colágeno asociado, que imprimen carácter especial a la trama. Tal sucede con los ligamentos amarillos intervertebrales y con el llamado *ligamento cervical posterior* o *suspensor* de la cabeza de muchos mamíferos, donde las fibras elásticas alcanzan desusado espesor y constituyen redes notablemente densas. Entre la *variedad conectiva elástica* puede asimismo contarse el tejido de la túnica media de las arterias gruesas, donde, a más de fibras anastomosadas, se contienen series consecutivas de membranas elásticas fenestradas.

Variiedad corneal (fig. 192). — La córnea, membrana transparente del segmento anterior del globo ocular, consta de varias capas, que son de delante a atrás: el *epitelio corneal anterior*, formado de varias hileras de células poliédricas; la *zona conjuntiva*, de textura fibrosa, y la *capa endotelial* o epitelio corneal posterior. La zona más espesa y verdaderamente característica de la córnea es la conjuntiva, cuya estructura vamos a exponer sucintamente (fig. 192, B).

La capa conjuntiva de la córnea encierra las siguientes partes: láminas conectivas, células fijas y emigrantes y lagunas o conductos de Bowman.

Láminas. — La córnea se compone de una serie de láminas

concéntricas, paralelas, cada una de las que resulta del adosamiento de hacecillos conjuntivos finos, de hebras delicadísimas e invisibles en estado fresco. Los cortes anteroposteriores de la córnea permiten reconocer que en cada lámina la orientación de los hacecillos es perpendicular a la de los constitutivos de láminas limítrofes. Fascículos oblicuos cruzan los espacios plasmáticos que separan las láminas, poniendo en comunicación recíproca la trama conectiva de éstas. En la córnea de la rana, como Ranvier ha demostrado, aparecen ciertas fibras perforantes que cruzan perpendicularmente las hojas conectivas, asegurando su cohesión.

Conductos de Bowman. — Cuando se inyectan con aire o azul de Prusia los espacios separatorios de las laminitas, se ve que éstos forman una vasta red de anchos y cavernosos trabéculas, por donde circula ampliamente el plasma. Semejantes huecos han tomado el nombre de conductos de Bowman, y se consideran homólogos de las lagunas del tejido conectivo. Los conductos de un espacio interlaminar comunican, a favor de aberturas labradas en las láminas, con los situados en planos más posteriores o anteriores.

Células fijas. — Son unos corpúsculos estrellados, aplastados de delante a atrás, situados entre las láminas conjuntivas, precisamente en las amplias confluencias de los conductos de Bowman. De sus caras brotan crestas de impresión, que se ajustan a los intersticios de las láminas limítrofes, y de sus bordes nacen numerosas expansiones, ramificadas en ángulo recto

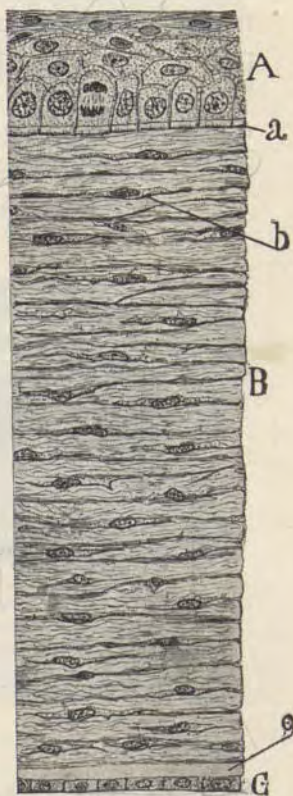


Fig. 192. — Corte perpendicular de la córnea del conejo. A, capa epitelial anterior; B, capa conectiva; C, capa endotelial o membrana de Descemet; a, chapa basal del epitelio; b, células corneales vistas de canto; c, membrana basal posterior.

y anastomosadas con las de corpúsculos vecinos (fig. 193). Como los hacecillos de cada lámina son perpendiculares a los de la vecina, las crestas de impresión de los corpúsculos fijos tienen también en las caras de éstos direcciones cruzadas, como puede verse en la figura 193. Dichas crestas pueden brotar hasta de los mismos apéndices ramificados.

En estado fresco son invisibles las células de la córnea: el carmín denuncia sus núcleos, pero sólo el cloruro de oro y



Fig. 193. — Células fijas de la córnea de la rana coloreadas por el cloruro de oro.

nitrate de plata ponen de manifiesto el protoplasma y sus ramificadas expansiones; el cloruro de oro impregna el cuerpo celular de violado intenso (*imagen positiva*), mientras que el nitrate de plata tiñe exclusivamente el fondo conjuntivo, reservando en blanco el protoplasma y todos sus apéndices (*imagen negativa*). También el nitrate de plata reducido da una excelente imagen positiva de las células, que se muestran teñidas en café más o menos obscuro. En algunos animales, el gato, por ejemplo, las células corneales se tocan por sus apéndices o por sus cuerpos, formándose articulaciones bien visibles en los preparados del nitrate de plata (fig. 194, *c*). En fin, el método del formol-urano (impregnación argéntica) revela en un

lado del protoplasma un aparato reticular de Golgi bien desarrollado, primeramente descrito por Deineka (fig. 195).

Células emigrantes. — Cuando se examina en fresco, y por su cara posterior, la córnea de la rana, no tardan en advertirse unos corpúsculos irregulares, a menudo alargados, con numerosas expansiones pálidas, que no son otra cosa que leucocitos emigrados. Casi todos ellos pertenecen a la variedad de núcleo con gibosidades o de núcleo múltiple; y en las lagunas corneales donde circulan, muévense muy activamente, pudiendo sorprenderse cómo, por virtud de sus contracciones amiboides, se estiran y deforman, embutiéndose en resquicios estrechísimos, para pasar de un espacio interlaminar a otro. Las células conectivas fijas no son visibles en la córnea viva, y no cabe, por consiguiente, confundirlas con las emigrantes.

Como las observaciones de C. Calleja han puesto de manifiesto, la trama principal de la córnea no posee células de Ehrlich; sólo se encuentran en la periferia de dicho órgano, en su unión con la esclerótica.

— **Variedad membranosa o areolar.** — Así se llama el tejido conectivo laxo, cuando sus haces se adosan para formar membranas delgadas revestidas por endotelio.

De esta variedad están construídos los repliegues de las serosas, y particularmente el mesenterio y el epiplón (véase más adelante el *tejido seroso*).

Propiedades químicas del tejido conjuntivo. — Los hacillos conjuntivos están formados principalmente por la *colágena*, substancia insoluble en agua y alcohol, que se hincha en el ácido acético, se disuelve en caliente en los álcalis, se digiere por la pepsina y ácido hidroclicórico, pero no por la tripsina. La ebullición prolongada la convierte en gelatina. Las sales metá-

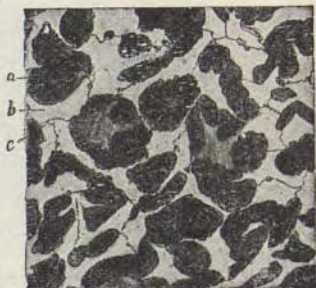


Fig. 194. — Células de la córnea del gato coloreadas por el nitrato de plata (imagen negativa). *a*, substancia fundamental; *b*, célula; *c*, punto de contacto entre dos células.

licas y el tanino endurecen y encogen la colágena, formando sustancias imputrescibles. Sobre esta propiedad se funda la industria del curtido de las pieles. Los haces conectivos son insolubles en agua, alcohol, líquidos salinos, ácidos y álcalis diluidos. En presencia de las anilinas ácidas (fuchina ácida, eosina, orange, etc.) se colorean intensamente. Los haces conectivos jóvenes tíñense menos intensamente por los colorantes ácidos.



Fig. 195. — Dos células fijas de la córnea del caballo, examinadas de plano. *a*, *b*, aparato reticular de Golgi situado en la acumulación máxima del protoplasma. (Tomada de Deineka.)

Las fibras elásticas constan de *elastina*, substancia que les presta su gran resistencia a los ácidos y álcalis. Esta materia es un producto albuminoide, puesto que da la reacción xantoproteica y la de Millon, y se transforma en peptona (peptona de la elastina) por la digestión artificial. Es insoluble en agua, alcohol y éter; pero los álcalis calentados la disuelven lentamente. La ebullición con los ácidos diluidos la transforma en peptona. El ácido pícrico, algunas anilinas básicas y, sobre todo, el reactivo de Weigert (véase la técnica del tejido conectivo), tiñen intensamente las fibras elásticas.

Propiedades fisiológicas. — La pobreza relativa en células y el predominio notable de la substancia fundamental denotan que el tejido conectivo goza de poca actividad funcio-

nal. Su utilidad orgánica proviene precisamente de su pasividad y de sus propiedades físicas, las cuales (elasticidad, extensibilidad) le prestan condiciones adecuadas para unir y proteger los órganos móviles. Pero el principal papel que desempeña es la absorción de los líquidos nutritivos, para difundirlos hasta los elementos activos de los tejidos con quienes ordinariamente se asocia.

Los elementos fijos parecen tener por principal oficio segregar una materia capaz de convertirse en haces conjuntivos, y acaso también en fibras elásticas.

En cuanto a las células cebadas de Ehrlich, las observaciones de C. Calleja y nuestras permiten suponer que representan glándulas monocelulares errantes, destinadas a segregar algún producto especial, soluble en el plasma intersticial donde moran las células fijas, y dotado, acaso, ora de propiedades tróficas, ora de poder bactericida.

Tocante al papel desempeñado por los corpúsculos pigmentarios nada se sabe, salvo la propiedad defensiva del *mimetismo cromático* (camaleón, rana, axolote, etc.) de que hemos tratado más atrás, propiedad sólo reconocible en los vertebrados inferiores. De los cromatóforos de los mamíferos, no más los de la retina han conservado la virtud de transformarse bajo la influencia de la luz.

Histogenesis. — El tejido conjuntivo pasa por varias fases evolutivas, que pueden calificarse: *Tejido conectivo primordial*, *tejido conectivo mucoso*, *tejido conectivo joven* y *tejido conjuntivo adulto*.

1.º *Tejido conectivo primordial.* — En las primeras diferenciaciones conjuntivas del mesodermo, así como en los rudimentos de huesos y cartílagos, la trama histológica es extremadamente simple, reduciéndose a células estrelladas o poliédricas con algún apéndice corto, de núcleo relativamente voluminoso, y separadas por escasa cantidad de materia fundamental hialina, sin señales de mucina ni de colágena. Las mitosis celulares son abundantes (fig. 191, a, b). En fin, en muchas células las expansiones crecen, se ramifican en ángulo recto y se anastomosan con las de vecinos elementos (fig. 196, A). En

esta fase, el protoplasma encierra grumos basiófilos y acidófilos (Maximow, 1908). Por este tiempo (embrión de pollo del segundo al cuarto día) se diferenciarían en el mesodermo las primeras células emigrantes (células de Saxer). Según Maximow (1908), éstas harían su aparición en el embrión de conejo al noveno día.

2.º *Tejido conjuntivo mucoso o mesenquima*. — Más adelante, la substancia intersticial se acrecienta, y en ella aparece la mucina. Las células adquieren mayor tamaño, se apartan unas de otras y afectan forma en huso o estrellada, cuyas largas ex-

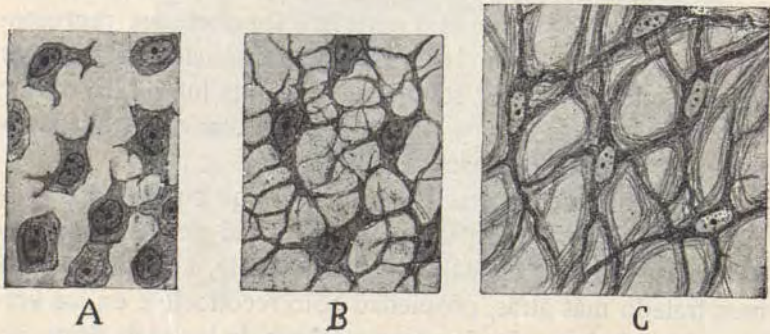


Fig. 196. — Fases esquemáticas de la evolución del tejido conectivo. A tejido conectivo primordial; B, tejido conectivo reticulado o mucoso; C, tejido conectivo joven.

pansiones protoplásmicas se ramifican repetidamente, dando origen a una red complicada (fig. 196, B).

Recientemente ha demostrado Tello (1921) en las células conectivas de los embriones de ratón, conejo y gato durante esta fase y el comienzo de la siguiente, la presencia de un retículo, semejante al que describiremos después en las células nerviosas, formado por fibrillas que atraen la plata reducida después de la fijación en la piridina al 50 por 100. Las fibrillas de este retículo, que Tello llama *inofibrillas*, se continúan por las expansiones, pasando de una célula a otra por las expansiones anastomosadas, o se terminan por puntas o mazas reticuladas en los cabos libres. Las figuras 198 y 199 tomadas del trabajo de Tello dan clara idea de su aspecto general la pri-

mera, y de la disposición en el comienzo de la formación de una aponeurosis la segunda.

3.º *Tejido conjuntivo joven*. — Alrededor de las células y de sus largos apéndices anastomosados depositanse delgados hacesillos conectivos, que aumentan sucesivamente en espesor y se continúan entre sí formando redes y plexos difusos. Las lagunas conectivas se estrechan a consecuencia del crecimiento



Fig. 197. — Células conectivas del mesoderma de un embrión de conejo de 8 milímetros. A, célula conjuntiva estrellada; a, b, otras en vías de mitosis; c, hematíe nucleado en vías de proliferación.

de los haces y la mucina desaparece, siendo sustituida por un líquido plasmático. Ulteriormente surgen en la materia hialina intersticial, y en virtud de un mecanismo desconocido, las fibras elásticas. Las células no engendran directamente ni los haces conectivos ni las fibras elásticas; se supone, sin embargo, que no son ajenas a la construcción de unas y otras, pues segregarían una materia que, en presencia del plasma intersticial, se coagularía, ya en hebras colágenas, ya en fibras elásticas. En pro de esta intervención habla el hecho de aparecer siempre los haces conectivos junto a los corpúsculos embri-

narios, y precisamente en la misma dirección de los apéndices protoplásmicos.

Esta fase evolutiva es la que se muestra en el cordón um-



Fig. 198. — Inofibrillas en las células pelvianas de un embrión de ratón de 13 mm. A, células fusiformes; B, células estrelladas. (Tomada de Tello.)

bilical, donde las redes celulares están revestidas por depósitos de hacillos, conservándose todavía vastas lagunas plasmáticas, ricas en mucina (fig. 196, C).

La opinión que dejamos consignada acerca del modo de formación de los haces conectivos, es la de Ranvier, confirmada por numerosos autores.

Existen, no obstante, disidentes. Así, Flemming (1891) supuso que las fibrillas aparecen primeramente dentro del protoplasma celular, en la región cortical del fibroblasto, dictamen aceptado, con ligeras variantes, por Hansen (1899). Para Meves (1910) y Duesberg (1912), las fibrillas colágenas, como las miofibrillas y neurofibrillas, resultarían de la trans-

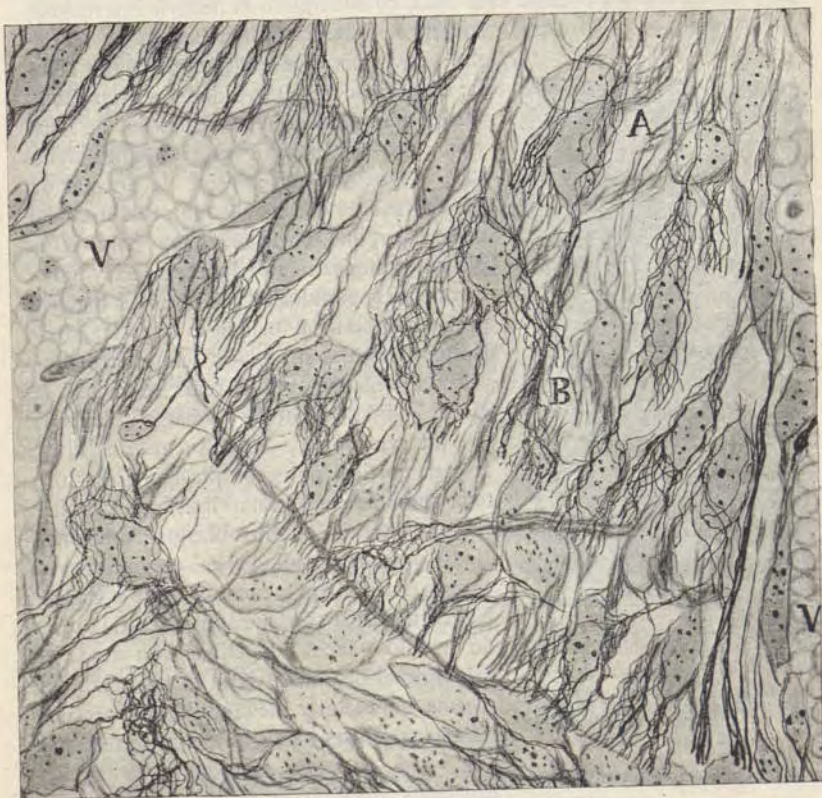


Fig. 199. — Inofibrillas en las células conectivas de una aponeurosis pelviana del embrión de ratón de 17 mm. A, B y C, distintos estratos; V, vasos. (Tomada de Tello.)

formación y emancipación ulterior de las mitocondrias. Por su parte, Heidenhain (1911), fiel en principio a la concepción de Flemming, imagina las fibras colágenas elaboradas en la corteza protoplásmica del fibroblasto, al modo como las fibras neuróglícas en la concepción de Held; pero haciéndose libres después y creciendo independientemente. Una transición

entre ambos estados, intracelular y emancipado, representarían los filamentos y redes del tejido reticular, los cuales hallaríanse sumergidos en pleno protoplasma. También Ranke (1913) ha defendido para esta modalidad conectiva, coloreable por el método de Achúcarro, la concepción *syncytial* de la neuroglia de Held, admitiendo que las hebras anastomósicas hállanse empotradas en expansiones celulares. Mall extremó algunos años antes, si cabe, todavía esta tesis, considerando la materia intercelular



Fig. 200. — Mitocondrias y condriocitos del tejido conectivo embrionario (mesodermo) de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. A, aparato de Golgi del ectodermo; B, mitocondrias de los fibroblastos.

hialina en que se diferencian las fibras como substancia viva continuada con la célula; es decir, como un verdadero *exoplasma*. Otros sabios asienten a la doctrina de Ranvier, pero puntualizan mejor algunos detalles. Laguësse supone que la formación fibrilar sobreviene en el seno de un material pericelular, que cabría considerar como citoplasma químicamente diferenciado y ulteriormente separado. Para Disse, esta materia pericelular sería al principio amorfa, fibrilándose después sin intervención del protoplasma. Schaffer y Dubreuil sostienen la creación intercelular de los haces colágenos sin intervención de las mitocondrias ni de la capa cortical del protoplasma. Río-Hortega se inclina a estimar las fibras primitivas que rodean los fibroblastos embrionarios como el resultado del crecimiento y transformación de los condriomitos (1918). Nageotte (1918) sostiene audazmente la tesis de que los haces conectivos son desde el principio el producto de la coagulación del plasma intercelular, negando toda intervención a las células y a las mitocondrias. Según este sabio, hasta los hilos de fibrina de los exudados originarían haces conectivos. En

fin, Tello (1921) señala la coincidencia de la aparición de las fibras colágenas, con la desaparición, al menos aparente, del retículo argentófilo, así como las semejanzas en la distribución de las inofibrillas y haces colágenos (fig. 199).

Conjetura de las inobionas. — La singular propiedad, poseída en estado normal por las fibras colágenas y elásticas, de crecer y ramificarse indefinidamente con absoluta independencia de las células conectivas, así como los curiosos hechos de crecimiento patológico y hasta de aislamiento o segregación colonial observados en las fibras adventicias de los vasos del cerebro y otros órganos por Achúcarro y Río-Hortega, con ayuda del mé-

todo del tanino y plata amoniacal, plantean un problema para el cual propusimos nosotros en 1913 (1) una solución de tanteo o conjetura de trabajo.

Cabe imaginar — discurriamos — que durante la época embrionaria emigren del protoplasma del corpúsculo conectivo ciertos bióforos o unidades ultramicroscópicas (que podrían designarse *inobionas*), las cuales, libres en los espacios intercelulares o materias amorfas, gozarían de vida simplicísima y puramente vegetativa. Entre sus atributos esenciales contaríanse: la síntesis de principios inmediatos específicos (*colágena*, *elastina*, *osteína*, etc.) que agregarían íntimamente a su propia substancia; la multiplicación por división durante la ontogenia del organismo y, en fin, su modelamiento en edificios lineales invasores, anastomasados, en virtud, quizá, del homotropismo recíproco de dichas unidades. Llegada la fase de haz adulto, las *inobionas* degenerarían, transformando su quimismo y acaso pereciendo definitivamente. Juzgamos, pues, probable que el fascículo conectivo adulto carece de *inobionas*; sería una substancia muerta tolerada por los elementos conectivos.

Excusado es decir que las *inobionas* no tienen nada que ver con las mitocondrias de Benda ni con los *bioblastos* de Altmann, unidades microscópicas, de las cuales nadie ha podido hasta hoy demostrar indiscutiblemente la capacidad de emigrar del protoplasma y de elaborar materias amorfas.

Aparición de las mitocondrias. — Preséntanse desde muy temprano en el embrión de pollo (desde las veinticuatro o treinta y seis horas de la incubación), según han probado las investigaciones de Meves y Duesberg, afectando forma de bastoncitos finos, frecuentemente doblados, y esparcidos irregularmente por el soma y expansiones (fig. 200, B).

En fin, el aparato de Golgi se modela también precozmente conforme mostramos en la figura 201.

4.º *Tejido conjuntivo adulto.* — Las células dejan de proliferar, adquiriendo formas laminares y retrayendo muchas de sus expansiones. La formación creciente de los haces y el espesamiento de éstos separa los cuerpos celulares y disminuye, en consecuencia, el número relativo de corpúsculos. Las lagunas conjuntivas quedan reducidas a espacios virtuales, lubricados por el plasma linfático.

(1) Cajal: «Discurso inaugural de la Asociación española para el Progreso de las Ciencias.» Madrid, 1913.

Del origen de las células cebadas, cianófilas, pigmentarias y clasmotocitos se sabe poco de positivo. Verosímil parece que representen diferenciaciones del corpúsculo emigrante primitivo de Saxer. Para Maximow, las células cebadas y clasmotocitos serían el resultado de la evolución de sus linfocitos.

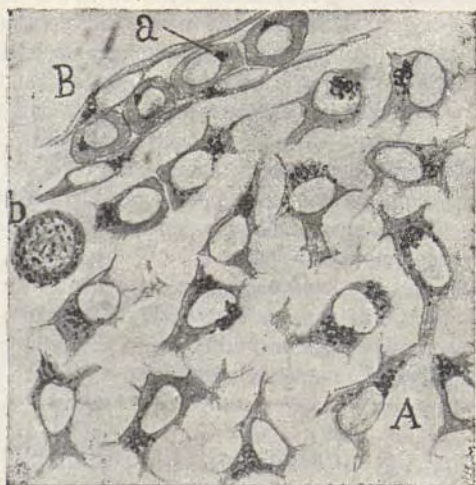


Fig. 201. — Aparato reticular de Golgi en las células conectivas del mesodermo. Embrión de pollo al quinto día de incubación. A, fibroblastos con aparato concentrado en un ángulo protoplásmico; B, vaso sanguíneo, cuyos hematíes exhiben (a), pequeño aparato reticular.

Preparación del tejido conjuntivo. — a) *Fascículos conectivos y células.* — El mejor método de demostración consiste en examinar un trozo de la bola de edema determinada en el tejido conjuntivo subcutáneo de un animal (perro, conejo, conejillo indiano, etc.), mediante la inyección de un líquido colorado e indiferente. El agente que nosotros utilizamos con este objeto es el líquido salino indiferente (sal al 0,75 por 100), en donde se han disuelto, hasta obtener un color intenso, algunos trozos de violado de metilo. Este licor, que no altera en lo más mínimo las células, presta al protoplasma tono violeta claro, colora en violado intenso los núcleos y fibras elásticas y tiñe apenas los fascículos conectivos. La observación debe efectuarse en el mismo vehículo inyectado, pues la glicerina o el alcohol roban el color al preparado, dándole demasiada transparencia.

A fin de ejecutar preparaciones definitivas, podrán ensayarse las inyecciones de ácido ósmico o nitrato de plata. Las del nitrato (al 1 por 300

ó 500) señalan con toda corrección los límites protoplásmicos y los fascículos, pudiendo teñirse los núcleos subsiguientemente con el picrocarmínato o hematoxilina; pero tienen el inconveniente de retraer las expansiones celulares y de sembrar la preparación de precipitaciones argentícas negras.

Por esto preferimos nosotros la fijación con ácido ósmico. El procedimiento consiste en inyectar en el tejido subcutáneo de un perro, conejo o conejillo indiano, una solución de aquel agente al 1 por 100. De la infiltración edematosa resultante se toma una pequeña porción con las tijeras y se coloca sobre un portaobjetos. Acto continuo se lubrica el preparado con picrocarmínato o hematoxilina y se cubre con una laminilla. A las veinticuatro horas de coloración (ésta se efectuará en cámara húmeda) se deslizará suavemente el cubreobjetos y se depositará en el tejido una gota de glicerina.

La demostración de las relaciones de las células con los haces conectivos y el estudio de la disposición general de éstos, exigen el método de los cortes. Trozos de piel o de mucosas se induran en alcohol, se incluyen en celoidina y se tiñen por el carmín, hematoxilina o las anilinas básicas. Para hacer resaltar los fascículos, son de recomendar el método de Gieson, nuestro procedimiento de triple coloración con la fuchina y el picro-indígo-carmín, el de azul de anilina orange de Mallory, Azan de Heidenhain, y los de Achúcarro y Río-Hortega (véase *Técnica general*).

Heidenhain ha dado asimismo (1908) una fórmula excelente para el teñido de los haces colágenos:

1.º Coloración nuclear en hematoxilina Delafiel (previa fijación de las piezas en sublimado, etc.).

2.º Lavado en agua y alcohol de 96º.

3.º Inmersión de los cortes en alcohol amoniacal (un centímetro de amoníaco por un litro de alcohol).

4.º Coloración en la solución alcohólica de *cromotrope 2, R*, o en la de *cromotrope 2, B*.

5.º Lavado en alcohol absoluto, xilol, etc.

El *cromotrope 2, R*, y *2, B* tiñen los haces conectivos en rojo anaranjado; el *cromotrope 6, B*, y *7, B* los impregna en rojo rubí que tira algo a azulado.

Fibras elásticas. — La demostración de las fibras elásticas y de las fibras anulares de los haces, se efectuará con la mayor facilidad en los preparados teñidos con carmín, sometiéndolos por veinticuatro o cuarenta y ocho horas a la acción de glicerina que contenga 1 por 100 de ácido acético. Apparently, los anillos de Henle, que se presentan también muchas veces en espiral, se tiñen por el carmín bajo la acción de los ácidos. Pero un examen atento, practicado con el objetivo 1,30 Zeiss y aparato *Abbe* sin diafragma, permite reconocer que el color reside por debajo de los anillos y resulta de la condensación sufrida por el fascículo al nivel de aquéllos.

Donde la estrangulación es nula o poco aparente, las fibras se muestran siempre incoloras.

También se ha preconizado la orceína para teñir las fibras elásticas. Los cortes deberán permanecer de quince minutos a una hora en la estufa y en un líquido compuesto de: orceína, 1; alcohol, 100; ácido clorhídrico, 1. Diferenciación en alcohol de 70 por 100 o alcohol clorhídrico (alcohol 90 por 100, 100; ácido clorhídrico, 0,5; agua, 25). Deshidratación en alcohol y montaje en damar. Las fibras elásticas adquieren un tono purpúreo moreno, resaltando bien del tejido conjetivo que se colora flojamente.

P. Röthig (1900) ha propuesto un nuevo producto, la *kresofuchina*, para la coloración de las fibras elásticas. Los tejidos deben preferentemente fijarse en una solución débilmente alcohólica de sublimado (solución concentrada acuosa de sublimado, nueve partes; alcohol de 40°, una).

Los cortes (tras la inclusión en celoidina o parafina) se tiñen en un líquido compuesto de

| | |
|---|-----------|
| Solución madre de kresofuchina | 40 cc. |
| Alcohol de 40°. | 24 > |
| Solución concentrada de ácido pícrico | 32 gotas. |

La solución madre a que la fórmula se refiere contiene: kresofuchina, 0,5; alcohol de 40°, 100; ácido clorhídrico, 3.

Después de dos horas de coloración se deshidratan rápidamente, se aclaran en xilol y se montan en damar. El examen micrográfico muestra las fibras elásticas de color azul intenso; ciertas sustancias, como la fundamental cartilaginosa, aparecen de rojo fuerte.

También el método del nitrato de plata reducido colorea las fibras elásticas de negro pardo. Para ello se fijará primeramente por dos días en alcohol amoniacal (alcohol, 50 cc.; amoníaco, 10 gotas), se llevarán las piezas al nitrato de plata, al 1,50 por 100 por cinco días (estufa a 30°) y se operará la reducción en ácido pirogálico con un poco de formol.

Pero el proceder más bello para la demostración de las fibras elásticas es el siguiente, hoy muy en boga por su sencillez: constancia y excelencia de la coloración.

Método de Weigert para las fibras elásticas.

1.º Induración del tejido en alcohol o formol. Celoidina, etc.

2.º Tratamiento de los cortes por veinte minutos en un color formado por precipitación de una solución de fuchina y resorcina por el percloruro de hierro. Esta solución es alcohólica y será añadida de ácido clorhídrico. Como su preparación es engorrosa, lo mejor es hacer uso del *liquido de Weigert*, preparado por Grübler, de Leipzig, y vendido con el nombre de *Weigert's Farblösung für elastische Fasern*.

Este líquido, que es de color violado oscuro, se extiende sobre los cortes previamente adheridos al portaobjetos y enjugados con papel chu-

pón. El colorante debe obrar veinte minutos. Enjúganse otra vez sin lavar y se tratan por el alcohol absoluto, xilol y damar. Según Tello, no hay inconveniente en teñir y decolorar en un pocillo de porcelana, como se hace con los procederes ordinarios de las anilinas.

Las fibras elásticas aparecen teñidas de violado azul, casi negro. Conviene adicionar una coloración de fondo para hacer resaltar los núcleos (método tricrómico, etc.). El proceder de Weigert da buenos resultados, tanto en los cortes de la celoidina como en los obtenidos con el microtomo de congelación (1).

Coloración de las células cebadas de Ehrlich. — Se teñirán en los cortes, para lo que se preferirá la tionina. Secciones finas de tejido englobadas en celoidina se sumergen, por algunos minutos, en solución saturada acuosa de tionina; luego se decoloran en el alcohol absoluto hasta que resulten de violado claro, y, por último, se llevan al xilol y al bálsamo. Si la decoloración no ha sido excesiva, los núcleos quedarán de azul oscuro, los haces conectivos de azul pálido y las granulaciones de las células cebadas de rojo heliotropo, fenómeno de metacromasia que también se observa en la mucina, en la materia fundamental cortilagínosa y en la túnica media de las arterias.

Existen otros métodos de coloración de las células cebadas. Uno de ellos, usado por Arnold, Renaut, etc., consiste en tratar el tejido conectivo de un animal recién sacrificado con una solución de rojo neutro en agua salada al 0,75 por 100. Este proceder, que se llama *coloración supravital*, para diferenciarla de la *coloración vital*, o sea la obtenida por inyección en vivo de la materia colorante, tiñe muy bien las granulaciones de las células cebadas, así como las esférulas de los clasmotocitos. El examen debe practicarse en fresco, en el mismo líquido colorante, que será muy diluido (0,1 a 0,5 por 100).

También las combinaciones de varios colores de anilina se aplican con

(1) Quien desee preparar por sí mismo el *líquido de Weigert*, procederá del siguiente modo:

Hágase desde luego esta solución:

| | |
|---|---------|
| Fuchina básica | 1 g. |
| Agua destilada | 100 cc. |
| Caliéntese el líquido y en plena ebullición se añadirá: | |
| Resorcina | 2 g. |
| Agua destilada | 100 cc. |
| Vuelta a hervir en cápsula de porcelana y adición de | |
| Percloruro de hierro al 30 por 100 | 25 cc. |

Fórmase abundante precipitado. Una vez enfriado, fíltrese el líquido, aprovechándose sólo la materia detenida en el papel. El depósito, junto con el filtro, viértese en cápsula de porcelana; añádanse después 200 cc. de alcohol absoluto, y vuélvase a elevar la temperatura a 100°. Se deja enfriar la mezcla, compensando el alcohol evaporado hasta completar los 200 centímetros cúbicos, y, en fin, se acaba la operación añadiendo 4 cc. de ácido clorhídrico. El licor resultante consérvese bien dos o tres meses.

éxito. Una de las fórmulas más usadas hoy es el azul policrómico de Unna, reactivo que tiene la ventaja de teñir bien a un tiempo las células cebadas, las células cianófilas y los corpúsculos fijos.

He aquí el *modus operandi* del azul policrómico.

1.º Fijación de las piezas en alcohol. Los cortes se sumergen, desde un cuarto de hora a un día, en el azul policrómico de Unna (preparado por Grübler).

2.º Lavado rápido en agua.

3.º Decoloración, por cinco a diez minutos, en solución al 25 por 100 en agua, del licor glicero-etéreo (Glycerinäthermischung) de Unna. Este líquido se expende por la casa Grübler, de Leipzig.

4.º Lavado abundante en agua.

5.º Deshidratación y decoloración, durante algunos segundos, en alcohol absoluto. Esencia de bergamota y bálsamo.

En vez de diferenciar en la solución glicerino-etérea puede usarse con igual fin la solución alcohólica al 0,25 por 100 de orceína neutra (también preparada por Glüber).

Células fíanófilas. — Coloréanse bien por cualquier anilina básica, singularmente por la tiomina, azul de toluidina y azul de metileno. Nuestro método tricrómico (a base de fuchina) da también buenos resultados, a condición de no extremar la decoloración en alcohol. Los métodos de Giemsa y May-Grünwald, citados con ocasión de la preparación de la sangre, son asimismo excelentes, tanto para la coloración de estos corpúsculos como para la de las células cebadas.

Un proceder muy usado también para el estudio de tales células es el llamado de Unna-Pappenheim.

He aquí sus operaciones:

1.ª Los cortes hechos en piezas parafinadas o celoidinadas, previamente fijadas en alcohol, se sumergen por cinco a diez minutos en el *licor de Unna-Pappenheim* (mezcla de ácido fénico, pironina y azul de metileno) (1). Lo mejor es poner el líquido con los cortes en tubo de ensayo y calentar a 30 ó 40º unos minutos (estufa o baño maría).

2.ª Enfriamiento rápido del tubo en agua fría.

3.ª Lavado de los cortes en agua, donde se agitarán a favor de una aguja de platino o delgado palillo.

4.ª Decoloración y deshidratación rápida durante algunos segundos en alcohol absoluto. Aclaramiento en bergamota, goma damar o bálsamo.

Si la coloración ha salido bien, el protoplasma de las células cianófilas se mostrará rojo (por la pironina) y los núcleos, verdes. Las células cebadas muestran sus granulaciones en rojo fuerte.

b) *Tejido tendinoso.* — La simple disociación de un trozo de tendón

(1) Lo proporciona, como todas las soluciones colorantes complejas, la casa Grübler, de Leipzig.

de la cola del ratón o de los dedos de la rana en un excipiente inofensivo (licor sódico-metilico), nos dará ya idea clara de la forma, situación y conexiones de las células y fascículos. El desprendimiento de los tendoncitos de la cola del ratón es una maniobra que conviene detallar. Despellejada la cola, aparecerán a la vista las vértebras caudales, sus intersticios y las fajas tendinosas nacaradas que las envuelven. Córtense al nivel de una articulación vertebral todas las partes blandas, excepto uno de los tendones. Tomando los dos extremos de la cola se estirará el puente fibroso susodicho y se verá que se prolonga enormemente, descomponiéndose en finísimos haces. Estos son los haces primarios, que se recogerán en portaobjetos, se fijarán en alcohol, se teñirán con hematoxilina y conservarán en glicerina.

Para completar nuestros informes sobre la trama tendinosa, es preciso ejecutar cortes transversales. La induración previa de un tendón en el alcohol y subsiguientemente en celoidina, consentirán la ejecución de cortes suficientemente finos para el examen, los que se tratarán por los procedimientos ordinarios de coloración y conservación.

El endotelio sólo se percibe bien impregnando fascículos frescos de tendón disociado por el nitrato de plata al 1 por 300 ó 500. Los tendones de la cola del ratón son muy apropiados al objeto.

En el estudio de las aponeurosis elegiremos la femoral de la rana, que es sumamente delgada y transparente. Un examen provechoso podrá hacerse ya en fresco tiñendo la membrana, estirada por semidisecación, con una gota de una solución de verde o violeta de metilo acetificados. Los núcleos se tiñen admirablemente, revelándose con sus crestas de impresión y resaltando sobre un fondo casi incoloro. La fijación de la aponeurosis fresca y extendida con alcohol absoluto, su coloración con carmín o hematoxilina y su conservación en glicerina acetificada, nos proporcionarán preparados definitivos.

c) Córnea. — Para comenzar el estudio de la córnea convendrá el examen de cortes anteroposteriores, sumamente delgados, teñidos con carmín, hematoxilina o tionina, obtenidos previo endurecimiento en alcohol y celoidina. Los fascículos conectivos no se perciben bien sino por disociación de la córnea endurecida en ácido crómico, ósmico o bicromato de potasa. En cuanto a las células, conviene examinarlas de plano, previa coloración o impregnación. Los resultados más correctos se obtienen con el nitrato de plata y el cloruro de oro. La nitratación se efectúa pasando un lápiz de nitrato de plata sobre la córnea viva en situación normal. Lavada y separada ésta, se expondrá a la luz en un poco de agua acética, a fin de que el epitelio se reblandezca y pueda después fácilmente desprenderse. Si la nitratación sale bien, deben mostrarse las células blancas sobre fondo castaño.

Otro método, quizá más seguro, consiste en refrescar con un corte tangencial una córnea de mamífero, y tratarla acto continuo con una solu-

ción de nitrato de plata al 1 por 300. La acción subsiguiente de la luz en agua o glicerina, revelará las células con todos sus detalles, incluso el núcleo, que, aunque incoloro, será perceptible si el examen se verifica en el agua.

El cloruro de oro produce imágenes tanto o más demostrativas. El método que mejores resultados nos ha dado es el de Cohmein: inmersión de la córnea fresca en solución de cloruro de oro al 0,5 por 100, hasta que adquiera color amarillo de paja; lavado subsiguiente y reducción al sol en agua con algunas gotas de ácido acético, hasta que la pieza tome color violeta intenso; induración en alcohol y ejecución de cortes ya paralelos, ya anteroposteriores. En éstos cabrá observar, aparte de las células que se mostrarán teñidas de violeta intenso, las terminaciones nerviosas epiteliales.

El método del nitrato de plata reducido da también coloración aceptable de las células corneales, las cuales resaltan en pardo granuloso sobre fondo claro. Todavía mejor se tiñen las células de la esclerótica y las de los tendones. La fórmula preferible es la consignada en el párrafo siguiente:

Tejido reticular y citógeno. — Las finas, hebras y haces de *reticulina* peculiares de los ganglios linfáticos, bazo y demás tramas linfoides, adquieren tono pardo café por el método siguiente:

1.º Las piezas frescas se tratan, de seis a veinticuatro horas, por una solución de formol y acetona a partes iguales.

2.º Lavado en agua corriente durante dos a seis horas.

3.º Inmersión en alcohol de 96º, con gotas de amoníaco (cuatro gotas para 50 cc. de alcohol).

4.º Lavado rápido de las piezas en agua destilada.

5.º Los trozos, que no deben tener más de 2 mm. de espesor, se conservan durante cuatro o cinco días por estufa a 35º, en una solución al 1,5 por 100 de nitrato de plata.

6.º Reducción, por veinticuatro horas, en ácido pirogálico (ácido pirogálico, 1; agua, 100; formol, 5).

7.º Alcohol, celoidina, secciones medianamente finas y bálsamo.

La modificación de nuestro método, propuesta por Levaditti para la coloración del *espirocheto* de la sífilis, proporciona también buenos resultados, según afirman Alagna (1908) y C. Ciaccio (1908), que han impregnado respectivamente la trama reticular de las tonsilas y la del bazo (véase «Técnica», en nuestro libro de *Anatomía patológica*, 5.ª edición).

Un buen método es también el siguiente, de Mall:

1.º Los cortes se someten a la digestión por la pancreatina.

2.º Se agitan y lavan en agua y después se los extiende sobre portaobjetos, donde son enjugados con papel secante, y se abandonan a la desecación.

3.º Se humedecen con este líquido: alcohol absoluto, 150; ácido pírico, 10 g.; agua, 300.

4.º Nueva desecación, después de la cual se tratan los cortes por este

licor: fuchina ácida, 10 g.; alcohol absoluto, 33 cc.; agua, 66. Se vierte el exceso de fuchina.

5.º Tratamiento de los cortes, durante algunos minutos, por una solución de ácido pícrico.

6.º Alcohol absoluto, xilol, bálsamo, etc.

Aunque no da coloración tan intensa como el de Mall, cabe también usar el procedimiento de V. Gieson (véase «Técnica general»), a base de fuchina ácida.

Método de Achúcarro para el teñido argéntico del tejido conectivo reticular (1913). — Aunque ha sido descrito en la parte general, vamos a indicar aquí sus principales operaciones:

1.º Fijado de los órganos en formol al 12 por 100, durante dos o más días.

2.º Cortes de 10 μ en el microtomo de congelación, después del lavado del bloque en agua corriente.

3.º Lavados los cortes en agua destilada, se dividen en dos lotes que se introducen en sendas cápsulas con una solución de tanino saturada en frío. Una de las cápsulas se calentará durante media hora a 55º, y la otra se abandonará a la temperatura de la habitación durante veinticuatro horas.

4.º Los cortes (enfriados los calentados) se tratarán uno a uno del modo siguiente: lavado rápido en agua destilada e introducción en un pocillo de cristal que contenga 20 cc. de agua destilada, adicionada de 10 gotas de la solución de plata amoniacal de Bielschowsky. Los cortes adquieren color amarillento algo moreno, y segundos después se lavan rápidamente en agua destilada y se trasladan al

5.º Formol al 20 por 100, donde se ponen oscuros. Permanecen aquí quince minutos, y después de bien lavados se montan en bálsamo, previa deshidratación y aclaramiento en xilol.

La trama reticular aparecerá teñida en negro o pardo intenso y más vigorosamente que los haces conectivos ordinarios. Los núcleos preséntanse impregnados en azul negro.

Proceder ultrarrápido de Tello (1914). — Este proceder es apropiado para obtener en media hora excelentes preparaciones del conectivo reticular y común de los cadáveres.

1.º Cortes con el microtomo de congelación de órganos frescos recientemente extraídos de cadáveres.

2.º Introdúcense de diez a quince minutos en formol al 20 por 100.

3.º Inmersión, sin lavado preciso, en una disolución de nitrato de plata al 1 y medio por 100, durante diez a quince minutos.

4.º Lavado rápido en dos pocillos con agua destilada, o mejor en uno solo con unas gotas de amoníaco.

5.º En un pocillo que contenga 5 cc. de agua destilada y 15 gotas de la solución del óxido de plata amoniacal de Bielschowsky, abandónanse los cortes de cinco a diez minutos.

6.º Lavado rápido en agua destilada.

7.º Reducción en formol al 20 por 100.

Las fibras colágenas y las de reticulina quedan teñidas exclusivamente de negro o pardo, mientras que las células y demás elementos del tejido permanecen absolutamente incoloros y dispuestos a recibir la acción de los colorantes ordinarios.

Método de Achúcarro modificado por Ranke (1913). — Este autor ha observado que si los bloques de tejido se fijan en alcohol y los cortes se tratan por una solución alcohólica de tanino (en vez de la acuosa usada por Achúcarro), lógranse también buenas impregnaciones de los finos haces y hebras de reticulina de los centros nerviosos y otros órganos. En esta modificación, cuidadosamente estudiada por Del Río-Hortega, se basa el siguiente excelente método:

Método de Achúcarro-Ranke-Del Río:

1.º Cortes de 10 a 15 μ . de espesor se sumergen en solución alcohólica de tanino al 1 por 100, manteniéndolos durante cinco minutos a una temperatura de 50º a 55º (cápsula de porcelana calentada a la lámpara).

2.º Antes que el tanino se enfríe se lavan rápidamente las secciones en agua destilada.

3.º Se introducen sucesivamente en dos o tres vasitos que contengan cada uno 10 cc. de agua destilada y 1 cc. de plata amoniacal de Bielschowsky. Se trasladan sucesivamente las secciones de un vaso a otro hasta que tomen color amarillo pálido.

4.º Se las lleva a un pocillo con agua destilada, hasta que el color amarillo se haya convertido en pardo claro.

5.º Se pasan entonces (previa ligera agitación en agua) a una solución al 20 por 100 de formol, previamente neutralizado con creta.

6.º Lavado en agua, deshidratación, esencia, etc. Los hilos de reticulina se tiñen en pardo obscuro intenso, destacando sobre las demás estructuras incoloras. Los haces colágenos se colorean menos, exhibiendo color rojizo.

Este proceder da muy buenos resultados en piezas fijas y conservadas mucho tiempo en alcohol y hasta en las englobadas en celoidina. Cuando se trate de estas últimas, se extraerá la materia de inclusión con un disolvente (alcohol metílico, mezcla de éter y alcohol, etc.), antes de la acción del tanino.

CAPÍTULO V

TEJIDO ADIPOSEO

Definición. — El *tejido adiposo* o grasiento es una trama de origen mesodérmico, constituida principalmente por células esféricas, provistas de una gota de grasa y separadas a favor de hacecillos conjuntivos.

Existen dos modalidades de tejido adiposo: el *adiposo común* y el *medular de los huesos*.

TEJIDO ADIPOSEO COMÚN

Distribución y caracteres físicos. — El tejido adiposo aparece abundantemente esparcido por el organismo; forma un cojinete espeso bajo la piel, rodea las vísceras y rellena los huecos que resultan entre los músculos, nervios, etc. Su color es amarillento; su peso específico de 0,927, por lo que flota en el agua, y su consistencia semisólida.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio el producto de la disolución de un lobulillo adiposo, llaman nuestra atención unos corpúsculos poliédricos de un diámetro considerable (de 20 a 40 μ o más), que tienen el aspecto de vejigas llenas de grasa. Un examen más atento, sobre todo si recae en preparaciones teñidas por el ácido ósmico y el carmín, revela en cada célula cuatro cosas: la membrana, el protoplasma, el núcleo y la grasa (fig. 202).

La *membrana* es finísima, poco perceptible en las células íntegras; mas si la grasa se extrae, ora mecánicamente (por rasgadura), ora a favor de la bencina o el éter, la cubierta se plie-

ga, mostrándonos en muchos parajes un doble contorno muy aparente (figura 202, *a*).

El *protoplasma* es finamente granuloso y sólo se distingue bien del lado del núcleo, en donde se presenta amontonado (*c*). Algunos autores describen en él redes complicadas bien aparentes, sobre todo en ciertos vertebrados inferiores. Las mito-

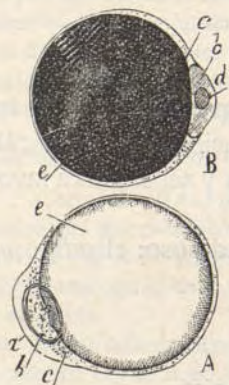


Fig. 202. — Dos células grasientas del perro joven. *A*, célula tratada por el verde de metilo acetificado; *a*, cubierta; *b*, núcleo; *c*, protoplasma; *e*, gota de grasa; *B*, célula fijada por el ácido ósmico; *b*, núcleo; *d*, nucleolo.

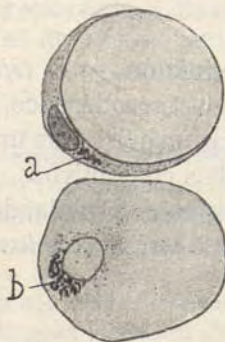


Fig. 203. — Células adiposas del perro de pocos días. Método del formol-urano
a, *b*, aparato de Golgi.

condrias han sido observadas por Dubreuil (1910). Un aparato reticular de Golgi rudimentario ha sido señalado por Deineka y confirmado por nosotros en el gato de pocos días. Adviértase en la figura 203, *a b*, su situación en un lado del protoplasma y cerca del núcleo, y su aspecto de grumos o granitos apenas trabados.

El *núcleo* afecta una figura discoide, está rodeado de protoplasma y constituye, en el contorno celular, un abultamiento ligero (fig. 202, *b*).

La *gota de grasa* es voluminosa, pues llena, como se ve en la figura 202, *e*, casi todo el contenido celular; su contorno es limpio y está orlado de un limbo oscuro, particularidad ópti-

ca que presentan siempre aquellas sustancias cuyo índice de refracción discrepa mucho del que poseen los medios orgánicos. En torno de la gota grasienta, el protoplasma constituye tan delicada película, que se creería faltar por completo. Por lo demás, la masa oleosa aparece en fresco, perfectamente homogénea y de matiz ligeramente amarillento; no así en las pre-

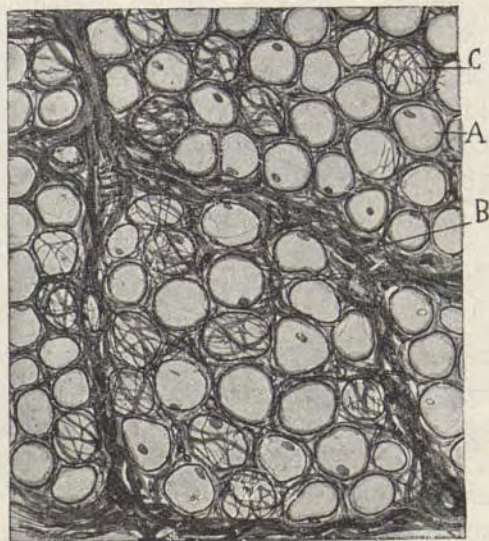


Fig. 204. — Tejido adiposo subcutáneo del perro de dos meses. A, célula adiposa; B, tabiques conjuntivos; C, finos haces que rodean las células.

paraciones que han sufrido la acción del alcohol, en las cuales es frecuente hallar, en el centro de la gota grasienta, irradiaciones de agujas impropriadamente llamadas de *margarina*.

Las células adiposas pueden vivir solitarias, como diseminadas en el seno del tejido conjuntivo; pero la regla es encontrarlas congregadas, constituyendo grupos más o menos numerosos, que se llaman *lobulillos adiposos*. Tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de vasos de algún calibre, sirven para separar dichos lóbulos. Dentro de estos últimos, las células no están en íntimo contacto; entre ellas reside una trama

formada por delicados fascículos conjuntivos y una red capilar tupida, de mallas poligonales, y en un todo semejante a la que rodea los acini glandulares. En la figura 204 mostramos una sección de tejido adiposo, donde aparece particularmente teñida la trama especial conectiva. Repárense los tabiques conjuntivos interlobulares y las finas hebras y hacecillos que circundan las células (fig. 204, C), envolviéndolas en una especie de canastillo, solamente visible en aquellos elementos que muestran libre (por azares del corte) una de sus caras.

Los colores básicos de anilina revelan en los tabiques conectivos del tejido adiposo numerosas células cebadas y algunos corpúsculos cianófilos. Naturalmente, no faltan tampoco fibroblastos o células fijas y algún elemento emigrante.

TEJIDO MEDULAR DE LOS HUESOS

Esta variedad adiposa se caracteriza por encerrar, además de las células grasientas y del retículo conjuntivo, una infinidad de corpúsculos pequeños, de aspecto embrionario, llamados *medulocelos*, así como ciertos otros de talla gigante, designados *osteoclastos* y *megacariocitos*.

Distribución y caracteres físicos. — Existen dos variedades macroscópicas de la médula, que corresponden a dos modalidades microscópicas bien acusadas: la *médula amarillenta* o tuétano, que reside en el conducto de los huesos largos, y se halla compuesta exclusivamente de grasa y tejido conjuntivo, y la *médula roja* o *fetal*, habitante en las epífisis de los huesos largos y en la trama areolar de los cortos y anchos. Esta última especie medular es la que, por separarse ostensiblemente de la estructura del tejido adiposo común, merece una descripción particular.

Caracteres microscópicos. — Si se disocia en estado fresco y con ayuda de un líquido indiferente un trozo de médula roja o fetal, los elementos puestos en libertad son numerosos. Entre ellos pueden distinguirse los siguientes: *osteoclastos*, *células de Bizzozero* o *megacariocitos de Howell*, *células ro-*

jas nucleadas, *eritroblastos* o células semihialinas, *leucoblastos* y *células adiposas*.

Osteoclastos (*policariocitos* de Bambeke). — Así se llaman unas células voluminosas (de 20 a 40 μ), de contorno irregular, yacentes en la periferia de la médula, encajadas en ciertas fositas ofrecidas por la superficie interna de los huesos (figu-

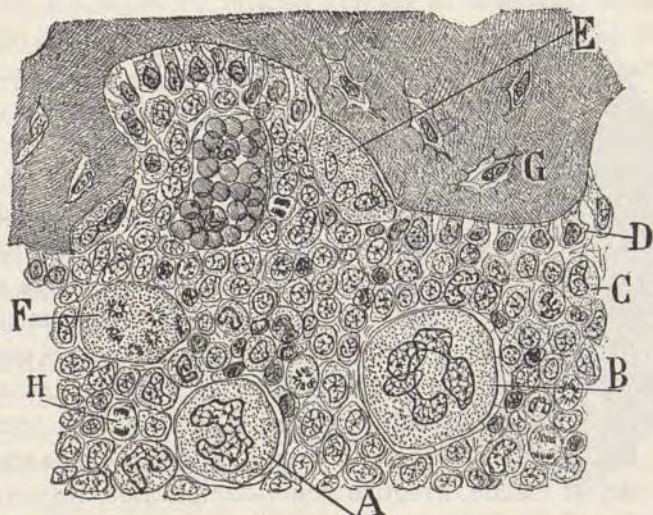


Fig. 205. — Corte transversal de la tibia y médula ósea de un conejillo de Indias joven. Decalcificación en ácido picrico y teñido por la hematoxilina. A, megacariocito mediano de núcleo arriñonado; B, megacariocito gigante de núcleo dispuesto en rosario; C, mielocitos o medulocitos; D, osteoblastos situados junto al hueso joven; E, osteoclasto situado en contacto con el hueso; F, megacariocito con mitosis múltiples; G, célula ósea.

ra 205, E). Su protoplasma es granuloso, emitiendo a veces gruesas expansiones, y en su interior se alberga un número variable de núcleos (4, 6 o más), pequeños, ovoides, diseminados irregularmente. La multiplicidad nuclear y la posición periférica de estas células distinguenlas bien de los demás elementos medulares. Sus mitocondrias, granulares, finas y numerosas, han sido descritas por Dubreuil.

Células gigantes de Bizzozero (1869), de los autores ita-

lianos, *megacariocitos* de Howell (1). — Caracterízanse por su talla gigante (de 20 a 60 μ), forma redondeada o poligonal, y, sobre todo, por encerrar un núcleo voluminoso, muy semejante en forma, aunque muy superior en tamaño, al de los leucocitos (fig. 205, A, B). Las formas que suele adoptar este núcleo son: la de riñón, la de doble bola con istmo delgado de unión y, sobre todo, la de rosario de lóbulos, dispuesto en herradura o plegado de manera variable y complicada. El carmín de Grenacher y la hematoxilina revelan en dicho núcleo un armazón cromático flojo, pero de trabéculas y nudosidades espesas. A veces los pedículos de los lobulillos nucleares se rompen y el corpúsculo adquiere dos o más núcleos. El protoplasma es abundante, filamentososo, y está rodeado por una membrana que se desprende en presencia del agua acidulada.

Como Heidenhain ha mostrado, el aspecto del protoplasma varía a distintas profundidades. El ectoplasma o corteza exterior es oscuro, áspero y relleno de granulaciones, mientras que el protoplasma próximo al núcleo, y sobre todo el que rellena la gran escotadura de éste (*pirenocol*), se presenta claro y finamente granuloso (coloración con la hematoxilina ferruginosa). Por este mismo método de coloración, la citada escotadura nuclear exhibe, irregularmente aumentados, numerosos centriolos (figura 206, a). Las mitocondrias son abundantes (Dubreuil).

Los megacariocitos no tienen sitio de elección, yaciendo esparcidos sin orden por todo el espesor de la médula.

Células rojas nucleadas (fig. 205, H). — Llamadas también corpúsculos de Neumann, representan hematíes en evolución, situados probablemente en el interior de los vasos de las aves y fuera de los vasos en los mamíferos. Su historia ha sido trazada ya al hablar de la hematogénesis.

Añadiremos aquí solamente que, tanto los eritroblastos como los corpúsculos rojos nucleados, poseen un aparato de

(1) En honor de Bizzozero, su verdadero descubridor, según ha demostrado Pianese, hemos cambiado el nombre de estas células, prescindiendo de la designación *mieloplaxia*, adoptada por algunos autores. En realidad, Robin no distinguió bien en sus descripciones las células grandes de la médula ósea, que calificó globalmente de *mieloplaxias*.

Golgi bien desarrollado, concentrado cerca del núcleo, según se echa de ver en la médula roja del perro o gato jóvenes, tratada por el proceder del urano-formol. Llegada la mitosis, el aparato se descompone en gránulos y bacilos dispersos. Los leucocitos con granulaciones, tan numerosos en la médula ósea, poseen solamente un sistema de granos diseminados, coloreables en negro por la plata (¿mitocondrias?, ¿aparato reticular fragmentado y difuso?). Lo mismo sucede, conforme enseñan las investigaciones de Fañanás (1914), con los *megacariocitos*, donde los gránulos argentófilos rellenan casi todo el protoplasma (a excepción del exoplasma), sin concretarse en aparato reticular.

Leucoblastos (*medulocelos* de los histólogos antiguos). — Son las células más numerosas de la pulpa medular, y su gran semejanza con los leucocitos ha inducido a los autores a estimarlas, ora como efectivos glóbulos blancos, ora como gérmenes o fases embrionarias de éstos (fig. 205, C).

Las variedades más comunes de estos elementos son: 1.º, células enanas de 5 a 6 μ , de núcleo esférico, rodeado de fina capa protoplasmática; 2.º, células más voluminosas (de 9 a 12 μ), semejantes a leucocitos por la forma de su núcleo (con gibas, arriñonado o múltiple) y el aspecto granuloso del protoplasma; 3.º, células con granulaciones eosinófilas; 4.º, células con granos basiófilos. De todos estos elementos sólo el tipo primero encierra un aparato de Golgi concentrado.

No se conoce bien la filiación de estas células ni el grado de parentesco que cada una de ellas pueda tener con los leu-

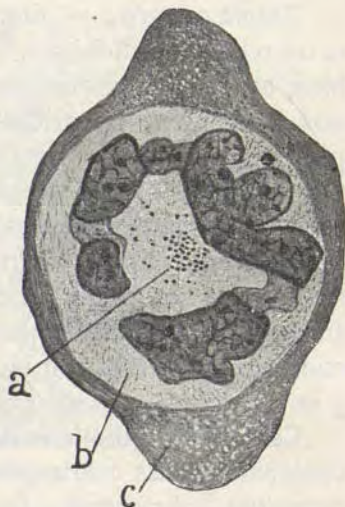


Fig. 206. — Célula gigante (*megacariocito*) de la médula ósea del conejo. *a*, grupo de centrosomas situados en la concavidad del núcleo; *b*, exoplasma profundo; *c*, exoplasma superficial (según Heidenhain).

cocitos sanguíneos. Créese, no obstante, que estas dos últimas variedades de elementos representan glóbulos blancos adultos o casi adultos, dotados de granulaciones y prontos a entrar en circulación. (Véase más atrás hematogenesis.)

Células grasientas. — Son raras en la médula roja, muy abundantes en la amarilla, y sus propiedades coinciden con las de los corpúsculos adiposos antes descritos.

Trama conectiva. — Entre las células de la médula roja existe un retículo de finísimos hilos, cuya naturaleza no se conoce bien, aunque se supone análoga a la de los hacecillos colágenos. En la médula amarilla, Enderlen ha visto este retículo disponerse en forma de nidos que rodean las vesículas adiposas. Otros autores, Mall, por ejemplo, habían notado éstas o parecidas reticulaciones. Células conectivas fusiformes o estrelladas, de larguísimos brazos, corren por la substancia amorfa. Tales fibroblastos son muy aparentes en la médula amarilla de los animales jóvenes. Finalmente, la médula ósea roja está recorrida por una red capilar muy rica, cuyas trabéculas son anchas y de aspecto cavernoso.

Caracteres químicos del tejido grasiento. — Las grasas contenidas en las células adiposas son: la *triestearina* y la *tripalmitina*, substancias sólidas a la temperatura ordinaria, disueltas en la *trioleína*, que es líquida. Disuelta en esta última grasa se halla también una pequeña cantidad de *lecitina* y *co-lesterina*.

Como es sabido, las grasas neutras o triglicéridos (*triestearina*, *trioleína*, etc.) son combinaciones de los ácidos grasos con la glicerina. Conócense muchos ácidos grasos: el *oleico*, el *esteárico*, el *palmítico*, el *butírico*, el *caproico*, el *acético*, etc., son los principales.

En las grasas sólidas, como las del carnero, dominan el ácido esteárico y el palmítico, al paso que en las semilíquidas y líquidas (perro, hombre) prepondera el oleico.

Las grasas neutras son insolubles en agua, bastante solubles en alcohol caliente, perfectamente solubles en la bencina, éter, xilol, etc. El ácido ósmico (*tetróxido de osmio*) las colorea en negro. Sin embargo, no todas se impregnan con igual in-

tensidad; la que más enérgicamente reduce el ácido ósmico es la *trioleína*, así como el ácido oleico. En fin, las grasas atraen ciertos colorantes en solución alcohólica, como el *Sudan III*.

Propiedades fisiológicas.— Las células adiposas representan glándulas monocelulares, cuyo oficio consiste en producir y retener las grasas neutras, a fin de que, durante las épocas de

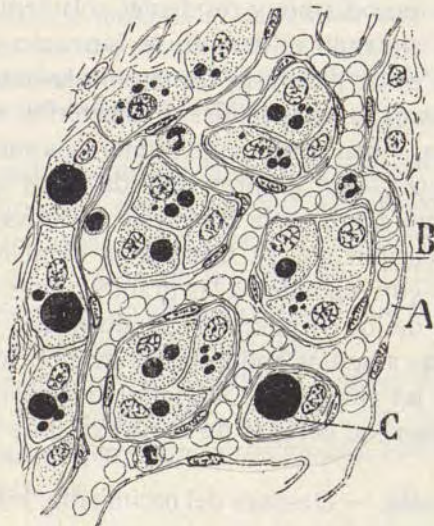


Fig. 207. — Tejido adiposo en vías de evolución de la piel del perro recién nacido. Coloración por el ácido ósmico y carmín. A, capilar; B, adipoblasto sin grasa; C, adipoblasto con una gota de grasa.

deficiencia alimenticia o de gastos orgánicos excesivos, pueda disponer el organismo de un alimento de reserva. Si se examinan las células adiposas atrofiadas por la fiebre o por la emaciación, se advierte, como ha demostrado Bizzozero, que la gota de grasa, muy disminuída y situada en el centro, está rodeada por un limbo de una materia mucosa semilíquida.

Histogenesis (fig. 207). — *Adipoblastos*. — Los lobulillos adiposos carecen de grasa en los primeros tiempos de su formación, y resultan de la agrupación de dos factores: una red capilar sanguínea, apelotonada y de estrechas mallas, y un con-

glomerado de células gruesas, redondeadas o ligeramente políedricas por presión recíproca, ricas en protoplasma, exentas de expansiones y situadas, ya a lo largo de los capilares, ya en el espesor de sus mallas (fig. 207, B).

Semejantes elementos no deben identificarse con los corpúsculos fijos ni emigrantes del tejido conectivo, sino que hay que estimarlos como células específicas, diferenciadas *ab initio* en el seno del mesodermo, y residentes solamente en aquellos parajes donde, andando el tiempo, se formarán los lobulillos adiposos. Para evitar perifrasis, llamémoslas *adipoblastos*.

El protoplasma de estas células se caracteriza, según demostró ya Altmann, y han confirmado numerosos autores (Arnold, Heidenhain, etc.), por la presencia de finas granulaciones proteicas, a cuyo cargo corre la síntesis de la grasa en cuanto, después del nacimiento, se instaura la alimentación láctea. Tales gránulos corresponden a las granulaciones vivas, llamadas primitivas, de los corpúsculos glandulares.

En las masas adiposas abdominales del conejo recién nacido descúbrese un aparato de Golgi hipertrófico, que se disloca por el protoplasma al compás de la aparición de las gotas grasientas.

Célula adiposa. — Después del nacimiento, los adipoblastos son asiento de un depósito grasiento: primeramente aparecen una o varias gotas de pequeña dimensión, diseminadas por el cuerpo celular; luego se reúnen en una gota gruesa, la cual, creciendo progresivamente, dilata la célula, estira el protoplasma y obliga al núcleo a adoptar una posición excéntrica debajo de la membrana (fig. 207, C).

Esta grasa proviene de la alimentación láctea, y es fijada por las granulaciones primitivas, que desaparecen en cuanto las gotas adiposas alcanzan cierto volumen. Verosíblemente, las granulaciones primitivas actúan sobre jabones circulantes por el plasma ambiente, operando la síntesis de los ácidos grasos y glicerina. Durante este proceso, y sobre todo en la fase anterior de adipoblasto, los lobulillos adiposos rudimentarios se acrecientan, tanto por la división mitótica de sus células, como por la multiplicación de las redes capilares asociadas.

La transformación de las granulaciones primitivas en gotas de grasa ha sido estudiada por Arnold en la glándula mamaria y otros órganos (1907); por Mlle. Loyer (1910), en el óvulo de los tunicados; por Prenant (1910), en las células hepáticas, y por Dubreuil (1911), en el panículo adiposo de los mamíferos. Debemos a este último autor detalles acerca del mecanismo de transformación de las mitocondrias (que se identifican hoy con las granulaciones de Altmann) en esférulas lipoides. Primeramente se espesan aquéllas, pudiendo alcanzar el triplo de su diámetro; luego, en el centro o en el cabo de las mismas, aparecen abultamientos, algo así como retoños, dentro de los cuales se diferencia un centro claro, cuya naturaleza lipóide márcase de cada vez más, mientras que la corteza mantiene su naturaleza química proteica; finalmente, la corteza mitocondrial desaparece por licuación, quedando libre la gotita adiposa.

El desenvolvimiento de la médula ósea es mucho menos conocido. Supónese que todos sus elementos, exceptuando quizá las células rojas y eritroblastos, son diferenciaciones ocurridas, durante la etapa de la osificación cartilaginosa, en las células embrionarias de estirpe periostal que pueblan los grandes espacios medulares del hueso joven.

Ulteriormente, los megacariocitos podrían multiplicarse por carioquinesis pluripolar (Dœnys). Según van de Strich y Bambeke, tomarían origen, entre otros modos, por transformación de los leucoblastos.

Preparación del tejido grasiento. — *Adiposo común.* — Un trozo extendido de epiplón mayor del gato, perro o conejo, recién nacidos o de pocas semanas, se tratará, durante media hora, por una solución de ácido ósmico al 1 por 100; luego se lavará, para quitar el ácido excedente, y se someterá, por veinticuatro horas lo menos, a la acción del picrocarminato. Las preparaciones montadas en glicerina mostrarán las gotas de grasa negras, moreno-amarillento el protoplasma, y rojos los núcleos de las células adiposas. Antes de tratar la preparación por la glicerina convendrá lubricarla por algunos minutos con alcohol; de este modo las células no sufrirán retracciones ni se alterará la grasa ennegrecida.

Se obtendrán igualmente buenas preparaciones por el procedimiento de las inyecciones intersticiales de ácido ósmico en el tejido subcutáneo del perro de pocos días. Podrán seguirse en estos preparados, convenientemente teñidos, todas las fases evolutivas de la célula grasienta.

Un método que da también buen resultado para teñir la grasa de los tumores es el de Rossenthal, recomendado por Fischer (1902):

- 1.º Se fija el tejido en formol al 10 por 100.

- 2.º Lávanse las piezas quince minutos en agua.
- 3.º Córtase con microtomo de congelación.
- 4.º Las secciones se llevan a la solución alcohólica de *Sudan III*, es decir, *sudan* disuelto en alcohol al 70 por 100, donde permanecen de diez a treinta minutos.
- 5.º Lavado de los cortes primero en alcohol al 50 por 100 y después en agua por dos minutos.
- 6.º Coloración de fondo y nuclear con la hematoxilina aluminosa.
- 7.º Lavado en agua.
- 8.º Montaje en glicerina.

Las gotas de grasa se presentan intensamente coloreadas de matiz naranja, destacando perfectamente de los demás elementos de la preparación. Este proceder, muy en boga actualmente, sustituye ventajosamente al ácido ósmico, que tiene la desventaja de menoscabar las apetencias tinteas de los núcleos.

También el rojo escarlata proporciona buenas coloraciones de la grasa; para ello, en lugar del *Sudan III* se emplea una disolución saturada de rojo escarlata en alcohol absoluto, 70; + agua, 10; + lejía de sosa al 10 por 100, 20, por el calor, conservándola en frasco bien cerrado a 37°. Se pueden añadir al *Sudan III* unas gotas de la disolución de rojo escarlata para que la coloración anaranjada se torne roja intensa.

La preparación de la médula ósea queda descrita al tratar de la hematogénesis. Añadiremos solamente que si se desea practicar cortes en la médula de un mamífero, es preciso escoger animales de pequeña talla, el ratón o conejo de Indias, y someter los huesos frescos a la acción decalcificante del líquido de Flemming o del ácido pícrico saturado. La coloración se hará con safranina, hematoxilina o con los métodos de triple teñido.

En estos últimos años, los hematólogos (Pappenheim, C. Demel, Ferrata, Negreiros, etc.) usan de preferencia, al objeto de diferenciar los diversos tipos de medulocitos, según la naturaleza de sus granulaciones y características nucleares, los métodos de Romanowsky, Giemsa, May-Grünwald, etcétera. Operan de preferencia sobre portaobjetos en que se ha extendido una capa de médula roja fresca (véase preparación sangre).

CAPÍTULO VI

TEJIDO CARTILAGINOSO

Definición. — El *tejido cartilaginoso* consiste en una trama sólida, translúcida, habitada por células envueltas en espesa membrana y separadas unas de otras por una substancia intersticial abundante que da las reacciones de la condrina.

División. — Distínguese este tejido en tres modalidades: *variedad hialina, variedad reticular o elástica y variedad fibroconjuntiva.*

VARIEDAD CARTILAGINOSA HIALINA

Distribución y caracteres físicos. — El cartílago hialino, así llamado por el aspecto homogéneo de su materia fundamental, constituye la costra ternillosa de las articulaciones diartrodiales, los cartílagos costales, los de la nariz, laringe, tráquea y bronquios. Seccionado en cortes finos, es transparente; mirado en pedazos gruesos se muestra translúcido, opalino, con reflejos azulados.

Caracteres micrográficos. — Dos cosas componen el cartílago hialino: las células y la substancia fundamental.

Células (figuras 208 y 209). — Son relativamente voluminosas (de 14 a 34 μ) y afectan forma variable, esferoidal, ovoidea y, sobre todo, semilunar. No viven aisladas, sino que se agrupan en familias (fig. 208, *B*) de dos, cuatro o más individuos (grupos *isogénicos* de Renault). El examen micrográfico de cortes finos teñidos por el carmín o hematoxilina nos pre-

senta en cada célula cartilaginosa: el protoplasma, el núcleo y las inclusiones.

El *protoplasma* aparece granuloso, a veces reticulado: después de la muerte y bajo la influencia de los reactivos se retrae dentro del condroplasma, mostrando un contorno desigual; carece de inclusiones en el cartílago joven; pero desde la edad adulta aloja gotas grasientas que llegan a atrofiar el protoplasma y hacer irreconocible el núcleo. El yodo tiñe en moreno

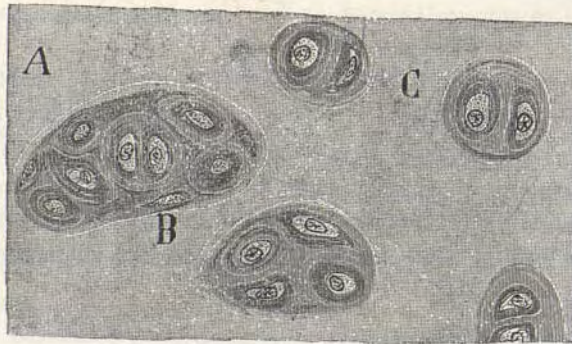


Fig. 208.—Células cartilaginosas de los cartílagos nasales del hombre. Coloración por la hematoxilina y tratamiento ulterior por el ácido acético. A, substancia fundamental; B, familia de muchas células; C, grupos nucleares de dos.

ciertos granos formados por *materia glicógena*. En fin, los estudios de Hennegny, Lowenthal, Retterer, Duesberg, Mewes, en los vertebrados inferiores, y los de Renaut y Dubreuil en los mamíferos, nos informan acerca de las mitocondrias, que se presentan bajo dos aspectos: largas, filiformes y flexuosas (*condriocontes*), y cortas y granulares (*condriosomas*).

El *núcleo* es único, esférico, rico en cromatina y yace, por lo común, en el centro de las células.

El método del urano-formol revela en cada célula cartilaginosa un aparato reticular de Golgi, confinado en un lado del protoplasma, junto al núcleo (fig. 209). Cuando la célula se divide, el retículo se dispersa, convirtiéndose en gránulos o bacilos sueltos, según han mostrado las observaciones de Deineka (1912) y nuestras (1915).

Varía algo la disposición de las células, según su proximidad a la superficie cartilaginosa. Así, en los cartílagos costales como en los de incrustación las zonas superficiales contienen corpúsculos pequeños, aplanados y numerosos; mientras que en las partes profundas estos elementos se muestran escasos, voluminosos y más o menos esferoidales (fig. 210, C). En fin, en los cartílagos articulares las células vecinas al hueso se dis-

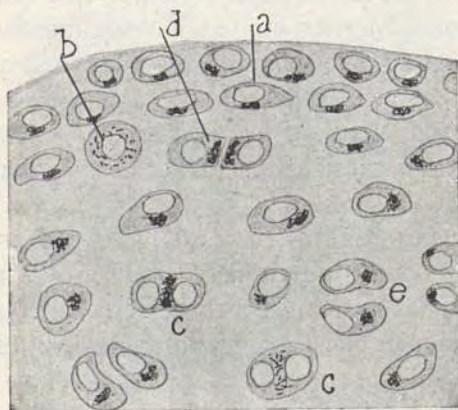


Fig. 209. — Trozo del cartilago de incrustación de una articulación de conejo de ocho días, Proceder del formol-urano. a, células cartilaginosas superficiales; b, célula en fase de ovillo; c, fases de ovillo hijo; d, familia celular. (Lo teñido en negro es el aparato de Golgi.)

ponen a menudo en series o columnas perpendiculares al plano cartilaginoso.

Substancia fundamental. — En condiciones apropiadas deja percibir cuatro cosas: las cápsulas, las fibrillas condrígenas, los cordones permeables y las placas fibroides.

Cápsulas (fig. 208). — Si se examina cuidadosamente la materia fundamental próxima a las células, se nota un limbo o atmósfera espesa, vagamente separada del resto de la substancia intercalar, pero rigurosamente limitada, del protoplasma. Esta corteza, de materia fundamental, es la *cápsula* y representa, no una membrana celular fundamental, sino el último producto de secreción de la célula cartilaginosa. En ciertas condi-

ciones, puede notarse que la materia intersticial entera es reductible a cápsulas empotradas las unas en las otras, de todas las cuales sólo la últimamente engendrada, es decir, la frontera a cada célula, se percibe con entera claridad. Esta última manifiesta una composición química algo diferente que el resto de la materia intersticial, puesto que si se tiñe el cartílago por la hematoxilina y se trata después con el ácido acético, todo se decolora menos las cápsulas recientes, que retienen energicamente el color. Mörner, sin tener conocimiento de esta observación nuestra (1884), ha indicado que la cápsula está construída de un producto especial, que llama *globos de condrina*, fundándose en que en la coloración con el violeta de metilo y la *tropeolina* las cápsulas resultan azules y la materia intersticial amarillenta.

Fibrillas de condrina. — Cuando se examinan con fuertes aumentos cortes finos de cartílago previamente macerados en hipermanganato potásico, cloruro de sodio al 10 por 100, etc., toda la materia intersticial aparece formada de unas hebras finísimas, estrechamente entrecruzadas y unidas entre sí a favor de cemento sólido y transparente.

La naturaleza de estas fibrillas es poco conocida; en general, se supone que en ellas reside la condrina o sus factores componentes.

Fibras permeables (fig. 210). — Cuando, a ejemplo de ciertos autores (Spina, Spronck, etc.), se observan en el alcohol finos cortes de cartílago joven, la materia fundamental se muestra cruzada en ciertos sitios por unos hacecillos relativamente espesos, que llamaremos, por alusión a su probable oficio, *fibras permeables*. El curso de estas fibras varía algo en las diversas zonas del cartílago; así, si nos fijamos en la capa periférica de un cartílago costal, dichas fibras aparecen orientadas en sentido radial, arrancando del pericondrio y marchando hacia adentro para terminar en el espesor de las primeras cápsulas; en las zonas centrales la orientación es muy otra, pues las fibras permeables constituyen manojos que, irradiando de una cápsula, se terminan en las de los vecinos elementos (figura 210, C).

La naturaleza y significación de las fibras permeables distan mucho de estar esclarecidas. Para Solger trataríase meramente de frucimientos o arrugas intersticiales producidos por el alcohol en la materia fundamental del cartílago; pero la mayor parte de los autores se inclinan a estimar tales fibras como cordones porosos, formados de una substancia que goza de gran

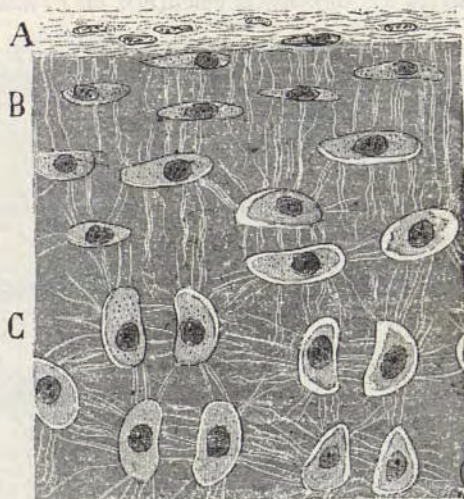


Fig. 210. — Cartilago costal del perro joven. Examen en alcohol. A, pericondrio; B, células superficiales aplanadas; C, células profundas. Las fibras blancas que cruzan el fondo son las permeables.

poder de imbibición (1). Recientemente hemos logrado teñirlos por el nitrato de plata reducido.

Placas fibrosas. — En los territorios más lejanos de las cápsulas, la materia fundamental del cartílago adulto, y particularmente la del cartílago viejo, presenta unos islotes irregulares colorables en rojo intenso por el carmín.

En estos islotes la materia intersticial se ha transformado en

(1) Véanse nuestras observaciones insertas en el *Manual de Histología normal* y en *La Crónica Médica*. Valencia, 1887.

un paquete de fibras gruesas, brillantes, a veces granuladas, frecuentemente entrecruzadas en ángulos agudos.

Se ignora la naturaleza de estas formaciones, que no se ven jamás en el cartílago joven (*degeneración amiántica* de algunos autores).

En los viejos, la materia fundamental se calcifica parcialmente. En algunos cartílagos, por ejemplo, en los de la laringe, comienzan ya los depósitos calcáreos en el adulto.

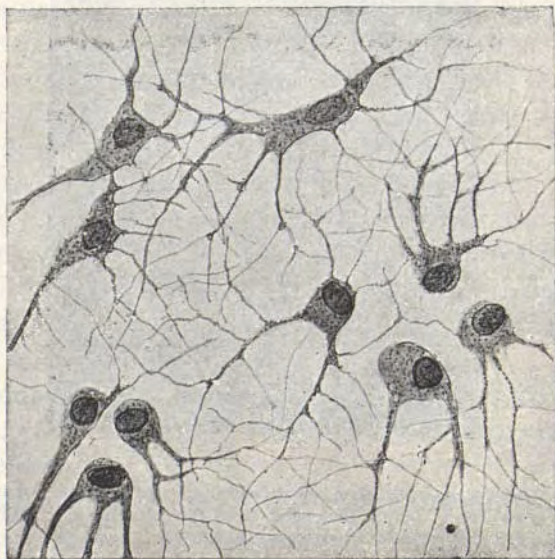


Fig. 211. — Cartílago hialino de la cabeza del calamar. Células cartilaginosas estrelladas dispuestas en pléyades. Fijación en ácido ósmico. Coloración en hematoxilina.

El cartílago de la cabeza de los cefalópodos es interesante por varios motivos. Las células carecen de cápsulas aparentes, y de la periferia protoplásmica, de figura asteriforme, emergen apéndices cónicos que se ramifican dicotómicamente, adelgazándose las ramillas y terminando en puntos de extrema tenuidad. Casi toda la materia intersticial está llena de tales apéndices, cuyo aspecto granuloso, frecuentes dicotomias y colorabilidad al carmín son caracteres que los diferencian netamente de las fibras permeables. En la figura 211 mostramos un corte de este cartílago tomado del calamar.

VARIEDADES CARTILAGINOSAS RETICULAR Y ELÁSTICA

Cartilago reticular elástico. — De esta modalidad histológica está construída la epiglotis, el cartilago de la oreja, parte del aritenoides y los cartilagos de Santorini y de Wrisberg.

Las *células* son voluminosas (de 15 a 30 μ), de figura apla-

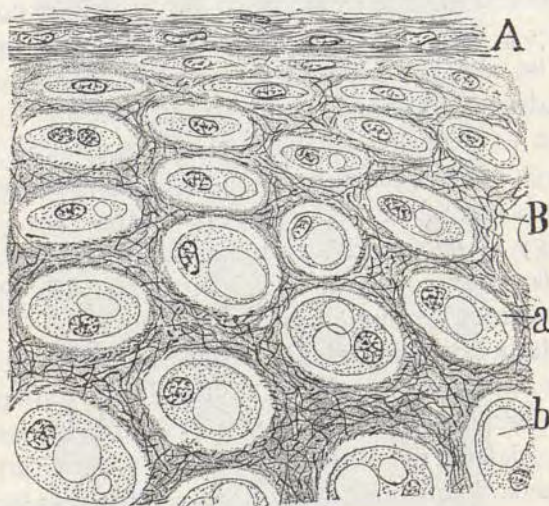


Fig. 212. — Cartilago reticular o elástico de la oreja del conejo. A, pericondrio; B, materia fundamental con las fibras elásticas; a, cápsula hialina; b, gota de grasa.

nada en las zonas superficiales del cartilago y esferoidales u ovoideas en las profundas. Una espesa cápsula las separa de la materia intersticial, en la cual (y éste es el rasgo típico de esta variedad cartilaginosa) se advierten multitud de fibras elásticas finas, dispuestas en red apretada (fig. 212, B). Estas fibrillas son más escasas cerca del pericondrio que en las regiones centrales del cartilago, y en su disposición plexiforme se las ve respetar las cápsulas que aparecen formadas por una materia homogénea. Las gotas de grasa intracelulares son la regla en esta variedad cartilaginosa (fig. 212, b).

Cartilago fibro-conjuntivo. — Asienta en los discos intervertebrales, meniscos y rodetes articulares de las diartrosis, cartílagos tarsos y nódulos sesamoideos de los tendones.

El *fibrocartilago* hállase también en los parajes en que los tendones se insertan sobre piezas cartilaginosas; por ejemplo: al nivel de la inserción del tendón de Aquiles en el calcáneo.

Las *células* son pequeñas, esferoidales u ovoideas, y exhiben una fina cápsula envolvente.

La *materia fundamental* consta de hacillos conjuntivos resistentes y paralelos como los del tendón. Esta disposición obliga a las células a orientarse en series más o menos regulares, situadas en los espacios interfasciculares.

Como es frecuente ver variada la dirección de los haces conjuntivos en cada plano de estos cartílagos, los corpúsculos se alinean a menudo en series perpendiculares unas a otras. En el *cartilago sesamoideo* del tendón de Aquiles de la rana (figura 213), la trama conectiva es más irregular y las células son más abundantes y voluminosas.

Propiedades fisiológicas. — Carece el cartilago de nervios y de capilares sanguíneos, nutriéndose parásitamente de los jugos circulantes por los órganos vecinos. En las ternillas nasales, costales y del árbol aéreo, etc., la materia cartilaginosa yace rodeada de una membrana fibrosa, el *pericondrio*, provisto de una red vascular bastante tupida, desde la cual, y por mediación de las fibras permeables, el plasma sanguíneo puede irrigar las profundidades del cartilago. A pesar de lo cual la vitalidad de las células cartilaginosas centrales se ve comprometida, como lo prueba lo frecuente que es hallarlas hinchadas de gotas grasientas y hasta completamente destruidas por las degeneraciones adiposa y calcárea.

Propiedades químicas. — Es creencia general que la materia fundamental cartilaginosa consta de una materia colágena especial, la *condrina* de Müller, susceptible de convertirse por la cocción en jalea; pero los modernos estudios parecen probar que la condrina es una mezcla de otros principios: el *ácido condrotico*, la *albúmina*, la *cola* y cierta cantidad de sales alcalinas. El cartilago contendría también la *albumoide*, la *con-*

dromucoide, *elastina*, el *ácido condroitino-sulfúrico* y la *colágena* (Boedecker, Mörner, Kössel, Morochowitz).

La *condromucoide* es una materia proteica insoluble en agua, fácilmente soluble en los álcalis y precipitable por los ácidos. Hervida con ácidos o álcalis diluídos, se descompone en dos series de cuerpos: de una parte, *peptonas*, *albúminas*,



Fig. 213.— Fibro-cartilago de la rana (nódulo sesamoideo del tendón de Aquiles).

alcalinas o *ácidas*, y de otra, *ácido condroitino sulfúrico*. Este ácido pasa por ser un éter sulfúrico ácido que, por hidrolisis, da ácido sulfúrico y una base orgánica, la condroitina; a su vez, desdóblase ésta en ácido acético y otra substancia parecida a los azúcares, aunqu cuaternaria: la *condrosina*.

La *albumoide* es similar de la keratina, con la que comparte su refractariedad a los reactivos químicos. Insoluble en agua, poco soluble en los ácidos y álcalis, se la puede obtener del cartilago después de haber extraído de éste todos los demás

principios proteicos que le integran. Difiere de la elastina por contener más azufre y de la keratina por ser soluble en el jugo gástrico. La albumoide sólo se presenta en los cartílagos del adulto o del viejo (Mörner).

La *colágena* reside de preferencia en las zonas periféricas de los cartílagos reticulares y costales. Abunda también en el fibrocartilago.

Histogenesis. — El cartilago fetal se forma desde luego alrededor de la notocorda, y en los que, andando el tiempo, serán cuerpos vertebrales. Proviene del mesodermo y sus ru-

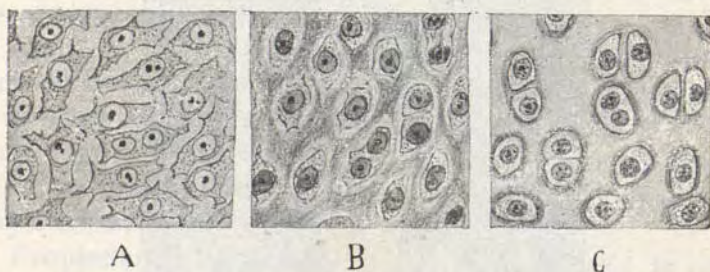


Fig. 214. — Fases histógenas del cartilago céfálico del embrión de pollo. A, cartilago primordial (cinco días de la incubación); B, cartilago fetal (nueve días de la incubación); C, cartilago joven.

dimentos; confúndese, en un principio, con los del tejido conectivo. Según Studnicka (1902), las células conectivas especiales destinadas a los islotes cartilaginosos serían estrelladas y engendrarían una red, a favor de las anastomosis de sus expansiones. Más adelante, y en cuanto las células se congregan y aprietan para engendrar el cartilago primordial, perderíanse los apéndices. Las modificaciones ocurridas en los órganos cartilaginosos son las siguientes:

1.^a *Cartilago primordial.* — Consta de células poliédricas o estrelladas, separadas por escasa cantidad de una materia homogénea y más o menos sólida. Las cápsulas no son todavía aparentes (fig. 214, A). En esta fase el aparato de Golgi se manifiesta ya concentrado, consistiendo en granitos y bacilos o trabéculas apiñados y varicosos.

Esta modalidad cartilaginosa, construída casi exclusivamente de células, se mantiene durante toda la vida en los *ciclostomos*, donde los condroblastos adoptan forma irregularmente ovoidea o esferoidal, tocándose por sus cápsulas.

2.^a *Cartilago fetal*. — Las células se redondean, y en su torno se deposita una delgada cápsula (fig. 214, B). La materia fundamental se acrece por la fusión de las cápsulas de los elementos limítrofes, y a causa de que, después de cada división celular, los corpúsculos hijos segregan nuevas cápsulas, que se reúnen a las elaboradas por las células progenitoras. La cápsula marca el trabajo realizado por cada célula en el intervalo de dos segmentaciones; por consiguiente, nada más fácil que deducir, por el examen de las cápsulas, el número de divisiones ocurridas en una familia celular. La forma de los grupos depende de la dirección constante o variable del plano de partición. Si a cada segmentación el plano varía en ángulo recto y según las tres dimensiones del espacio, el grupo aparecerá en forma de paquete (cuatro delante y cuatro detrás). Si el plano se mantiene paralelo a sí mismo, se engendrarán columnas celulares (*grupos axiales* de Renaut); en fin, la forma en corona (*grupos coronarios* de Renaut) resulta de una especie de rotación más o menos regular del plano de partición en torno de un eje imaginario.

Llegada la *fase fetal*, las expansiones celulares, así como las formas esquinadas del soma, han desaparecido en la inmensa mayoría de los condroblastos. Sin embargo, en algunos cartílagos embrionarios (huesos en fase cartilaginosa) pueden subsistir todavía elementos con expansiones y hasta con anastomosis, según hacen notar recientemente Srdinko y Fischer. En este período evolutivo la irrigación nutritiva verificaríase muy activamente.

En fin, según aparece en la figura 215, que copia un cartílago craneal del embrión de pollo de doce días, el aparato reticular de Golgi preséntase bien modelado, concentrándose junto al núcleo y en un lado del soma. Según dijimos más atrás, al segmentarse las células, repártense también en los elementos hijos los bacilos y gránulos del aparato de Golgi, disociado y disperso durante las primeras fases de la mitosis. Formados los elementos hijos, el aparato reticular se disloca, corriéndose hacia el contorno opuesto del núcleo (*f. g.*).

Acerca de la disposición morfológica de las células cartilaginosas pri-



mordiales y el mecanismo productor de la materia fundamental primitiva no existe unanimidad en los autores. Por ejemplo, en sentir de Retterer, en un principio las células mesodérmicas precartilaginosas constituirían un protoplasma continuo, salpicado de núcleos; ulteriormente, la porción intermedia de este protoplasma común se diferenciaría para generar materia intercelular y adquirir las propiedades de la colágena. Por su parte, Renault y Dubreuil, sin negar las anastomosis iniciales de las células (uniones establecidas, no mediante protoplasma continuo, sino a favor de cordones

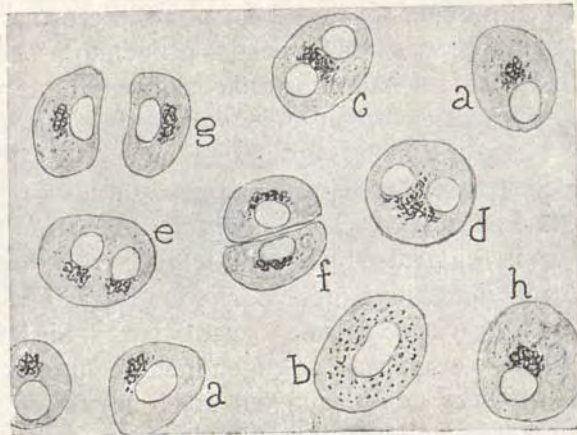


Fig. 215. — Células cartilaginosas de la base del cráneo. Embrión de pollo a los doce días de la incubación. Método del urano-formol. *a*, células cartilaginosas en descanso; *b*, *c*, *d*, fases de partición del aparato de Golgi.

delgados y cortísimos), sostienen que la materia fundamental surge al principio, fuera de los protoplasmas; se retirarían de ella como de un medio adverso las prolongaciones celulares, hasta desaparecer por completo. Parte de estos apéndices serían acaso destruidos por una suerte de autólisis.

La disposición anastomasada señalada por Renault y Dubreuil constituye hecho real, pero corresponde a una fase anterior a la diferenciación propiamente cartilaginosa, es decir, a aquellas masas formadas por elementos mesodérmicos estrellados, todavía incapaces de elaborar materia intersticial semisólida.

El crecimiento del cartílago se verifica de tres maneras: por división de las células cartilaginosas, por yuxtaposición de cápsulas sucesivamente elaboradas y por transformación en cartilaginosas de las células más profundas del pericondrio.

Este último origen parece ser el más importante, dado que el crecimiento experimentado por el cartílago desde la época embrionaria es enorme y no podría explicarse por el corto número de divisiones que sufre una célula cartilaginosa primordial (estas divisiones no suelen pasar en conjunto de seis a ocho).

En los cartílagos costales, auriculares, etc., es muy fácil demostrar que una parte de la materia fundamental periférica no es otra cosa que una condensación de los haces conjuntivos del pericondrio. En efecto, dicha materia fundamental periférica atrae, a la manera de los haces conjuntivos, los colores ácidos, en tanto que las capsulas, es decir, la obra secretoria de las células, toma con avidez los tintes básicos de anilina (1).

En el fibrocartílago conectivo, por ejemplo, en el de los nódulos sesamoideos de la rana (fig. 213), toda la trama intersticial se mantiene acidófila, dado que consta de fascículos colágenos ordinarios. En cuanto a la cápsula, sumamente delgada, apenas muestra reacción basiófila.

Preparación del tejido cartilaginoso. — Variedad hialina. — Células. — Para demostrar todos los detalles relativos a las células, convendrá elegir como objeto de examen el cartílago pubiano o el del fémur de la rana. Los cortes, ejecutados en fresco, se examinarán en su propio plasma o en una gota de licor salino indiferente. A fin de revelar los núcleos y discernir el retículo del protoplasma, se tratarán los cortes por una gota de solución verde de metilo acetificado. Podrán también estudiarse las células con provecho en los cartílagos costales de mamíferos jóvenes. Los métodos anteriores son también aplicables aquí.

Para obtener preparados definitivos de células, es preciso que el cartílago haya sido fijado de antemano y coloreado después; de otra suerte, los protoplasmas se retraen, y los núcleos se tiñen imperfectamente. La fijación podrá alcanzarse macerando las piezas cartilaginosas por varias horas en ácido pícrico a saturación, en alumbre en solución concentrada o también en ácido ósmico por doce horas. El licor de Kleinenberg cabe asimismo utilizarse. Después de permanecer varias horas en cualquiera de estos líquidos, se tratarán las piezas por el alcohol, y se teñirán, ya por el picro-carminato, ya por la hematoxilina, bien por las anilinas. La tionina

(1) Véase Terrazas: «Métodos de coloración de la substancia fundamental cartilaginosa». *Rev. trim. microgr.*, 1896.

conviene perfectamente para esta coloración, pues merced a su propiedad metacromática, tiñe en rojo heliotropo la substancia fundamental y en azul los núcleos.

Todavía dará más bellos resultados nuestro método de triple coloración, pero a condición de no decolorar demasiado con el alcohol (véase *Técnica general*).

Cápsulas. — Se demuestran muy bien examinando cortes de cartílago costal humano en una solución salina al 10 por 100. Si los cortes, fijados antes por el alcohol, se tiñen con hematoxilina y se aclaran por el ácido acético, las cápsulas se presentarán de color violeta, tanto más intenso cuanto más recientes.

Las cápsulas se coloran igualmente bien por el método de Gieson y el nuestro de la triple coloración. En general, todo color ácido (fuchina ácida, azul de índigo, etc.) selecciona bien el pericondrio y regiones cartilaginosa superficiales, en tanto que las cápsulas atraen los colores basófilos (fuchina básica, azul de metileno, hematoxilina, etc.).

El método de Mörner, que consiste en teñir los cortes primeramente con violeta de metilo y después con tropoelina, es también excelente.

Fibrillas condrienas. — Para evidenciarlas se macerará por unos días en solución salina al 10 por 100 un trozo de cartílago costal o articular de mamífero. Las soluciones de permanganato de potasa y la cocción no muy prolongada del cartílago, son también útiles bajo este aspecto. En todo caso se utilizarán cartílagos frescos procedentes de hombre adulto o de grandes mamíferos.

Fibras permeables o conductos de Budge. — El procedimiento más expedito y demostrativo es el de Spina: induración del cartílago fresco en alcohol fuerte y ejecución de cortes finos, que se examinarán también en alcohol. Para efectuar cortes perpendiculares en los cartílagos articulares, recomienda Spronck el alcohol con algunas gotas de ácido nítrico. Este licor decalcifica el hueso sin dañar en lo más mínimo las fibras permeables.

Placas fibroides. — Con el fin de ponerlas de manifiesto, se tratará un cartílago costal de hombre adulto por el picro-carminato y luego por el ácido acético. Las placas fibroides aparecerán coloreadas en rosa, que contrastará con el color blanco del resto de materia fundamental. Si antes de la acción del ácido acético se tiñe la preparación con hematoxilina, la coloración será doble: las cápsulas se mostrarán violadas, rojos los núcleos y placas fibrosas e incolora la materia fundamental.

En fin, el cartílago reticular o elástico podrá estudiarse, a más de los métodos ordinarios, por el de la orceína y el de la kresofuchina, colores que impregnan bien las fibras elásticas (véase *Preparación del tejido conectivo*).

CAPÍTULO VII

TEJIDO ÓSEO

Definición. — El tejido óseo consiste en una trama compuesta de una materia fundamental laminar, incrustada de sales calcáreas, en cuyo seno se hallan huecos de forma estrellada ocupados por las células.

Caracteres físicos y distribución general. — Reside este tejido en todos los huesos de los vertebrados, excepción hecha de los peces óseos, cuyo esqueleto presenta una estructura semejante al marfil. Macroscópicamente, un corte de hueso manifiesta una trama blanca, dura, incrustada de sales, y numerosas cavidades ocupadas por la médula y los vasos. Cuando estas cavidades son pequeñas, casi invisibles a simple vista, el hueso se llama *compacto*; si son más amplias que los tabiques óseos y poseen forma areolar, el hueso se llama *esponjoso*; y, por último, denominase *reticular* cuando la urdimbre sólida es filamentosa y se dispone en red de tres dimensiones. Estas diferencias macroscópicas no implican diversidad de constitución histológica, porque cada trabécula ósea, cualquiera que sea el hueso de que provenga, presenta exactamente la misma estructura.

Caracteres micrográficos. — El hueso fresco examinado al microscopio, previa decalcificación, nos revela las siguientes partes: materia fundamental, conductos de Havers, lagunas óseas, conductos calcóforos, fibras de Sharpey y células óseas.

Conductos de Havers. — Así llamados en honor de su descubridor Clopton Havers; son unos conductos cilíndricos, de diámetro variable (oscila entre dos centésimas y tres décimas de milímetro), que constituyen en el espesor de la materia fun-

damental una red de extensas y cuadrangulares mallas. Comunican hacia afuera con la superficie del hueso, desembocando en los finos conductos nutricios, y desembocan por dentro en el conducto medular o en las diversas areolas del tejido espon-

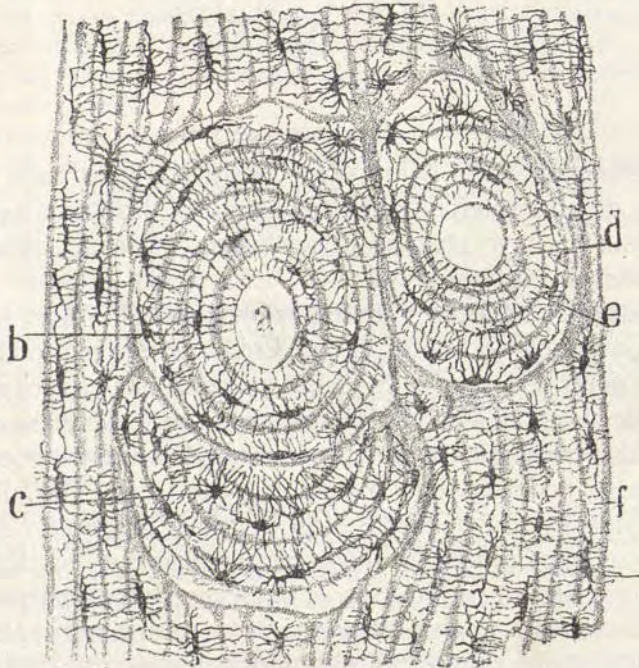


Fig. 216. — Corte transversal de un hueso largo. Las cavidades aparecen negras por estar llenas de aire. *a*, conducto de Havers cortado de través; *b*, lagunas óseas; *c*, lagunas óseas de un sistema de Havers en parte reabsorbido; *d*, zona oscura de una laminilla; *e*, zona clara; *f*, laminillas fundamentales externas.

joso. En la diáfisis de los huesos largos, las redes forman mallas longitudinales y paralelas al eje; en los huesos anchos, la reticulación es radiada y parecida a la tela de una araña; en los huesos cortos no existe orientación dominante (fig. 216, *a*).

Contienen los conductos de Havers de regular calibre una pequeña arteria, una vénula y algunos osteoblastos periféricos, restos todavía de la época osteogénica. Los conductos más

finos encierran exclusivamente un capilar. Ciertos autores mencionan aún cierto espacio linfático que rodearía el capilar, separándole de la superficie ósea.

Matèria fundamental. — La substancia que sirve de fondo a las cavidades del hueso no es homogénea, sino estratificada; y los estratos o laminillas representan hojas cilíndricas íntimamente adheridas entre sí y dispuestas en torno del hueso o de los conductos de Havers, como las capas concéntricas del tronco de un árbol. Distínguense, por su situación, cuatro clases de laminillas: *láminas fundamentales externas o tangenciales*, las cuales rodean, en número de 10 a 20, la superficie total del hueso; *láminas fundamentales internas*, que en número generalmente menor constituyen un revestimiento en el conducto central o en las areolas del hueso; *laminillas o sistemas de Havers* (fig. 216, *b*), que contornean los conductos de este nombre, y, finalmente, *láminas intermediarias*, que son aquellas capas, por lo común interrumpidas, concéntricas a las láminas fundamentales, que rellenan los intersticios existentes entre los sistemas o laminillas de Havers (fig. 216, *f*).

Cuando se examinan las laminillas en cortes óseos finos y conservados en bálsamo del Canadá, nótase que cada una de ellas consta en realidad de dos zonas: una, *granulosa y obscura*, y otra, *brillante y finamente estriada* a lo largo (fig. 216). Si la laminilla observada pertenece a un sistema de Havers cortado de través, la zona clara mira hacia adentro y la granulosa hacia afuera; lo contrario sucede si el corte es paralelo o longitudinal a dicho conducto. Estas propiedades, junto con el aspecto que las laminillas ofrecen en los cortes de hueso, decalcificados y macerados en cloruro de sodio al 10 por 100, han conducido a Ebner y Kölliker a una noción sobre la estructura de las laminillas, que ha sido aceptada por casi todos los autores (fig. 217).

Cada lámina está formada de una doble zona de hacecillos conectivos finísimos, de 1 a 3 μ de espesor. Semejantes hacecillos, cuya fibrilación aparece un poco incierta, a consecuencia de los cambios inducidos por la calcificación, afectan en cada zona de las laminillas dirección diferente, a menudo contra-

puesta. La zona llamada granulosa (fig. 217, A) aparece tal por presentar los hacesillos cortados de través, y la zona brillante y estriada debe su aspecto a que dichos fascículos se muestran cortados a lo largo (fig. 217, B).

Finalmente, los hacesillos que, por su adosamiento, constituyen cada zona, no marchan precisamente paralelos; a menudo se cruzan en ángulos agudos, dejando unos agujeros para el paso de los conductos calcóforos (fig. 217, c); mas en todo

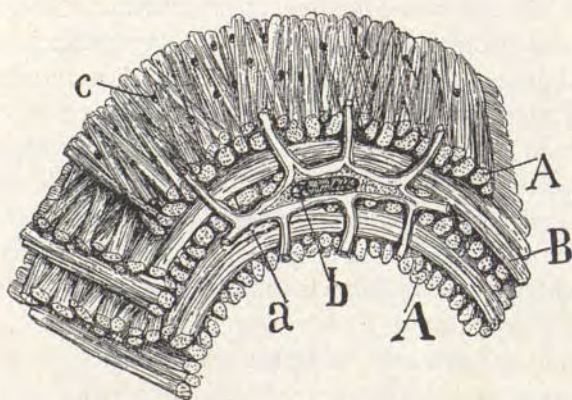


Fig. 217. — Representación esquemática de la estructura de las laminillas de la materia fundamental ósea de un sistema de Havers. A, haces de las zonas granulosa; B, haces de las zonas hialinas o estriadas; a, pared del osteoplasma; b, célula ósea.

caso, los haces de una zona afectan una orientación dominante, casi perpendicular a la seguida por los de las zonas inmediatas.

Lagunas y conductos calcóforos (fig. 216, c). — En el espesor de las laminillas, y siguiendo su misma dirección, hállanse esculpidas unas cavidades estrelladas, donde se alojan las células óseas. Estas cavidades, llamadas *lagunas óseas* u *osteoplasmas*, son aplanadas en el sentido de las laminillas y alargadas en la dirección de los conductos de Havers o del eje del hueso. Su longitud es de 14 μ , poco más o menos, y su espesor de 4 μ .

De la periferia de las lagunas óseas brotan numerosos con-

ductitos, los *conductos calcóforos*, de 1 a 2 μ . de diámetro, ramificados en su camino y anastomosados con los de las lagunas concéntricas o exteriores inmediatas (fig. 216). Por su dirección pueden distinguirse los conductos calcóforos en *convergentes* (los que marchan radialmente hacia adentro), los *divergentes* (los que van en sentido contrario a los anteriores) y los *circunferenciales* (los orientados según el arco de las laminillas para enlazarse con los osteoplasmas del mismo estrato). Los conductitos procedentes de la laminilla más periférica de un sistema de Havers suelen retornar a su punto de nacimiento, anastomosándose con los compañeros (*conductos recurrentes*), y los conductitos convergentes de la primera o más concéntrica hilera de osteoplasmas desembocan en el conducto de Havers. Finalmente, las lagunas de los estratos limitantes del hueso comunican con la superficie libre.

Tanto las lagunas como los conductos calcóforos se muestran de color negro (a causa del aire que contienen) en las preparaciones de hueso macerado y seco. Si, a favor del bálsamo líquido o de una esencia se expulsa el aire, el corte se aclara y dichas cavidades se dibujan pálidamente, desapareciendo del todo sus contornos. Los cortes de hueso fresco revelan también vagamente los osteoplasmas y conductos calcóforos, advirtiéndose en éstos que contienen, no aire, sino un líquido plasmático transparente.

Células óseas (fig. 218, A). — En los cortes de hueso fresco o decalcificados por los ácidos aparecen dentro de las lagunas unos corpúsculos pequeños, fusiformes, llamados, en honor de su descubridor, *células Virchow*. El núcleo es alargado y más o menos homogéneo, y el protoplasma, por lo común poco abundante, se acumula en los polos nucleares.

Varía mucho la disposición de estos corpúsculos según la edad del hueso. En los huesos embrionarios o procedentes de mamíferos jóvenes, el protoplasma es relativamente abundante y se estira en expansiones finas insinuadas en los conductos calcóforos, conforme mostramos en la figura 218. Estas prolongaciones parecen llenar los conductos y anastomosarse, formando complicada red con los vecinos elementos. Semejante

disposición se muestra también en los huesos adultos de los urodelos (*pleurodeles Watlii*). En los mamíferos adultos las células aparecen atrofiadas, y de sus expansiones no quedan más que los apéndices polares, libremente terminados en el osteoplasma. En torno de la célula existe un espacio considerable ocupado por el plasma.



Fig. 218. — Pedazo de una concha de las fosas nasales de un conejillo de Indias de pocos días. Vista de plano de las células, que están coloreadas por el carmín. A, protoplasma; B, conducto calcóforo. En el arranque de los tubitos penetran apéndices protoplásmicos.

Membrana celular fundamental no puede discernirse; en cambio, las observaciones de Neuman, Virchow y otros prueban que existe una cápsula de secreción, prolongada con la capa limitante de los conductitos calcóforos, y que no es más que la zona de materia fundamental calcificada más próxima a la laguna, zona que, bajo la acción de los ácidos, podría aislarse del resto de la substancia intersticial (fig. 216, a).

Fibras de Sharpey. — Cuando se examina un corte transversal de la diáfisis de un hueso decalcificado, se ven emerger de la cara interna del periostio unas fibras largas, flexuosas, a veces ramificadas, que atraviesan perpendicularmente las láminas fundamentales externas e intermediarias, sin rebasar jamás los límites de los sistemas de Havers.

Estas fibras son fascículos conjuntivos no calcificados, continuados con los del periostio, y los cuales, desde la época osteogénica, quedaron enterrados en el seno de la formación ósea periostal. Faltan constantemente en el hueso endocondral. En ocasiones, como Kölliker ha demostrado, contienen también fibras elásticas.

Caracteres químicos del hueso. — El tejido óseo está construido de dos materiales principales: *osteína*, substancia

susceptible de convertirse en gelatina por lo cocción, y las *sales*, entre las que dominan el *fosfato* y *carbonato de cal*. La unión de éstas dos especies de materia es muy íntima, y sus proporciones relativas pueden considerarse como constantes e independientes del sexo y edad de los animales.

Según Ebner, las sales hallaríanse localizadas en la materia interfibrilar de las laminillas, constituyéndose los hacecillos exclusivamente de osteína; empero las observaciones de Kölliker y las nuestras enseñan que la repartición de ambas substancias es uniforme, comprendiendo hacecillos y materia fundamental (1).

He aquí las proporciones en que, según Berzelius, entran los componentes del hueso:

| | | | |
|------------------------------------|---|---|-------|
| <i>Substancias orgánicas</i> . . . | { | Osteína | 32,17 |
| | | Materia irreductible por la cocción | 1,13 |
| <i>Substancias minerales</i> . . . | { | Fosfato de cal | 51,04 |
| | | Carbonato de cal | 11,30 |
| | | Fluorato de cal | 2,— |
| | | Fosfato de magnesia | 1,16 |
| | | Sosa y clorhidrato de sosa | 1,20 |

Propiedades fisiológicas. — El tejido óseo posee usos, pero no propiedades fisiológicas. Sus células, llegadas a la época adulta, pueden considerarse en vías de atrofia y son incapaces de proliferación. Lo que en dicho tejido vive es la médula y el periostio, a cuyas expensas se regenera el hueso, después de una lesión o fractura. Cuando el hueso es joven, los conductos calcóforos llevan a las células los jugos absorbidos, ora en la superficie perióstica y medular, ora en los capilares de los conductos de Havers; mas en el hueso viejo esta irrigación nutritiva se dificulta, a causa de la obstrucción creciente de muchos conductos calcóforos (sobre todo los que desaguan en los conductos de Havers) y del angostamiento de no pocos osteoplasmas.

Osteogenesis. — El tejido óseo es una formación secun-

(1) Véase nuestro *Manual de Histología y técnica*, pág. 475.

daria y tardía, acaecida en el seno de otros tejidos, el cartilaginoso y fibroso. Cualquiera que sea su asiento, el proceso osteogénico presenta los mismos rasgos esenciales, reduciéndose en el fondo a un cambio en las propiedades fisiológicas de las células conjuntivas, las cuales adquieren la virtud de segregar una materia fundamental calcárea. Las dos formas que suelen distinguirse, a saber, la *osificación endocondral* y la *periostal* o a expensas de tejido fibroso, no resultan diversas por el fondo, sino por la forma; en la osificación endocondral la secreción del hueso va precedida de la absorción del cartílago; mientras que en la osteogenesis, a expensas del tejido fibroso, no existe trabajo previo demoledor, depositándose la materia fundamental en la trama conectiva preexistente.

Osificación endocondral. — El proceso osteogénico no se desenvuelve simultáneamente en todo el espesor de cada cartílago del esqueleto embrionario; se inicia en ciertos parajes, constantes en número y posición para cada hueso, que se llaman *puntos de osificación*.

Cuando se examina al microscopio un fino corte de un punto o zona de osificación del cartílago endocondral, atrae nuestra atención una serie de cambios estructurales, que enlazan, por suaves graduaciones, el cartílago normal con el hueso neoformado. Estos cambios, reveladores del mecanismo osteogénico, pueden distinguirse por zonas, que son, a partir del territorio cartilaginoso indiferente, las siguientes:

Zona proliferante. — Iníciase el proceso osteogénico por el aumento de volumen de las células cartilaginosas, así como por la celeridad de sus divisiones. Abundan en esta zona las células con dos núcleos y las cápsulas que encierran dos o cuatro células recién engendradas (fig. 219, A). El aparato de Golgi es pequeño y denso, dividiéndose también en cada partición celular.

Zona de células seriadas. — Las familias celulares, fruto de la proliferación, se disponen en series o hileras paralelas y perpendiculares al plano de osificación. Las células de cada grupo se aplanan y aproximan por sus caras, ganando en talla conforme se acercan a la zona siguiente (fig. 219, B). Como mos-

tramos en la figura 221, el aparato de Golgi gana sucesivamente en robustez, situándose habitualmente en un lado o punta protoplásmica del condroblasto (A). Cuando éste contiene dos

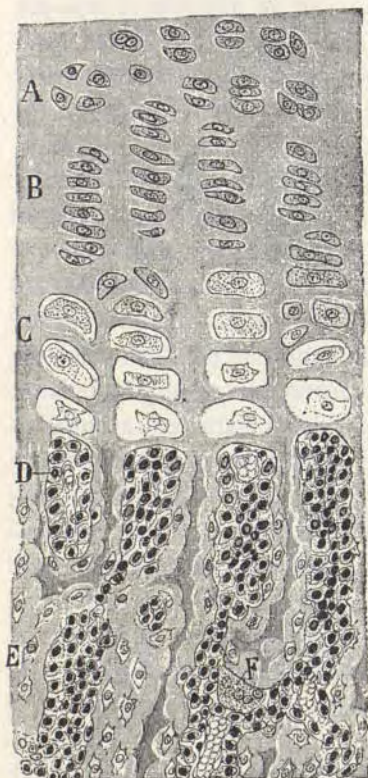


Fig. 219. — Osificación endocondral. Corte de un metacarpiano de perro recién nacido. Decalcificación en ácido pícrico. A, zona de proliferación de las células cartilagosas; B, zona de las células seriadas; C, zona de los grandes condroplasmias; D, zona de los espacios medulares; E, tiras óseas recién formadas; F, osteoclasto al nivel de una tira ósea interrumpida.

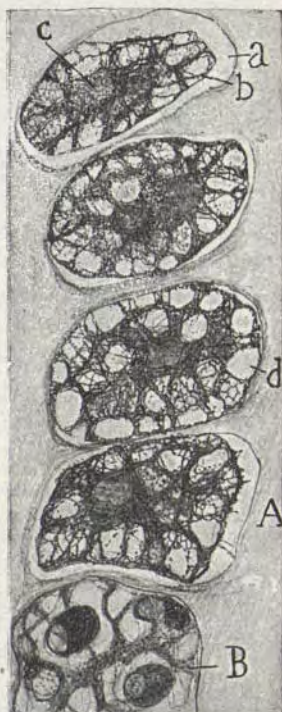


Fig. 220. — Detalles de las células habitantes en los grandes condroplasmias (A). Método de impregnación argéntica previa fijación en urano-formol. a, condroplasma; b, retículo; c, núcleo; d, vacuolas; B, restos del retículo de un condroblasto dentro del espacio medular invadido por osteoblastos.

núcleos (a), el citado aparato sitúase entre ambos, formando una especie de placa ecuatorial. En fin, el protoplasma inicia la formación de vacuolas.

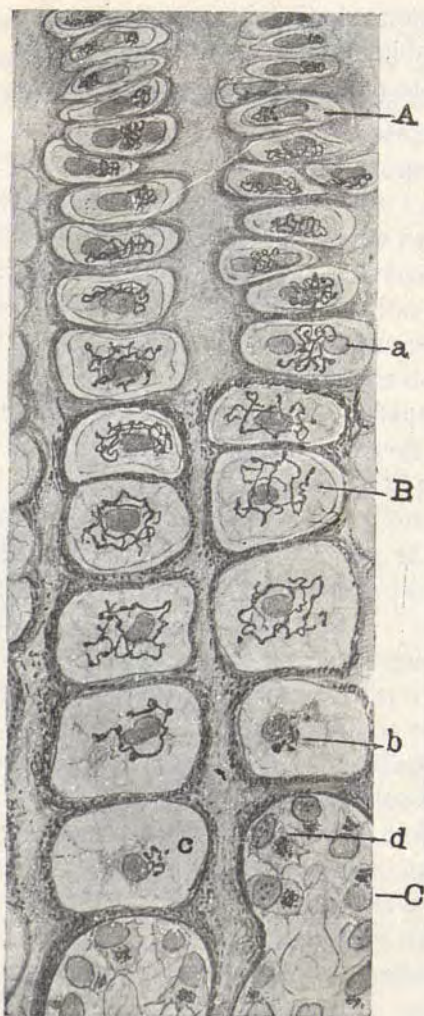


Fig. 221. — Cartilago osificante de la epifisis tibial de un conejo de cuatro días. Método del nitrato de plata reducido (fijación en formol). A, cartilago seriado; B, zona de los grandes controplasmas; C, espacio medular; a, aparato de Golgi ecuatorial en un condroblasto binucleado; b, c, reducción y fragmentación del retículo en la vecindad del hueso; d, osteoblastos con aparato de Golgi diminuto.

Zona de atrofia o de los grandes condroplasmias. — La seriación celular se mantiene, mas no la disposición de las células, que sufre grandes metamorfosis. Merced a un movimiento de absorción de la materia fundamental, ampliarse los condroplasmias, en cuyo interior se ven los elementos cartilaginosos marchitos, retraídos, sin señales de proliferación y provistos de un núcleo arrugado, poco capaz de teñirse por los reactivos de la cromatina. La materia fundamental comprendida entre las series se estrecha, mostrándose más o menos calcificada (fig. 219, C).

El método argéntico (fijación al urano-formol) revela netamente el proceso de vacuolización, provocado por la afluencia de gran cantidad de líquido (fig. 220). Entre las gotas de plasma, el retículo protoplásmico, de aspecto granuloso, destaca teñido en negro. La vacuolización acaba por desgarrar la porción periférica del soma, que se retrae y arruga después en jirones. El citado proceso de vacuolización reconócese, aunque menos aparente, en las preparaciones comunes (hematoxilina, etc.), según mencionan

diversos autores, modernamente Renaut, Dubreuil y nosotros (1914).

Pensa (1913) hace notar las metamorfosis sobrevenidas en el aparato de Golgi. En la figura 221 aparecen reproducidas tal como se hallan en nuestros preparados. Nótese que, a medida que nos acercamos a los espacios medulares, el retículo se hipertrofia, sus cordones se espesan y prolongan, diseminándose por un área considerable del soma y rodeando el órgano nuclear; finalmente, al nivel del último colosal condroplasma, la red de Golgi se encoge y fragmenta, destruyéndose, al parecer (fig. 221, *b*).

Zona de las lagunas medulares. — Durante la fase anterior, numerosos capilares brotan de la red del pericondrio, los cuales, escoltados por rico cortejo de corpúsculos conectivos embrionarios, invaden la zona de los grandes condroplasmas, absorbiendo los tabiques intercavitarios y destruyendo las células cartilaginosas degeneradas (figuras 219, *D*, y 221, *C*). Resultado de esta labor demoledora es la aparición de vastos espacios longitudinales, más o menos paralelos, cuyos contornos festoneados constituyen todavía los restos de los grandes condroplasmas. En algún caso subsiste aún, dentro del espacio medular, una red complicada, residuo verosímilmente del condroblasto necrosado (fig. 220, *B*).

Aparición de los osteoblastos. — En cada laguna medular adviértese un asa capilar y un conglomerado de diminutos corpúsculos poliédricos, fusiformes o triangulares, que llenan todo el hueco esculpido en la materia fundamental cartilaginosa. De entre estos corpúsculos (que no son otra cosa, como antes indicamos, que células conjuntivas llegadas del pericondrio), los tangentes a las paredes de la laguna forman un revestimiento más o menos continuo, adquieren figura estrellada y se aplican íntimamente a las tiras cartilaginosas limitantes (fig. 219, *D*). La virtud que tales corpúsculos poseen de segregar la substancia intercelular del hueso les ha valido el nombre de *osteoblastos*. En cuanto a los elementos conectivos no marginales, yacentes por debajo de los anteriores y desprovistos todavía de aptitud secretora, toman el nombre de *osteoblastos embrionarios*. Su misión consiste en generar por división nuevos elementos, transformables en *osteoblastos maduros*, en cuanto los primeros se convierten en células óseas (fig. 223).

El osteoblasto en sazón posee forma estrellada. De sus contornos emanan largos y finos apéndices: unos, exteriores, radiados, regulares, dirigidos hacia las paredes del espacio medular; otros, menos numerosos, son interiores, irregulares, anastomosándose, según demostró Spuler y han confirmado modernamente Dubreuil y Deineka (1914) con los apéndices de los osteoblastos embrionarios o indiferenciados, situados más profundamente (fig. 224).



Fig. 222. — Osteoblastos rellenos de mitocondrias tomados de la porción ósea periosteal de un feto de cerdo de 8 centímetros de longitud. *a, b*, expansiones del osteoblasto; *n*, núcleo; *s*, región libre de mitocondrias donde se aloja el centrosoma y la esfera atractiva (método de Golgi). Figura de Deineka.

Como todas las células jóvenes en fase de actividad secretoria, encierra el soma del osteoblasto gran riqueza de granulaciones de diversa especie (Askanazy, Sacerdotti y Fratini, 1903). Renaut, que las ha estudiado bien, las designa *gránulos de secreción*. Recientes análisis de Dubreuil (1912), efectuados con ayuda del método de Regaud, y los de Deineka, realizados por el de Golgi (1914), han revelado que la mayoría, si no todas las citadas granulaciones, representan las mitocondrias del osteoblasto. Nuestras observaciones, recaídas en el cartílago en vías de osificación del conejo recién nacido, confirman plenamente este dictamen (método del urano-formol), gráficamente reproducido en la figura 222, tomada del excelente trabajo de Deineka. También hemos corroborado un detalle interesante, consignado por Renaut, Dubreuil y Deineka; a saber: que las mitocondrias, acumuladas en el lado del protoplasma orientado hacia las masas cartilaginosas, reservan, no lejos del núcleo, un espacio claro destinado a alojar el centrosoma y esfera atractiva (*s*).

En cuanto al aparato de Golgi, no bien diferenciado por Deineka, pre-

séntase granuloso, relativamente pequeño (fig. 223) y ocupa la región misma del centrosoma. Los detalles de su estructura y posición, así como de las transformaciones sufridas después de su inclusión en la materia fundamental, muéstranse en la figura 223.

El trabajo constructor de los osteoblastos comprende dos períodos de desigual actividad. Durante el primero, la cara ex-

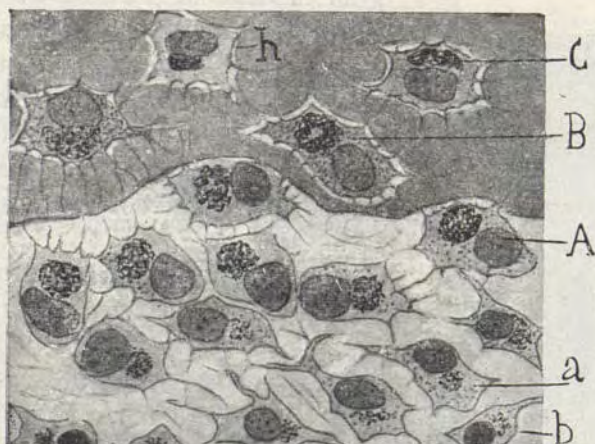


Fig. 223. - A, osteoblastos maduros; B y C, células óseas mostrando el aparato de Golgi; a, osteoblasto embrionario; h, célula ósea con aparato de Golgi en regresión.

terior de estas células segrega un material hialino, que no tarda en atraer las sales calcáreas de los plasmas interorgánicos; durante la segunda, la secreción celular amaina y el corpúsculo queda empotrado en la materia fundamental, merced a la actividad secretora despertada en una nueva serie de osteoblastos que han surgido por diferenciación del seno de los corpúsculos embrionarios del espacio medular. Envuelta esta nueva hilera por el material orgánico calcáreo, aparece otra serie de osteoblastos activos, y así sucesivamente, hasta que el espacio cavernoso agota casi sus células embrionarias. Como cada célula englobada posee forma estelar y sus apéndices se anastomosan en red, la substancia fundamental reserva también unos finos con-

ductos para alojar estas expansiones. Tal es el origen de los conductos calcóforos (fig. 224).

Zona del hueso embrionario. — En los parajes donde la osificación está más avanzada, la trama ósea no presenta exactamente la estructura adulta: falta la estratificación de la materia fundamental, y los conductos de Havers, todavía anchos y anfractuosos, se comunican ampliamente entre sí y contienen una gran cantidad de médula embrionaria. Entre las formaciones óseas que rodean cada conducto vascular subsisten todavía las *tiras cartilaginosas directrices*, es decir, aquellas columnas de materia fundamental cartilaginosa que separaban en la fase antecedente los grandes espacios lacunarios.

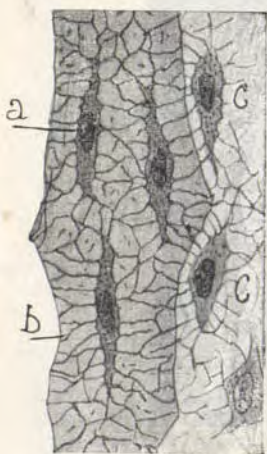


Fig. 224. — Osteoblastos jóvenes (C) del conejo recién nacido (tibia). a, células óseas; b, conductos calcóforos.

Osteogenesis periostal. — Mientras en el seno del cartílago ocurren los fenómenos que acabamos de exponer, la superficie del mismo es asiento de otra formación debida a la actividad osteogénica del periostio. Posee esta membrana dos zonas: *superficial o fibrosa*, pobre en células y capilares, pero rica en haces conjuntivos; *profunda u osteogénica* escasa en haces, pero copiosa en corpúsculos embrionarios y capi-

lares. Las células más hondas adquieren forma poliédrica y se adhieren al cartílago, dando origen a una capa casi continua de *osteoblastos periósticos* (fig. 225, B). Estos osteoblastos emiten hacia el cartílago finas expansiones y no tardan en segregar una materia fundamental afine de las sales, y en la que, según ocurre en la formación endocondral, quedarán sucesivamente emparedados. Edificanse de este modo diversos estratos de materia ósea, en cuyo seno se observan espacios cavernosos comunicantes con el periostio y en donde se alojan capilares y una capa de osteoblastos activos (fig. 225, C).

El hueso periostal júntase al endocondral, conservando sus

caracteres embrionarios durante algún tiempo, hasta que se inicie el proceso de absorción.

Por igual mecanismo se produce la osificación en el seno de membranas fibrosas, tales como las que originariamente constituyen los huesos de la bóveda craneal. Estas membranas, que son verdaderos periostios independientes, se vascularizan

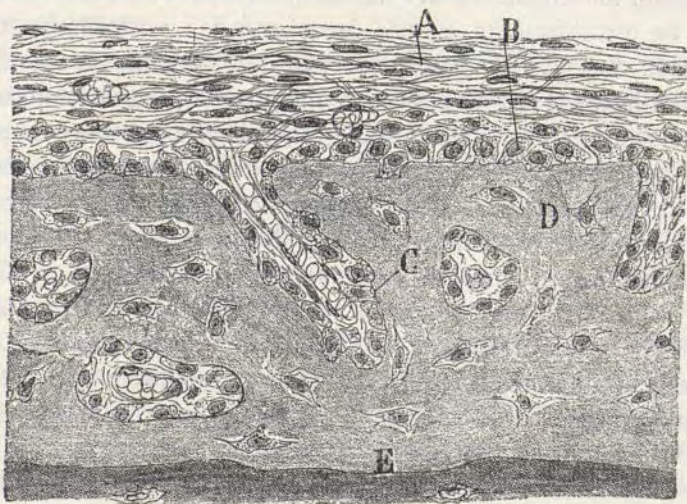


Fig. 225. — Periostio y hueso periosteal en vías de formación en un metacarpiano de feto humano. A, zona fibrosa del periostio; B, capa germinal o de osteoblastos; C, osteoblastos englobados en la materia fundamental.

en el paraje donde se iniciará la osificación; la cara interna de la capa fibrosa se puebla de osteoblastos, que no tardan en producir el material calcáreo, en donde quedarán englobados. Como el depósito ocurre en un tejido fibroso, los haces conectivos quedan envueltos con las células en la misma substancia intersticial, lo que explica la abundancia de fibras de Sharpey en la trama de los huesos anchos.

Absorción y construcción definitiva del hueso. — El hueso embrionario es una formación transitoria destinada a desaparecer por absorción, para ceder su lugar a una construcción más regular de la trama ósea.

Fijémonos en lo que ocurre en los huesos largos, donde el proceso osteogénico se ha estudiado mejor. Estos órganos poseen dos formaciones óseas: una central, nacida en el cartílago de la diáfisis y extendida hasta las extremidades, y otra periférica, desarrollada debajo del periostio y prolongada solamente hasta el contorno del cartílago articular. Ambas construcciones ofrecen los caracteres del hueso embrionario; a saber: ausencia de estratificación, células óseas grandes y estrelladas, conductos de Havers anchos, cavernosos y rellenos de médula y osteoblastos. Falta el conducto medular. En las extremidades del hueso subsiste todavía una gran parte del cartílago fetal.

En tal situación, la absorción comienza. Por diferenciación de los osteoblastos de los espacios medulares de la formación endocondral se producen unas células grandes, granulosas, multinucleadas, llamadas *osteoclastos* o corpúsculos de Kölliker, las cuales se apoyan sobre las trabéculas óseas, desgastándolas y corroyéndolas en virtud de una acción digestiva que puede compararse a la realizada por el zoospermo al disolver la membrana del óvulo. Las fosetas labradas por dichas células en la materia ósea se llaman lagunas de Howship (fig. 219, F).

Fórmase de esta suerte el conducto medular de la diáfisis, el cual va ensanchándose progresivamente, merced al trabajo demoledor de los osteoclastos, hasta destruir toda la formación endocondral y una buena parte de la periostal. Semejante destrucción queda compensada por el depósito de nuevas capas en la zona osteogénica del periostio, así como en torno de las expansiones que esta membrana dirige al espesor del hueso recién formado. Sólo en las epífisis subsistirá la primitiva edificación endocondral, que se transformará, con el tiempo, en la substancia esponjosa del hueso adulto.

No paran aquí las transformaciones óseas. Aun después del nacimiento prosigue la absorción, sufriendo nuevos retoques la construcción periostal, para dar origen al hueso definitivo. Por este tiempo ocurre la estratificación de la materia fundamental, el angostamiento de los conductos de Havers, cuyos osteoblastos desaparecen en gran parte, y la edificación de las láminas fundamentales internas, debidas al trabajo de la capa

de osteoblastos que envuelve la médula ósea. Testimonio de estos demolimientos y reconstrucciones son esos sistemas de Havers a medio absorber que nos presentan los cortes de hueso adulto. La línea más o menos desigual, a cuyo nivel las laminillas óseas aparecen interrumpidas por el trabajo demoledor, llámase *línea de absorción*, y *línea de aposición* el contorno del sistema de Havers más moderno que reemplaza al parcialmente destruido.

En suma, el modelamiento definitivo del hueso es debido a la colaboración armónica de dos clases de células: los *osteoblastos*, que segregan el material orgánico-calcáreo, y los *osteoclastos*, que lo destruyen o retocan hasta reducirlo a la forma definitiva. Una vez acabada la evolución, el osteoblasto, empujado en la materia fundamental, pierde la cualidad secretora, así como la virtud proliferante, y no tarda en caer en la atrofia y aniquilamiento. Mucho antes perdió ya, según ha mostrado Deineka, sus mitocondrias, exhibiendo solamente en un lado del soma un minúsculo y atrófico aparato reticular de Golgi. La vitalidad del hueso quedará en adelante encomendada a las células periósticas y medulares, las cuales podrán, en caso de fractura o de destrucción de aquél, reparar el tejido, ajustándose al mecanismo de la osteogenesis periostal embrionaria. La célula ósea adulta debe estimarse, pues, como un elemento degenerado, incapaz de proliferación.

Preparación del hueso. — Osteoplasmas y conductos calcóforos.

Uno de los métodos mejores y más expeditos consiste en incluir en el bálsamo del Canadá seco, es decir, privado de su esencia, cortes convenientemente afilados y pulidos de huesos macerados. Para los detalles de manejo del bálsamo y de la obtención de los cortes de huesos, véase la *Técnica* en la página 116. Este procedimiento muestra perfectamente los conductitos y lagunas, que aparecen negras por estar llenas de aire, pero no preservan con igual claridad las laminillas de Havers. Para poner de manifiesto ambas cosas, debe escogerse el procedimiento de teñido con las anilinas.

Ranvier, que fué el primero en aplicar las anilinas con tal objeto, propuso impregnar las secciones de hueso con azul de anilina y conservarlas en glicerina salada. Pero, desgraciadamente, la preparación se decolora al poco tiempo, y los conductos óseos no se revelan con la claridad y limpieza que en los cortes conservados en bálsamo. Para obviar estos incon-

venientes propusimos nosotros el siguiente método, que proporciona preparaciones muy bellas y absolutamente permanentes (las que conservamos desde hace treinta años están hoy como el primer día).

Procedimiento de coloración del hueso según Cajal. — «Una sección oseá bien afilada en la piedra se abandona por algunos días en una solución alcohólica saturada de violeta de dalia (cualquier anilina insoluble en agua puede emplearse lo mismo). El corte y el líquido se colocan en un vidrio de reloj, a fin de que el alcohol se evapore rápidamente. Cuando el corte está seco, se afila nuevamente (en agua) por ambas caras hasta despojarlo de la costra superficial de color; se deja secar, previo lavado en agua destilada, y se le da transparencia en la esencia de bergamota. La preparación se concluye montando el corte (todavía mojado con la esencia), en el bálsamo del Canadá seco recién derretido al calor. La inclusión en la resina damar disuelta en la bencina es también de recomendar, pues no disuelve el violado de dalia. No obstante, nosotros preferimos el bálsamo seco, pues la preparación queda dura y manejable inmediatamente de terminada» (1).

Procedimiento de Zimmermann (2). — Este autor, sin tener conocimiento del método arriba citado, ha propuesto un procedimiento de teñido muy semejante al nuestro; a saber: «Delgados cortes de hueso, desengrasados en xilol, se tratan en caliente hasta desecación, por una solución alcohólica saturada de violeta de metilo. Los cortes desecados se privan de la costra exterior de materia colorante, raspándolos con un escalpelo y afilándolos en la piedra bajo una gota de xilol. Es recomendable calentar el bálsamo antes de cubrir la preparación para aumentar la densidad del vehículo».

Procedimiento de teñido con nitrato de plata. — Si un corte afilado de hueso se sumerge primeramente en nitrato de plata, se lava después en agua común y se expone al sol por algunos minutos, las laminillas óseas aparecerán impregnadas en café claro, y de un matiz más intenso el cemento separatorio de las mismas. Esta reacción, que ya fué notada por nosotros hace muchos años, ha sido primeramente publicada por Matschinsky (3), quien la ha utilizado ventajosamente para el estudio de la textura del hueso. También el método del nitrato de plata reducido y otras fórmulas argentícas tiñen bien los conductos del hueso (Deineka).

Demostración de la textura laminar. — Puede conseguirse fácilmente por el siguiente método, debido a Ebner: Comiénzase por diluir en un volumen de agua destilada una solución saturada de sal común, en cuyo líquido se abandonarán los trozos de hueso destinados a la decalcificación.

(1) Cajal: «Tejido óseo.» *Boletín Médico Valenciano*. Enero 1887.

(2) Zimmermann: «Demonstrationen der mikroskopische Präparate.» *Verhandlungen des anatomischen Gesellschaft auf dritten Versammlung in Berlin*. 10-12 October 1889.

(3) Matschinsky: «Ueber das normale Wachstum der Röhrenknochen, etc.» *Arch. f. mikros. Anatomie*. Bd. 29, 1892.

Para disolver las sales calcáreas, se añadirán al líquido, sucesivamente y por varios días, gotas de ácido clorhídrico, hasta que los huesos se tornen flexibles, constituyéndose lo que se ha llamado el *cartilago óseo*. Entonces se lavan prolijamente en agua corriente y se sumergen en una solución salina igual a la anterior, pero sin ácido, hasta que la pieza haya perdido su acidez, resultado que se obtendrá más seguramente alcalinizando ligeramente con amoníaco el licor salino. Los cortes, que deben ser muy delgados y tangenciales al hueso, se examinarán en agua destilada o en la misma solución salina. La disociación de las fibrillas se logrará dislacerando los cortes con las agujas o rascando las secciones longitudinales óseas con el filo de un escalpelo.

Este procedimiento puede simplificarse del modo siguiente, sin que los resultados nos parezcan inferiores: un corte conveniente desgastado del hueso óseo se deposita en un vidrio de reloj que contenga agua con algunas gotas de ácido clorhídrico. A los pocos minutos el corte, ya decalcificado, se lava muchas veces con agua destilada y se deja macerar por algunas horas en la solución salina al 10 por 100. La observación del preparado, así como la conservación del mismo, se efectuarán en este mismo licor.

Fibras de Sharpey. — Uno de los mejores métodos que pueden utilizarse para demostrarlas, es el que acabamos de describir. Es preciso que los cortes sean perpendiculares a la diáfisis de un hueso largo y que muestren de preferencia las láminas fundamentales externas. Serán útiles también los cortes normales a los huesos del cráneo, que, por ser de origen exclusivamente fibroso, contienen muchas fibras perforantes.

Para obtener las fibras de Sharpey aisladas o semiseparadas de las láminas que atraviesan, no hay más que desgarrar con las agujas un corte decalcificado. No es raro encontrar láminas desprendidas que llevan clavadas todavía algunas fibras perforantes. La continuidad de estas fibras con el periostio se demostrará fácilmente examinando huesos frescos decalcificados, preferentemente los del cráneo en vías de desarrollo (cabeza del perro o gato de pocos días).

Kölliker propone el siguiente medio de coloración de las fibras de Sharpey: cortes de cartilago óseo, obtenidos por cualquier procedimiento de decalcificación, son tratados durante algunos minutos por el ácido acético concentrado; sumérgense luego, por medio minuto, en una solución de carmín de índigo en ácido oxálico, y, por último, se lavan en agua destilada y conservan en glicerina. Las fibras de Sharpey aparecen de rosa pálido, y de azul claro la materia fundamental ósea.

Hay otro medio de demostración de las fibras de Sharpey que proporciona preparaciones muy demostrativas. Es sabido que estas fibras no están calcificadas, o, si lo están, lo son imperfectamente. Por consiguiente, si se destruyen las partes orgánicas del hueso, bien por la ebullición prolongada, bien por la calcinación, todo resto de fibras habrá desaparecido y el

lugar que ellas ocuparon aparecerá lleno de aire y con vigoroso contraste.

La calcinación (a la que nosotros debemos excelentes preparaciones) se practica depositando una lámina bien seca y afilada de hueso sobre una cápsula de platino calentada al rojo por la llama de gas o de alcohol. El corte óseo se volverá negro en seguida, pero a los pocos minutos emblanquecerá; entonces es cuando debe trasladarse con cuidado (es sumamente frágil) a un portaobjetos, donde se montará en preparación persistente con ayuda del bálsamo seco, recién derretido por el calor. Las fibras de Sharpey se mostrarán negras, así como las lagunas y conductitos sobre fondo incoloro.

Células óseas. — Las células óseas pueden examinarse en estado fresco, para lo cual se tomarán delgados pedazos de concha nasal de rata o de conejillo de Indias, que se examinarán en el licor salino indiferente, previo desprendimiento de la mucosa y periostio de que están revestidos. Asimismo cabrá utilizar pequeños cortes, practicados paralelamente a los huesos frescos con una navaja de filo duro. El estudio del núcleo se facilitará mucho sometiendo estos cortes a la acción de una solución acetificada de verde de metileno. El carmín y la hematoxilina no obran bien sino después de fijadas las células por el alcohol.

Las células óseas podrán estudiarse también en los cortes de hueso fresco-decalcificado por el ácido pícrico, crómico, etc. La coloración se efectuará en la hematoxilina, la tionina, la safranina, con sujeción a las reglas formuladas en la *Técnica general*.

Según Van der Stricht, nuestro método del nitrato de plata reducido colorea muy bien las células óseas del hueso fresco, así como los conductitos calcóforos. Deineka lo ha empleado también con éxito para la coloración de las expansiones de los neuroblastos jóvenes (1914). Aconseja la fijación en formol, lavado por varias horas, nitrato de plata durante tres o cuatro días y reducción en el piroformol. Resultados excelentes da también la fórmula al urano (fig. 224).

Desarrollo del hueso. — El examen debe recaer sobre huesos decalcificados y convenientemente indurados.

He aquí el procedimiento de decalcificación más recomendable:

En una solución saturada de ácido pícrico se dejarán macerar por algunos días trozos de hueso en vías de desarrollo. Se preferirán a este fin los metacarpianos y los metatarsianos del feto humano de cinco meses en adelante, los huesos del cráneo, de la mano y pie del conejo, gato, etc., recién nacidos o de pocas semanas. Se tendrá cuidado de observar el líquido diariamente y de mantenerlo a saturación agregándole un sobrante de cristales de ácido pícrico. Cuando la decalcificación sea completa se descartará el exceso de ácido pícrico, mediante la maceración de las piezas en el agua (por veinticuatro horas); se fijarán éstas en alcohol absoluto, que se mudará durante dos o tres días hasta completa deshidratación; luego se tratarán por cuarenta y ocho horas en una mezcla de éter y alcohol, y por último,

se impregnarán por varios días en celoidina siruposa. La pieza se pegará con la misma celoidina a la superficie de un corcho, y se someterá todo junto a la induración en el alcohol flojo. Los cortes microtómicos, que deben ser longitudinales en los huesos largos, se recogerán en el agua, se teñirán por las anilinas (procedimiento de Gieson, coloración triple de Cajal, azul-orange de Mallory, Azan de Heidenhain, safranina, tionina, etc.), se decolorarán en el alcohol absoluto y se lubricarán en esencia de bergamota, para montarlos en el bálsamo disuelto en cloroformo o xilol.

Para demostrar las mitocondrias de los osteoblastos, emplea Deineka el método de Golgi (fórmula argéntica al ácido arsenioso impregnadora del aparato reticular). Véase técnica de la célula. Según dicho sabio, la impregnación de las citadas granulaciones y aparato de Golgi exige una fijación brevísima (una a dos horas) en la mezcla formol-alcohol y ácido arsenioso, en vez de las doce que recomienda Golgi.

CAPÍTULO VIII

TEJIDO DENTARIO

Definición. — El tejido dentario es una trama dura, compuesta de un material orgánico calcáreo transparente, cruzado por multitud de conductitos que encierran plasma y los apéndices de ciertos corpúsculos alargados de la pulpa.

Esta definición se refiere al marfil, que representa al tejido principal del diente. El esmalte no es un verdadero tejido, porque no contiene células; representa en realidad un producto secretorio del epitelio del órgano adamantino de la época embrionaria. Tocante al cemento, debe considerarse como una formación ósea, engendrada por el periosto alvéolo-dentario. De todos modos, los caracteres micrográficos de estas tres formaciones son muy distintos, por lo que haremos de cada una de ellas una descripción separada.

MARFIL. — Distribución y caracteres macroscópicos. — Reside el marfil en los dientes de la mayor parte de los vertebrados, constituyendo la masa principal de dichos órganos. A la simple vista, muestran los dientes tres porciones: una prolongación profunda de color amarillento y de forma cónica llamada *raíz*; un ensanchamiento superior, de color blanco azulado y aspecto vítreo, llamado *corona*, y una ligera estrangulación intermediaria, correspondiente a la inserción de la encía, designada *cuello*. El interior del diente es hueco y contiene una masa blanda formada por tejido conjuntivo vascular, que se conoce con el nombre de *pulpa*.

Caracteres micrográficos del marfil. — Cuando se examina al microscopio un corte transversal de un diente, apare-

cen dos cosas: ciertos tubitos paralelos y la materia fundamental transparente.

Los tubos del marfil representan los calcóforos del hueso, con la diferencia de que, en vez de proceder de pequeñas cavidades o lagunas óseas, dimanan todos del hueco dentario central, asiento de la pulpa. Al nivel de su arranque, en el interior del diente, dichos tubos son relativamente espesos, pues miden un diámetro de 2 a 3 μ ; pero en su camino divergente hacia la periferia van perdiendo calibre, hasta reducirse cerca del cemento a menos de 0,5 μ . Los conductos del marfil marchan irradiados y más o menos paralelos, suministrando en su camino infinidad de ramificaciones finas que, anastomosándose entre sí, constituyen en la substancia fundamental una red complicada. A veces dichos tubos marchan ondulados, y como las revueltas de muchos de ellos yacen en el mismo plano, el aspecto de las mismas a pequeños aumentos es de bandas o fajas concéntricas a la cavidad central (líneas de Schereger). Por debajo del cemento, en una faja salpicada de cavidades (fig. 226, *e*), es donde tienen su remate los tubitos de marfil de la raíz del diente; los de la corona acaban debajo del esmalte a favor de penachos de ramificaciones (fig. 227, *b*). En el diente seco los conductos del marfil están llenos de aire, destacándose vigorosamente por tal motivo del fondo general; pero en el diente fresco, dichos tubitos contienen plasma y una prolon-

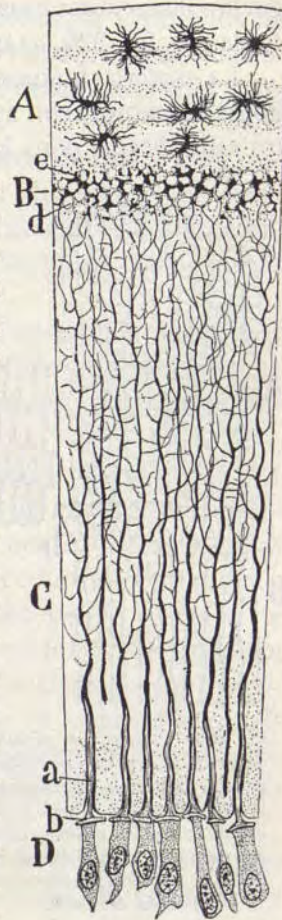


Fig. 226. - Trozo de un corte transversal de la raíz de un diente. En esta figura se han reunido las células periféricas de la pulpa, el marfil y el cemento. A, cemento; B, zona de los globos de la dentina; C, marfil mostrando sus tubos a lo largo; D, odontoblastos; a, expansión periférica de los odontoblastos; b, chapa exterior de éstos; d, globos de dentina; e, espacios interglobulares o red lacunaria.

gación filamentosa transparente de las células de la pulpa (odontoblastos, fig. 226, *a*) que llena sólo una parte de aquéllos.

La materia fundamental es transparente y homogénea a flojos aumentos; con ayuda de objetivos de inmersión se muestra estratificada, pero las zonas no son, como ha demostrado

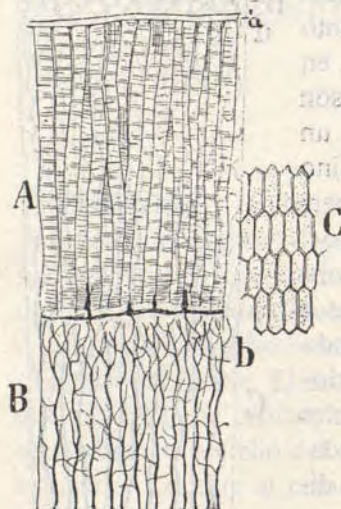


Fig. 227. — Esmalte y terminación del marfil. A, capa del esmalte que muestra los prismas seccionados a lo largo; B, parte periférica del marfil; C, algunos prismas cortados de través; a, cutícula del esmalte; b, penachos periféricos de los tubos del marfil.

Ebner, rigurosamente concéntricas a la cavidad central. Estos estratos son comparables a las laminillas óseas, constando de fascículos de 2 μ de espesor, cuya dirección general es la del mismo diente (Ebner). Semejantes haces de hebras entrecrúzanse en ángulo agudo dentro de cada lámina, limitando unos estrechos resquicios para el paso de los tubitos de marfil, que atraviesan casi perpendicularmente los estratos (1). Por lo demás, las laminillas del marfil no son nunca tan distintas como las del hueso, a causa del poco contraste que, en punto a dirección, ofrecen los haces de una de ellas con relación a los de las inmediatas.

Debajo del cemento, entre éste y el marfil, se advierten varias zonas de ciertos corpúsculos cal-

cáreos, esféricos, macizos, brillantes, que se conocen con el nombre de *globos de dentina* (fig. 226, *d*). Entre tales esferas yacen unos huecos cavernosos, triangulares y escotados, llamados *red lacunaria del cemento* o *espacios interglobulares*. En estas oquedades irregulares, llenas de plasma en el diente

(1) La opinión de que las láminas del marfil están formadas de haces longitudinales, fué ya emitida por nosotros en 1887, en el 6.º cuaderno de nuestra obra: *Manual de Histología normal y técnica*. Ebner, independientemente de nosotros, llegó a este mismo resultado en su Memoria de 1890.

fresco, desaguan las últimas ramificaciones de los tubitos de marfil (fig. 226, e). No es raro ver por fuera de esta zona cavernosa otra formación lacunaria menos desenvuelta (red lacunaria secundaria).

CEMENTO. — El cemento es una especie de barniz óseo que recubre la raíz dentaria y cuyo espesor disminuye conforme ésta se acerca a la corona. Visto al microscopio en cortes transversales, exhibe la materia fundamental y los osteoplasmas (figura 226, A).

La substancia fundamental es diáfana, ligeramente amarillenta, y se dispone en capas concéntricas al marfil. Estas capas se distinguen en oscuras y claras, y afectan la misma composición que la del hueso.

Los osteoplasmas yacen solamente en la porción inferior del cemento, donde las estratificaciones de materia fundamental son más numerosas. Como las del hueso, dichas lagunas afectan una forma estrellada, y de sus contornos brotan finos conductitos calcóforos, que se distinguen por lo tortuoso de su curso y por terminar casi siempre en fondo de saco, sin anastomosarse con los procedentes de vecinos osteoplasmas. Sin embargo, los conductitos emanados de la hilera más baja de lagunillas suelen desaguar en los espacios interglobulares. En estado fresco, los osteoplasmas encierran corpúsculos de Wirchow.

ESMALTE. — Es una masa vítrea tan dura que raya en acero, constituida por fibras prismáticas exentas de estructura y segregadas en la época fetal por un órgano transitorio llamado *bolsa o germen adamantino*.

El esmalte posee color blanco azulado, es frágil y de fractura fibrosa y representa una costra de varios milímetros de espesor, que se adelgaza y termina al nivel del cuello dentario.

Un corte perpendicular a la superficie del esmalte presenta, cortados a lo largo, los prismas adamantinos, dispuestos a modo de fibras largas (fig. 227, A), paralelas, implantadas por su cabo profundo en el marfil y terminadas libremente en la superficie de la corona. Entre los prismas adviértese un cemen-

to de unión calcificado, que posee, como ha hecho notar Ebner, mayor resistencia que aquéllos a la acción del ácido



Fig. 228. — Corte de la papila dentaria del perro de dos meses (diente en vías de formación). A, fibras de Tomes penetrantes en el marfil; B, aparato de Golgi de los odontoblastos; C, núcleo de éstos; D, corpúsculos conectivos de la pulpa; a, haces colágenos penetrantes en el marfil; b, odontoblastos germinales; c, aparato Golgi de un elemento conectivo.

hidroclórico diluido; es decir, que cede difícilmente las sales en presencia de los ácidos. Este mismo autor ha probado que la dirección de los prismas dista mucho de ser paralela; en realidad, dispónense en eses, cuya dirección es cruzada con relación a la de los grupos o planos de fibras inmediatas. Los cortes transversales presentan los prismas como campos exagonales que recuerdan los epitelios. En la superficie del esmalte existe una zona delgada hialina, sumamente refractaria a los ácidos, que se designa *cutícula del esmalte* (figura 227, a).

Pulpa dentaria. — En la cavidad central del diente reside un tejido conectivo, rico en capilares sanguíneos, que puede considerarse, con ciertas limitaciones, como la representación de la médula del hueso.

Consta la pulpa de dos zonas: central y periférica. La central forma casi toda la pulpa, y se compone de una trama de hacecillos conectivos, en cuyas mallas se albergan multitud

de corpúsculos fijos, fusiformes o estrellados. En los animales jóvenes las expansiones de tales corpúsculos se anastomosan, generando una red complicada (fig. 228, *D*). Cerca del núcleo yace un aparato de Golgi apretado (fig. 228, *c*) y pequeño. Los vasos sanguíneos constituyen una red tupida, terminada no lejos del marfil, mediante asas periféricas.

La región periférica de la pulpa está compuesta de una hilera de células gigantes, alargadas (fig. 226, *D*), que se conocen con el nombre de *odontoblastos*. El cuerpo de estos corpúsculos es cilíndrico o prismático y alcanza longitud desigual: por abajo acaba por un extremo redondeado o mediante alguna expansión ramificada en la zona subsiguiente; por fuera aparece guarnecido por una chapa brillante en contacto con el marfil; finalmente, en su porción profunda contiene un núcleo ovoideo y bastante robusto. Pero el rasgo más notable de estas células, que ha servido para asimilarlas a los corpúsculos óseos, es el apéndice en forma de hierro de lanza, que, arrancando de la chapa exterior, se insinúa en los conductos del marfil para terminar libremente en el interior de éstos (figuras 226 y 228, *A*). Considérase esta expansión, que es sumamente pálida y algo estriada a lo largo, como una prolongación del protoplasma (fibra de Tomes).

Con esta laiga expansión penetran en los conductos del marfil, según ha probado recientemente Fritsch, haciendo uso de los métodos neurofibrillares, finos fascículos colágenos, continuados con la red intersticial de la pulpa y una larga y recta fibra nerviosa terminal.

Poseen los odontoblastos un aparato de Golgi muy desarrollado, fácilmente revelable en los dientes de los animales jóvenes (fig. 228, *B*).

Caracteres químicos del marfil. — Como el hueso, encierra el marfil osteína y sales. Según Bibra:

| | |
|--|-------|
| Substancia fundamental colágena. | 27,65 |
| Grasa. | 0,40 |
| Fosfato de cal y fluoruro cálcico. | 66,72 |
| Carbonato de cal. | 3,36 |
| Fosfato de magnesia | 1,08 |
| Diversas sales | 1,83 |

Se ve por el anterior cuadro que el marfil es más pobre que el hueso en materias orgánicas.

Odontogenesis. — Desde el segundo mes de la vida intrauterina están constituídos los gérmenes dentarios, que son dos:

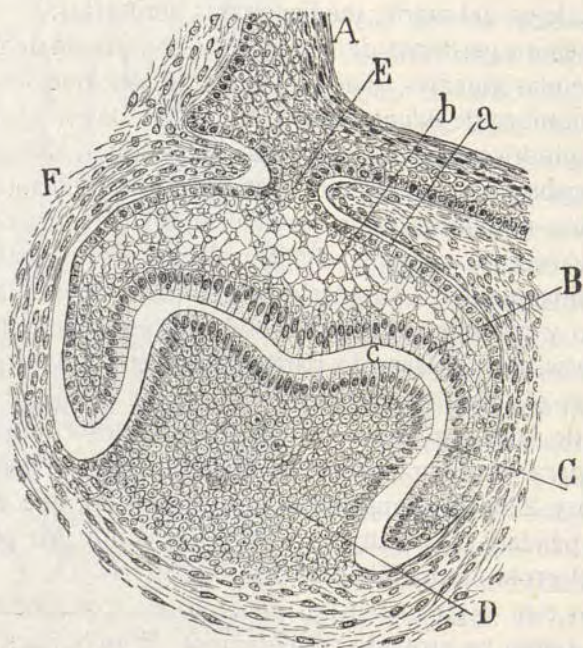


Fig. 229. — Corte de un germe dentario de un feto de ratón. A, epitelio bucal; B, bolsa epitelial u órgano del esmalte; C, capa de odontoblastos u órgano productor del marfil; D, papila dentaria; E, gubernaculum dentis o puente de unión entre el epitelio bucal y el órgano del esmalte; a, capa externa de este órgano; b, zona media o degenerativa; c, cavidad donde será segregado el marfil y esmalte.

uno, epitelial, llamado germe del esmalte; otro, conjuntivo, designado germe del marfil.

Germen del esmalte. — El epitelio bucal situado por encima de la mandíbula se engruesa, y de su cara profunda parte una expansión glanduliforme, que penetra en el espesor del maxilar, donde no tarda en abombarse, adquiriendo una figura comparable con el fondo de una botella (fig. 229, B). El pe-

dículo que junta la expansión epitelial con el tegumento mucoso (*gubernaculum dentis*) se estira y adelgaza, cayendo en atrofia, mientras que los corpúsculos de la bolsa epitelial experimentan importantes diferenciaciones. Dicha bolsa epitelial consta ahora de tres zonas bien distintas: interna, media y externa.

La *zona externa* (fig. 229, *a*) consta de una hilera de corpúsculos aplanados, irregulares, que no tardan en atrofiarse, sin tomar participación ninguna en la formación adamantina.

La *zona media* es espesa y más ancha en el centro que en los contornos de la invaginación epitelial (*b*); sus elementos, dispuestos en capas irregulares, se retraen y degeneran, dejando entre sus caras anchos espacios llenos de plasma. En ciertos puntos las células aparecen unidas por puentes comunicantes, restos de los filamentos intercelulares que enlazan entre sí los corpúsculos del cuerpo de Malpigio de la mucosa bucal. Tampoco esta zona o capa epitelial intermediaria posee virtud odontogénica.

La *zona interna* es la más importante, pues a su cargo corre la secreción de los prismas adamantinos; hállase constituida de una hilera de corpúsculos prismáticos gruesos, provistos de un núcleo residente cerca del cabo periférico de los mismos. La cara profunda de estas células aparece revestida de una chapa brillante (*B*), debajo de la cual, y en el espacio que media entre ella y la superficie del órgano del marfil, se depositarán los prismas del esmalte. Éstos se presentan primeramente en lo alto de la corona y se extienden ulteriormente por los lados, para terminar en delgada capa al nivel del cuello dentario. Examinada atentamente la capa adamantina recién construída, se ve que consta, como el esmalte adulto, de prismas exagonales, cuyos extremos periféricos encajan exactamente en los cabos centrales del epitelio formador; pero sin continuidad de substancia, pues el esmalte no representa otra cosa que un producto secretorio de la zona interna del germen adamantino. Esta secreción se verifica por estratos sucesivos, que se calcifican gradualmente, debiéndose el modelamiento en prismas del producto a que la actividad formadora reside solamente en la

cara profunda exagonal del epitelio, y no en el cemento de unión. Ulteriormente, el depósito calcáreo invadirá también los intersticios que separan cada prisma, constituyendo un todo coherente.

Germen de marfil. — Durante el desarrollo del germen del esmalte, el tejido conjuntivo embrionario situado por debajo de éste crece en forma de papila, empujando el fondo de la bolsa epitelial y obligándola a invaginarse como el fondo de una botella. La papila así formada (*D*) consta de corpúsculos pequeños, estrellados, separados entre sí por escasa materia intersticial transparente, así como por algunos capilares sanguíneos. Las capas centrales mantienen durante mucho tiempo su composición embrionaria, pero la hilera celular más periférica no tarda en experimentar cambios interesantes.

En efecto, sus elementos (fig. 229, *C*) se alargan y engruesan notablemente, presentando un cabo interno o convergente, más o menos redondeado, que contiene el núcleo, y un cabo externo o periférico terminado debajo del epitelio adamantino en un espacio plásmico, donde concurrirán el esmalte y el marfil. Estos corpúsculos, que representan una diferenciación conectiva muy importante, se designan con el nombre de *odontoblastos*; a su actividad secretoria específica se debe la producción del marfil. En la figura 228, *B*, mostramos los odontoblastos de los gérmenes dentarios del perro joven. Repárese la robustez del aparato de Golgi, peculiar de todo corpúsculo secretor, y la recia expansión ramificada en el seno de una materia amorfa, que no es otra cosa que dentina apenas calcificada (*A*).

Los odontoblastos, una vez formados, acrecen su tamaño y emiten, según dejamos dicho, una expansión recia, divergente y sumamente pálida (fibra de Tomes), que se prolonga en el espacio situado por debajo del órgano del esmalte. Este apéndice bifúrcase a veces o emite colaterales anastomóticas con las nacidas en elementos vecinos (fig. 228, *A*). Al llegar a esta fase, el cabo externo de los odontoblastos inicia su trabajo secretor, sedimentándose por fuera de los mismos, y entre las expansiones citadas, una costra de marfil, al principio blanda y

como gelatinosa (*membrana preformativa*), pero que no tardará en endurecerse a favor de depósitos calcáreos. Del mismo modo que ocurre en el hueso, las expansiones de los odontoblastos sirven para el moldeamiento de los conductos del marfil, en los cuales quedarán definitivamente englobadas. Una diferencia importante separa, sin embargo, el odontoblasto del osteoblasto: éste, por consecuencia de la interrupción de su actividad secretoria y de la transformación en células osteoblásticas de corpúsculos inmediatos, queda enteramente empotrado en el material calcáreo, mientras que aquél conserva su poder formador durante toda la época evolutiva y sólo engloba en la substancia fundamental su prolongación periférica.

El marfil suele aparecer antes que el esmalte, iniciándose también en lo alto de la corona y corriéndose después hasta la raíz del diente. A medida que aumenta el número de capas de marfil, los odontoblastos retíranse hacia adentro, retrayendo progresivamente su expansión protoplásmica periférica, que, en el momento del brote dentario, no parece ocupar más allá del tercio interno de los conductitos de la dentina.

Según Hansen y Korff, la substancia fundamental primordial aparecida por encima de los odontoblastos no es homogénea, sino fibrilar; según este último autor, dicho material constaría de un plexo de hebras colágenas, donde dominan las dirigidas radialmente. Aprovechando las junturas de los odontoblastos, dicho plexo se comunica y continúa, a favor de cordones fibrilares cónicos, con los hacecillos conjuntivos de la pulpa (fig. 230, *B*). Los estudios recientes de Fritsch prueban que en el adulto subsisten todavía dichos cordones penetrantes en el marfil. Su presencia en el espesor de la dentina podría explicarse suponiendo que, cuando se inicia el proceso secretor del odontoblasto, tanto éste como su expansión radial hállanse ya costeados por finísimos hacecillos colágenos. En este caso, como en otros, es preciso admitir, en las hebras conectivas, la propiedad de crecer y de multiplicarse a guisa de cuerpo vivaz.

Formación del cemento. — Como consecuencia del excesivo estiramiento longitudinal del órgano productor del marfil, la dentina rebasa por debajo de la superficie profunda del germen adamantino, poniéndose una gran parte de ella en contacto con el tejido conectivo de los maxilares. A expensas de esta trama conjuntiva vecina engéndrase una membrana pe-

rióstica (*periostio alveolo-dentario*), que rodea la raíz del diente y ofrece, como el periostio verdadero, una zona profunda, compuesta de osteoblastos. No hay para qué insistir en el mecanismo de la producción del cemento; baste decir que el proceso es idéntico al de la osificación periostal, puesto que el ce-

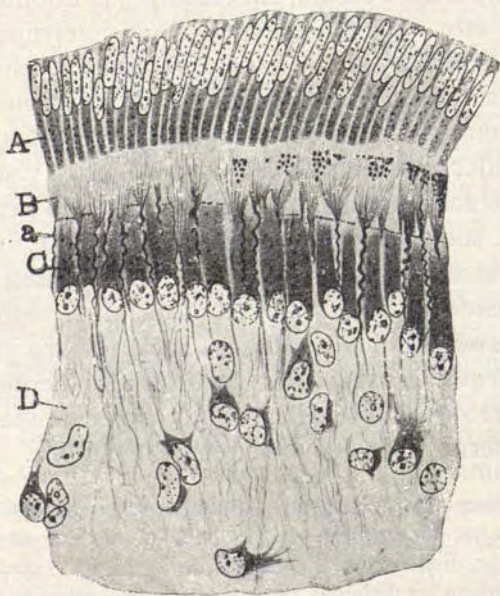


Fig. 230. — Gérmenes del esmalte y marfil, según Korff. A, epitelio formador del esmalte B, materia elaborada por los odontoblastos y formada por fibras continuadas con los haces conectivos de la papila dentaria; C, odontoblastos; a, haces colágenos radiados; D, trama conectiva de la papila dentaria.

mento no es otra cosa que un depósito óseo desprovisto de conductos de Havers.

En el momento de la erupción dentaria, la corona se muestra todavía recubierta por las capas epiteliales media y externa del órgano productor del esmalte, y los primeros roces con el alimento desprenderán rápidamente estos restos epiteliales, quedando el esmalte al descubierto.

Por igual mecanismo que los transitorios se engendran los dientes definitivos. No obstante, se cree que no vuelve a repe-

tirse el fenómeno de invaginación del epitelio bucal, formándose el nuevo órgano productor del esmalte a expensas de los restos epiteliales, que en la época de la formación del *gubernaculum dentis* quedaron englobados en la trama perialveolar. El marfil nace por diferenciación *ex profeso* del tejido conectivo vecino del órgano adamantino.

Preparación del tejido dentario. — *Osteoplasmas y canaliculos.* —

El método preferible será la inclusión de un corte de dientes en bálsamo del Canadá privado de su aceite esencial. El manual operatorio es igual al descrito en la página 116 y en la técnica del tejido óseo. Aquí haremos solamente algunas advertencias. En el diente seco suelen practicarse dos clases de cortes: los longitudinales y los transversales. Estos últimos, si recaen en la raíz, pueden ejecutarse con la sierra-pelo de relojero, tratándose en un todo como las secciones de hueso macerado. Pero si se trata de cortes longitudinales o axiales que comprendan el esmalte, no basta la sierra ordinaria y hay que apelar, para obtener el corte, bien a una sierra de agua y esmeril, bien al desgaste en totalidad, ejecutado por las dos caras opuestas del diente, sobre una piedra de asperón. La sección grosera lograda de este modo deberá ser adelgazada después en la piedra pómez y pulida en una piedra fina de afilar. Es de advertir, para el mejor desempeño de esta maniobra, que los dientes secos y macerados tienen a menudo resquebrajaduras, que se revelan en el curso de desgaste, inutilizando la preparación. Por esta razón, son recomendables los dientes frescos, porque su mayor elasticidad los hace mucho más resistentes a las violencias del frote. Los cortes, suficientemente afilados, deben, antes de su inclusión en el bálsamo, ser sometidos a una maceración prolongada en agua hasta la pérdida completa de sus partes blandas.

El *esmalte* puede seccionarse paralelamente a su plano, lo que es muy útil para discernir la forma de sus prismas. Para ello se hace saltar, a favor de un martillazo, una esquirla de este tejido. El pedazo obtenido, que ordinariamente es un casquete de esmalte, se desgastará y conservará como los preparados ordinarios de diente o hueso.

Un buen medio de preparar el esmalte es la disociación. Se consigue fácilmente tratando dientes jóvenes (durante varios días) por el ácido clorhídrico o crómico al 2 por 100, reactivos que reducen el esmalte a una costra blanda, descomponible en prismas a la menor tentativa de disociación con las agujas.

Pulpa. — El examen de las partes blandas del diente (pulpa, odontoblastos, etc.) se hará en cortes de piezas decalcificadas por el ácido pícrico o crómico (véase tejido óseo). La disociación de los odontoblastos se ejecutará fácilmente con las agujas, tomando un poco de la zona periférica de una pulpa dentaria macerada por varios días en bicromato de potasa (3 por 100) o ácido crómico diluido.

El estudio de la evolución dentaria puede practicarse, a falta de fetos humanos de cinco o más meses, en las mandíbulas del perro recién nacido. Pequeños trozos de estos huesos se decalcificarán en ácido pícrico a saturación, se deshidratarán en alcohol, se incluirán en celoidina y se reducirán a finos cortes microtómicos, que se teñirán con picrocarminato, safranina, hematoxilina, etc., y conservarán en glicerina o bálsamo.

El aparato de Golgi de los odontoblastos se estudiará por el método del formol-urano, más atrás descrito. Para ello se escogerán dientes jóvenes o gérmenes dentarios reducidos a trozos mediante la sierra. Operada la reducción, se extraerá cuidadosamente la pulpa, que se indurará y cortará. Es preciso evitar los decalcificantes, porque impiden la reacción.

CAPÍTULO IX

TEJIDO MUSCULAR

Definición. — El tejido muscular es una trama orgánica constituida por la asociación de corpúsculos larguísimos, paralelamente dirigidos y susceptibles de encogerse bajo la influencia del sistema nervioso.

Clasificación. — Desde el punto de vista anatómico y fisiológico reviste el tejido muscular dos modalidades: *tejido muscular de fibra lisa* o de contracción lenta y *tejido muscular de fibra estriada* o de contracción rápida. En general, cabe afirmar que la variedad muscular lisa (así calificada por carecer de aspecto estriado) entra en la construcción de los órganos de la vida vegetativa y funciona con independencia de la voluntad, mientras que la variedad estriada forma parte de los órganos de la vida de relación y obra bajo la influencia del sensorio. Existen, empero, excepciones: los músculos lisos de los invertebrados y los vesicales de los vertebrados obedecen al estímulo de la voluntad, y, al contrario, el corazón y el diafragma, que son músculos estriados, actúan de un modo involuntario. El carácter voluntario o automático de las contracciones parece depender, no de la textura del músculo, sino del centro nervioso de donde brota la excitación. Así, todo músculo que pueda ser influido por la vía piramidal del cerebro, será voluntario, en tanto que será automático todo aquel cuya actividad se subordine exclusivamente a centros medulares o simpáticos.

VARIEDAD MUSCULAR LISA

Caracteres macroscópicos y distribución general. —

Examinado a simple vista, se presenta el tejido muscular de fibra lisa como una trama blanda, elástica, ligeramente amarillenta o amarillo-rosácea y de aspecto fasciculado.

Reside esta variedad muscular en casi todos los órganos de la vida vegetativa; a saber: la túnica media de las arterias y venas, la capa muscular del estómago e intestino, la de igual nombre de la vejiga urinaria y matriz, los conductos excretores de las glándulas, los músculos *arrectores pili*, el aparato acomodador de la visión, los bronquios, etc.

Caracteres micrográficos. — Cuando se disocia, a favor del ácido nítrico al cuarto o de la potasa al 33 por 100, un trozo de tejido muscular liso, quedan en libertad multitud de corpúsculos alargados que, por no ofrecer rayas transversales, se han denominado *fibras musculares lisas* y también *fibrocélulas* de Kölliker, en honor del sabio que las descubrió.

Poseen las fibrocélulas una longitud que oscila entre 3 y 10 centésimas de milímetro; su espesor medio en la parte más gruesa es de 6 a 12 μ . Su forma es la de un huso, es decir, abultada en su porción media, donde se alberga el núcleo, y adelgazada hacia los extremos, que acaban en puntas algo romas. En los cortes transversales se advierte que la sección de las fibrocélulas no siempre es redondeada, sino más o menos poligonal; lo que prueba que la verdadera configuración de estos corpúsculos es la prismática con cabos progresivamente adelgazados.



Fig. 231. — Fibra muscular lisa del intestino, aislada por el alcohol al tercio.

La textura de la fibrocélula debe estudiarse en preparaciones no tratadas por los reactivos disociantes, en aquellas, por ejemplo, en que los paquetes de fibras yacen en su posición normal, teñidas por el carmín de Grenacher o por la hematoxilina. El *núcleo* es único, alargado en forma de bastoncito, con extremos redondeados (figuras 231 y 232); reside en la región central de las fibrocélulas y mide una talla de $14\ \mu$ o más. Con buenos objetivos de inmersión deja percibir una membrana incolora y un contenido cromático reticulado, cuyos hilos se disponen en gran parte de un modo transversal. No existe nucleolo verdadero, pero sí algunas gruesas nudosidades cromáticas. El *protoplasma* es finamente granuloso, excepto en las inmediaciones de los polos nucleares, donde los granos son gruesos y refringentes; esta granulación oculta una trama reticular, perceptible solamente con los más fuertes objetivos, y en la cual los hilos son en su mayor parte paralelos a la longitud de la célula, arrancando del núcleo y terminándose en los cabos del protoplasma. La *membrana* es finísima, elástica y difícil de discernir por su íntima unión con el retículo celular.

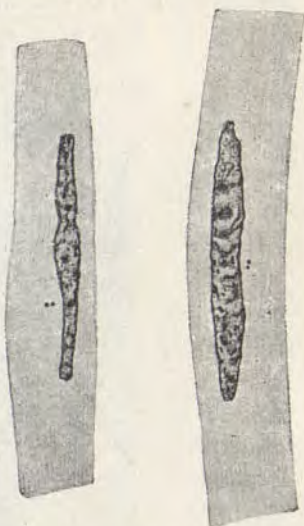


Fig. 232. — Núcleo y centrosomas de las fibras musculares lisas, según v. Lenhossék.

Heidenhain, aplicando a las fibras lisas de los mamíferos su método de la hematoxilina ferruginosa, ha logrado distinguir en el cuerpo de dichas células dos clases de hilos: *recios* o *tangenciales*, que atraen vivamente la hematoxilina, y *finos* o *profundos*, poco coloreables (*Binnenfibrillen* de este sabio). Ambas especies de fibrillas interiores han sido confirmadas por Benda, quien haciendo cálculos sobre el probable fisiologismo de dichas hebras, supone que las finas o centrales gozarían de actividad contráctil, en tanto que las limitantes o recias representarían un aparato elástico. Las fibras superficiales formarían una sola hilera cortical, en la cual cada hilo estaría separado de sus vecinos por un espacio claro (Heidenhain).

Diplosomas. — Según Lenhossék y Zimermann (1898), el protoplasma de las fibras lisas contiene, cerca del núcleo y en una foseta de éste, un *microcentro* compuesto de dos minúsculos centrosomas. En la figura 232 damos una reproducción de los dibujos de Lenhossék.

Aparato reticular de Golgi. — Ha sido visto por Río-Hortega (1913), aplicando el proceder del formol-urano, como un cordón residente cerca del núcleo y provisto comúnmente de ramas cortas de bifurcación que contornean parte de este órgano (fig. 234).

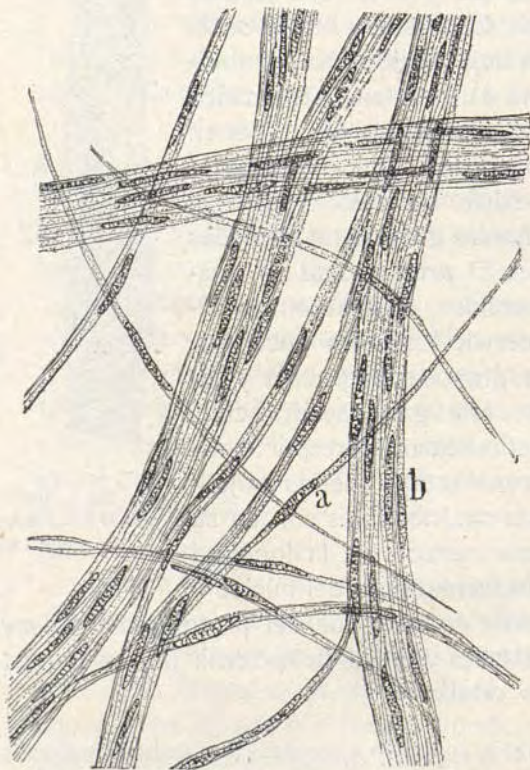


Fig. 233. — Fascículo de fibras musculares lisas de la vejiga de la rana; *a*, fibra suelta *b*, fascículo.

Haces de fibrocélulas. — Las fibras musculares lisas rara vez se hallan independientes; lo común es que formen haces separados por tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de los vasos y nervios de algún calibre (fig. 233, *b*).

En cada haz las citadas células están adheridas por sus caras a beneficio de un cemento tenaz que tiñe en negro el nitrato de plata y disuelven la potasa y ácido nítrico. Algunos autores (Barfurth, Kulschinky, Bohemann, Triepel, etc.) afirman que esta unión de las fibrocélulas se refuerza con ayuda de fibri-



Fig. 234. — Fibras musculares lisas de la vejiga urinaria del perro. Aparato de Golgi. Método de Cajal (según Del Río-Hortega).

llas comunicantes, a la manera de las del cuerpo de Malpigio de la piel; pero, en nuestro sentir, estos sabios han tomado equivocadamente por filamentos de unión ciertas espinas o asperezas del contorno de los elementos, mediante las que éstos se engranan íntimamente. El azul de metileno (método de Ehrlich), que tiñe perfectamente durante la vida las células muscu-

lares del intestino del conejo, no revela jamás los citados filamentos. Por lo demás, en los trabajos ya antiguos de Lenhosék y Henneberg y en el libro de Heidenhain, encontramos demostraciones de cómo la retracción del protoplasma, o sus desigualdades de contorno, o, en fin, la presencia en los intersticios de un sistema de fibras reticuladas, prestan, a veces, apariencias de realidad a los citados puentes comunicantes.

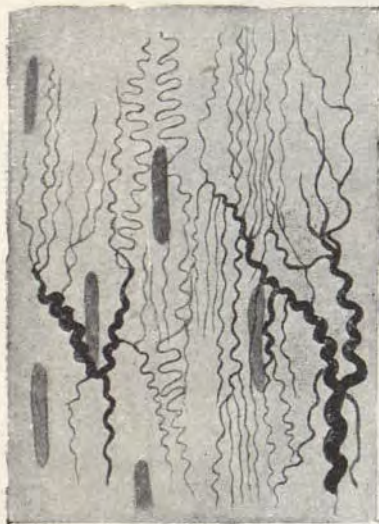


Fig. 235. — Tejido conectivo interfibrilar situado entre las fibro-células del intestino. Conejo de Indias (método de Achúcarro).

Para formar dichos haces, las fibrocélulas se disponen en series superpuestas y tan íntimamente encajadas, que semejan un epitelio pavimentoso estratificado. En los ángulos, que deja una serie o hilera de fibrocélulas, penetran las puntas de los elementos de la serie inmediata.

Por último, los haces no conservan su individualidad en todo su trayecto, sino que acaban, mediante anastomosis, en otros hacecillos o se descomponen en manojitos secundarios, los cuales, juntándose y separándose muchas veces, engendran

una vasta red muscular. Los trabéculos de esta red afectan a menudo una dirección paralela (túnica media de las arterias, intestinos, etc.); en otros casos carecen de orientación predominante (túnica muscular de la vejiga, etc.).

Reticulo conectivo intersticial. — En sentir de varios autores (Bruyne, Werner, Heidenhain, Schäffer, etc.), el cemento mismo intercelular contendría una trama reticular finísima, extendida en torno de la célula y contigua consigo misma en la totalidad del hacecillo. Afecta esta trama, según Schaffer, disposición alveolar, tiñese algo por la picrofuchina y no parece estar en continuación con expansiones de corpúsculos conectivos, según pensaba Bruyne.

Nuestras ya antiguas observaciones nos permiten asegurar que, en efecto, existe un estroma delicadísimo entre las fibras musculares lisas, comparable a la urdimbre conectiva intrafascicular de los nervios y coloreable a veces por el método de Ehrlich.

En el espesor de las vainas colágenas correrían, según Holgrem (1904), finísimas fibras elásticas espiroideas, que trazan vueltas complicadas en torno de las células contráctiles. Río-Hortega ha impregnado con el método de Achúcarro este sistema de fibras de que damos reproducción en la figura 235. Acerca de su naturaleza colágena o elástica existen todavía incertidumbres.

Fibras lisas de los invertebrados.

Descendiendo en la escala animal, obsérvanse varios tipos de fibras lisas. Los principales son dos: 1.º, célula muscular tubular o con eje sarcoplasmático, y 2.º, célula maciza con sarcoplasma y núcleo periférico.

Del primer tipo hallamos un buen ejemplo en la sanguijuela, a la que pertenece la fibra copiada en la figura 236. Nótese que el espesor del corpúsculo es sensiblemente igual en toda su enorme longitud y que consta de una corteza brillante, estriada a lo largo y formada por finísimas hebras paralelas; y una región central granulosa, de aspecto de protoplasma indiferenciado, en donde residen los núcleos. En algunas fibras aparece ya un esbozo de estriación transversal. Células semejantes hállanse también en los gasterópodos.

El segundo tipo es propio de los nematodos. Aquí la célula es colosal, afecta figura en huso, y el protoplasma indiferenciado, portador del núcleo, constituye un lóbulo o excrecencia lateral enorme.

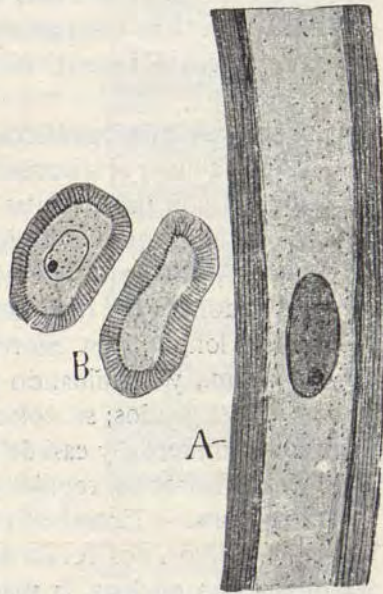


Fig. 236. — Fibras musculares lisas tubulares de la sanguijuela. A, fibra a lo largo; B, secciones de dos fibras.

VARIEDAD MUSCULAR ESTRIADA

Distribución y caracteres macroscópicos. — Reside esta variedad muscular en todos los músculos de contracción rápida, estén o no sometidos al estímulo de la voluntad. Entre los

involuntarios pueden citarse el corazón, diafragma y músculos fisionómicos, y entre los voluntarios casi todos los del tronco, extremidades, cuello, cabeza, etc.

A la simple vista, el tejido muscular se presenta rojizo, de aspecto fasciculado y dividido en paquetes paralelos, separados por finos tabiques grises. Su consistencia es semiblanda en estado de relajación y dura en el de encogimiento; su elasticidad y extensibilidad son muy notables. Teniendo en cuenta la coloración, se han distinguido los músculos en *rojos* y *pálidos* o *rosáceos* (Ranvier), diferenciación bien marcada en el conejo.

Caracteres micrográficos. — Los últimos elementos de constitución a que por disociación pueden reducirse los músculos estriados son unas células larguísimas, multinucleadas, de aspecto estriado, que se designan *fibras musculares* o *haces primitivos*. Afectan estos elementos forma prismática, con aristas algo redondeadas (fig. 246); su diámetro oscila entre 20 y 40 μ ; su longitud es enorme, alcanzando, según Krause, de 4 a 5 cm., y terminando por cabos redondeados y más o menos adelgazados; su color es blanco rosáceo o amarillento en los mamíferos, y casi del todo blanco, con alguna excepción, en los batracios, reptiles y peces.

Estructura. — Examinada la fibra muscular con ayuda de buenos objetivos, nos revela seis factores de composición: el sarcolema, los núcleos, la materia estriada, la red intersticial o aparato de Cajal-Fusari, el *sarcoplasma* y las inclusiones o *sarcosomas*.

Sarcolema. — Es la membrana fina, homogénea y elástica que rodea la fibra muscular. En las fibras vivas se percibe difícilmente, por estar íntimamente aplicada al material estriado; pero en los corpúsculos musculares tratados por el agua o en fase de contracción, dicha membrana se separa en bolsas o replegamientos que la hacen claramente reconocible (figura 237, a).

Núcleos. — Son numerosos, elipsoides, y se orientan paralelamente a la fibra muscular. En los mamíferos residen los núcleos debajo del sarcolema; pero en los batracios, reptiles, pe-

ces y algunos géneros de insectos habitan tanto debajo de esta membrana como en el espesor de la materia estriada.

Teñidos por el carmín, la hematoxilina o el verde de metileno, presentan los núcleos una fina cubierta acromática y un armazón reticular de nucleína, cuyas mallas poseen dirección transversal. Según van Gehuchten, los trabéculos nucleicos o cromáticos se dispondrían en una espiral de vueltas transversales. De los polos del núcleo surgen unas tiras granuladas, de aspecto protoplásmico, que se continúan con las estrías longitudinales del fascículo muscular (figura 237, c).

Sarcoplasma. — Es la substancia líquida o semilíquida que, como veremos luego, separa las fibrillas primitivas y se continúa con el protoplasma polar de los núcleos.

Materia estriada. — Esta substancia, así llamada por las bandas o estrías que la cruzan en dos sentidos perpendiculares, representa el protoplasma de las células musculares. Pero este protoplasma ha sufrido tales diferenciaciones y adquirido tal complicación estructural, que no puede reducirse, sin grandes esfuerzos, al tipo de construcción del cuerpo de las células comunes. Los aspectos que ofrece la materia estriada son casi tan diversos como los métodos que para su demostración se han imaginado. Esta diversidad de efectos producidos por los reactivos, así como la extrema delicadeza de muchos detalles de textura — detalles que tocan ya por lo sutiles en los límites del poder resolvente del microscopio — explican el desacuerdo de los histólogos en lo tocante a la constitución íntima de la materia estriada.

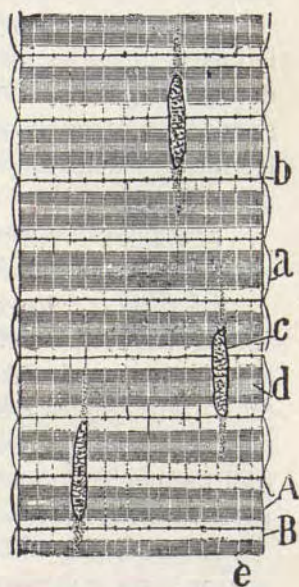


Fig. 237. — Fibra muscular de las patas del hidrófilo. Examen en estado fresco. *a*, sarcolema; *b*, línea de Krause; *c*, núcleo; *d*, banda de Hensen. *A*, banda ancha o birrefringente; *B*, banda estrecha o monorrefringente.

Nosotros, en presencia de estas discordancias, expondremos primeramente el aspecto que las fibras musculares vivas nos presentan bajo los mejores objetivos; indicaremos luego los cambios que en la materia estriada determinan los reactivos y señalaremos, finalmente, la interpretación que parece más racional en el estado actual de la ciencia.

a) *Examen de las fibras musculares vivas.* — Son particularmente propicias para este examen por la magnitud y claridad de sus estriás, las fibras musculares de las patas de los insectos (*Hidrophylus piceus*, etc.). En los mamíferos aparecen los mismos detalles, pero con menos definición, a causa de su delicadeza.

Dos clases de bandas cruzan la materia estriada: las transversales y las longitudinales.

Las *bandas transversales* son de dos clases: *anchas* o *espesas* (fig. 237, A), birrefringentes y más o menos colorables por la hematoxilina (banda Q de Heidenhain); *delgadas* o *claras*, monorrefringentes e incolorables por dicho reactivo (banda J de Heidenhain) (fig. 237, B). Estas dos clases de rayas alternan rigurosamente, conservan un espesor sensiblemente uniforme y penetran en todo el grueso del material estriado.

Enfocándolas cuidadosamente, nos muestran todavía dos nuevas líneas transversales: una finísima, de aspecto granuloso, situada en el medio de la banda clara y llamada *línea de Krause* o de Amicis (fig. 237, b); otra más ancha, colocada en el centro de la banda espesa o birrefringente y designada *raya de Hensen* (fig. 237, d). La raya de Krause se adhiere periféricamente al sarcolema, el cual aparece más o menos pegado al nivel del espacio correspondiente a las otras bandas (figura 237, a).

Las bandas longitudinales son también de dos clases: unas anchas, paralelas, más o menos claras, que corresponden a lo que los autores llaman *fibrillas musculares* o *cilindros primitivos* (fig. 237); otras finas, oscuras, alternantes con las anchas, y las cuales representan los *tabiques protoplásmicos* de ciertos autores o el sarcoplasma de otros (figuras 238, d, y 237, e).

b) *Aspecto de las fibras fijadas por el alcohol y disociadas*

con las agujas.—Una fibra muscular de insecto o de vertebrado, tratada de esta suerte, se descompone en una multitud de fibrillas de notable delgadez (*cilindros primitivos, columnas musculares, fibrillas primitivas, etc.*), de cuya reunión en haz apretado parece resultar la fibra o fascículo muscular primitivo. Dichas fibrillas exhiben las mismas bandas que éste; a saber: una ancha, colorable por la hematoxilina; otra estrecha, incolorable por este reactivo. En el fondo de la banda ancha se distingue la línea de Hensen, y en medio de la estrecha la de Krause. Si las fibrillas se estiran considerablemente durante la disociación, las rayas se multiplican todavía; la banda oscura o ancha aparece descompuesta en 7 rayas, de las cuales 4 son oscuras y 3 claras (fig. 239, C); por su parte, la banda clara o monorrefringente exhibe otras dos líneas vagamente diseñadas y situadas encima y debajo de la línea de Krause (*discos accesorios*). Algunos autores, Heidenhain (1911) entre ellos, describen todavía una banda finísima al nivel de la raya de Hensen, la cual se prolonga al través del sarcoplasma al modo de la de Krause.

Todas estas rayas se ven con gran precisión en las fibrillas primitivas de las fibras musculares de las alas del hidrófilo (fig. 239). Tales fibrillas son relativamente espesas, se disocian facilísimamente y sus bandas o discos oscuros (bandas birrefringentes) atraen vivamente la hematoxilina.

Por lo demás, dichas rayas aparecen también, aunque con menos precisión, en las fibrillas primitivas del haz muscular de los mamíferos (fig. 238).

Las preparaciones a que nos referimos revelan dos detalles más: que las fibrillas primitivas están pegadas al nivel de la línea de Krause, y que entre ellas, a lo largo de las mismas, existe una materia granulosa, dispuesta en tabiques transparentes,

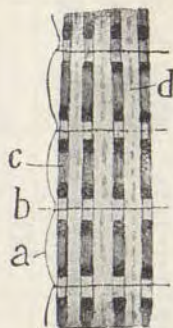


Fig. 238. — Pedazo de fibra muscular de un mamífero. Aumento notable (figura semiesquemática) y examen en una preparación fijada por el alcohol. a, sarcolema; b, línea de Krause; c, disco oscuro con su porción central relativamente clara; d, sarcoplasma y restos granulados de las fibrillas preexistentes.

cuya falta de cohesión permite la disociación de dichos cilindros primitivos (fig. 238, *d*).

En suma, las preparaciones fijadas en el alcohol y disociadas, demuestran que el hacesillo muscular consta de fibrillas

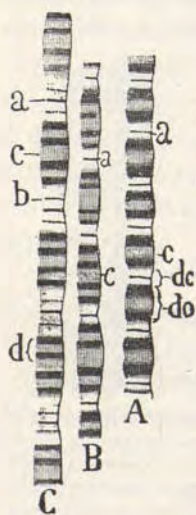


Fig. 239. — Fibrillas primitivas disociadas, procedentes de los músculos de las alas del hidrófilo. A, fibrilla poco estirada; B y C, fibrillas fuertemente tensas. *a*, raya de Krause; *c*, raya de Hensen; *d o*, disco oscuro; *d c*, disco claro; *b*, raya de Engelmann; *d*, desdoblamiento de cada mitad del disco oscuro.

paralelas, compuestas a su vez de discos alternados birrefringentes y monorretrifringentes, y separadas por tabiques protoplásmicos granulosos. La estriación transversal del haz muscular depende de que las bandas de igual naturaleza de toda fibrilla primitiva yacen exactamente en el mismo plano.

c) Aspecto de las fibras musculares tratadas por los ácidos y cloruro de oro. — Impregnando las fibras musculares vivas, bien por el método de Lœwit, bien por los de Ciaccio, Melland, Retzius, etc., los haces primitivos se hinchan, adquieren color rojo violáceo a causa de la reducción del cloruro de oro, y muestran una singular tendencia a descomponerse, no en cilindros primitivos, sino en discos transversales que interesan todo el espesor del haz (*discos de Bowman*).

Examinando uno de estos haces a lo largo, lo primero que llama nuestra atención es que los cilindros primitivos o fibrillas musculares han desaparecido, disueltas por el ácido fórmico; en su lugar se presentan unos espacios longitudinales, claros, llenos de una materia homogénea y semilíquida (fig. 240). Al nivel de los tabiques protoplásmicos adviértense ahora unos finos hilos longitudinales, que el oro tiñe de violeta (fig. 240, *c*). Semejantes hebras, que se llaman *fibras preexistentes* o *protoplásmicas* (para Rollet serían tabiques de *sarcoplasma*), exhiben dos clases de engrosamientos fuertemente impregnados: uno, fusiforme, que corresponde a la banda ancha (fig. 240, *c*);

otro, esferoidal y de menor dimensión, emplazado en el paso de dichos hilos por la banda de Krause. Cuando las fibras se hallan en relajación energética, el engrosamiento fusiforme suele faltar. Dichos preparados enseñan también que de todas las rayas transversales, la única que ha resistido a la acción de los ácidos es la de Krause (fig. 240, *b*),

la cual se muestra granulosa, adherida a la membrana sarcolemática y muy análoga, por su aspecto y composición química, a las fibrillas de los tabiques protoplásmicos.

El examen de plano de los discos de Bowman o de cortes transversales de los haces musculares (fig. 241), permite reconocer que las líneas de Krause, además de contener discos homogéneos, son, el perfil o vista de canto, de una red protoplásmica transversal, formada por finos trabéculos, y por cuyas nudosidades pasan las hebras longitudinales reveladas por el cloruro de oro. Las mallas de este retículo han tomado el nombre de *campos de Conheim* y están ocupadas por los cilindros o fibrillas primitivas de los autores (fig. 241, *c*).

Finalmente, tanto las redes transversales como las hebras preexistentes se ponen en relación de continuidad con aquella capa protoplásmica que rodea los núcleos, circunstancia que parece indicar que todo este sistema de trabéculos longitudinales y transversales no representa generalmente otra cosa que un retículo protoplásmico, diferenciado y regularizado.

d) Integración de los resultados parciales analíticos y constitución probable del hacecillo muscular. — Sintetizando las revelaciones de los diversos reactivos, podremos estimar la trama estriada compuesta de dos sistemas de fibras: uno, que tiene el

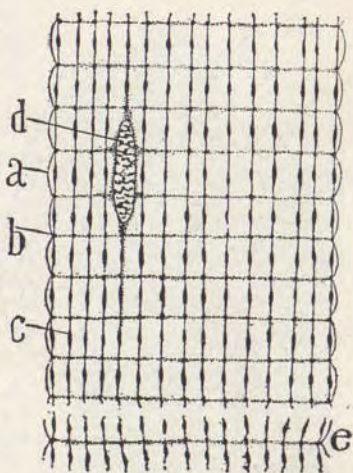


Fig. 240. — Fibra muscular tratada por el cloruro de oro y ácido fórmico (método de Læwit). *a*, sarcolema; *b*, línea de Krause; *c*, fibrillas preexistentes; *d*, núcleo; *e*, disco de Bowman visto de perfil.

valor de un retículo protoplásmico y que no es otra cosa que la vasta red formada por las fibrillas longitudinales y transversales colorables por el cloruro de oro; otro, constituido por los cilindros primitivos de los autores, y el cual representa una inclusión celular altamente diferenciada. Entre los cilindros

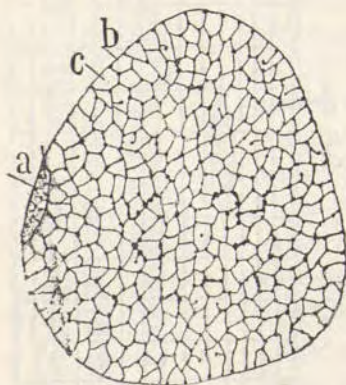


Fig. 241. — Disco de Bowman visto de plano. *a*, núcleo; *b*, sarcolema con la red que yace en la línea de Krause; *c*, campos de Conheim.

primitivos (compuestos, como ya expusimos más atrás, de la superposición de discos birrefringentes y monorrefringentes) yace un plasma transparente, en un todo comparable con el jugo que llena las mallas del protoplasma de las células comunes. Este jugo corresponde al sarcoplasma de Rollet, y en él residen las hebras longitudinales y transversales demostradas por los ácidos y cloruro de oro. En la figura 242 damos un esquema de esta concepción de la textura de la materia estriada; en él aparecen reunidas

cuantas revelaciones positivas se deben a los métodos utilizados en el análisis de la fibra muscular.

Hemos excluído de dicha figura el aparato reticular de Golgi y los sarcosomas de Holmgren. La reproducción de estos factores, de que trataremos más adelante, hubiera complicado demasiado la representación esquemática.

Algunas concepciones autorizadas sobre la constitución íntima de la fibra muscular. — 1.^a La materia estriada es una reunión de cilindros o columnas primitivas, compuestas a su vez por la sucesión alternativa de discos mono y birrefringentes. Al nivel de las rayas de Krause, tales cilindros se unirían transversalmente entre sí, y a la misma altura quedaría sujeto el sarcolema al material estriado. Entre los cilindros o fibras primitivas existiría una masa de protoplasma, el *sarcoplasma*, dispuesto en tabiques anastomosados a la manera de panal, y continuados con el acúmulo granuloso perinuclear. Las hebras violadas que en tales tabiques descubre

el cloruro de oro representarían la sección óptica de dichos tabiques, y los granos y redes transversales serían meros espesamientos de protoplasma. A este dictamen se adhieren, con más o menos distingos, Ranvier, Rollet, Kölliker, Retzius, Heidenhain, Schäffer, Marceau, Holmgren, Duesberg, Thullin, etc., etc.

Esta concepción general ha sido un tanto modificada por algunos de sus mantenedores, entre los cuales merece especial mención M. Heidenhain.

El célebre histólogo de Tubinga, en una serie de análisis penetrantes (1899 a 1918), consagrados a la constitución de la materia estriada, introduce en la doctrina clásica importantes modificaciones, así en el lenguaje como en el fondo. Por lo que hace a la nomenclatura de las rayas, modifica la actual, inspirándose en las notaciones literales usadas por los físicos para la diferenciación regional del espectro solar. El *disco obscuro* es designado *raya Q*; el *claro*, *raya J*; la *línea de Krause*, *raya Z*; la de *Hensen*, *línea M*. El período regular de las estrias toma el nombre de *kommata*. En fin, la *fibra primitiva* designase *miofibrilla*, vocablo hace tiempo usado por Apathy.

En cuanto al fondo, Heidenhain aporta algunas nociones interesantes. El *kommata* representaría una metamera, es decir, un órgano bien individualizado y separado de sus congéneres a favor de un tabique transversal o diafragma que invade el sarcoplasma, prolongándose transversalmente por toda la fibra: es el *telofragma* residente al nivel de la línea de Krause; pero hay otro tabique, el *mesofragma*, hace tiempo señalado por Merkel y Schiefferdecker, yacente en el centro de la línea de Hensen, con la que no debe confundirse, pues se trata de finísima y casi imperceptible membrana transversal, prolongada al través del sarcoplasma. En la figura 243, donde reproducimos uno de los grabados de Heidenhain, aparecen claramente tales diafragmas, así como las bandas del *kommata* o período. Admite además dicho sabio la existencia de finísimos tabiques longitudinales insertos en las miofibrillas, por donde la fibra muscular quedaría reducida a un sistema de cajas minúsculas llenas

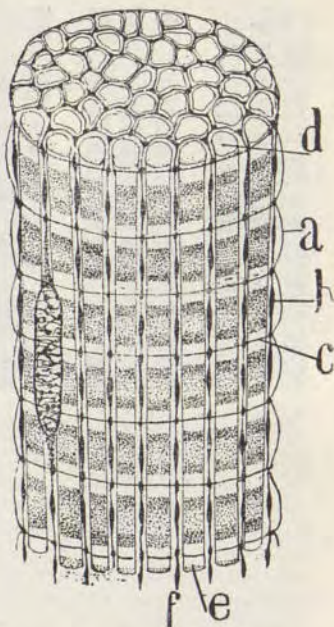


Fig. 242. — a, sarcoplasma; b, fibrillas de protoplasma o preexistentes; c, línea de Krause o redes transversales; d, fibrilla primitiva que llena el campo de Conheim; e, extremo de una fibrilla primitiva (figura esquemática).

de líquido, y en cuyas paredes quedarían empotrados los kommatas o períodos de las miofibrillas.

Finalmente, basándose en interesantes observaciones de crecimiento y dimensión de las miofibrillas del embrión, admite Heidenhain en éstas una metaestructura o estructura ultramicroscópica. En su sentir, la materia de cada banda transversal consta de protomeras o unidades vitales infinitesimales, susceptibles de crecimiento y multiplicación, al modo o de las neuro-

bionas admitidas por nosotros en el espesor de las neurofibrillas. También Thulin (1912) ha reconocido recientemente la metaestructura del disco anisótropo en los insectos.

Las demás concepciones de la estructura de la materia estriada (teoría de las *cajas musculares* de Krause, *hipótesis reticular* de Melland, Carnoy, van Gehuchten, etc. han sido casi olvidadas por los modernos histólogos. Por eso las omitimos actualmente.

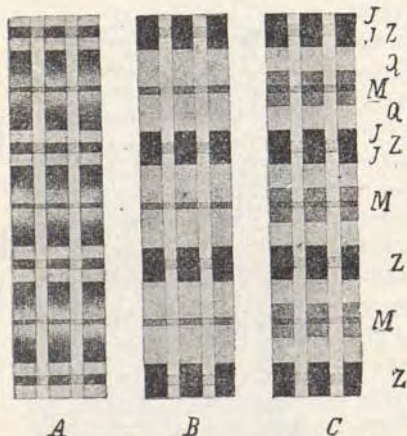


Fig. 243. — Miofibrillas de la larva del tritón, coloreadas por el rojo de *thiazina* o el moreno de *thiazina*, más el azul de *toluidina*. A, aspecto ordinario de la coloración de los discos; B, C, coloración invertida de los mismos (la banda Q o birrefringente aparece clara, y oscura la J o monorrefringente). Nótese en el nivel de M el *mesofragma* (según Heidenhain).

Aparato reticular de la materia estriada (redes de Cajal-Fusari, según Sánchez). Nuestras investigaciones, ya antiguas (1890), efectuadas con el método de Golgi, revelaron la existencia en las fibras musculares de los insectos de un siste-

ma de redes horizontales, sutilísimas, completamente independientes del retículo impregnable por el cloruro de oro, y las cuales nacen de las últimas ramificaciones de las tráqueas.

Este sistema reticular, formado por finísimas trabéculas de $0,2 \mu$ o menos todavía, se compone comúnmente de dos redes horizontales, situadas en el sarcoplasma, cerca del intervalo de dos rayas de Krause. Sin embargo, el número de redes transversales por intervalo, así como la dirección y conexiones de sus trabéculas, varía según los músculos de los insectos examinados. Mientras en los músculos de las patas y en los

músculos de las alas de ciertos insectos percíbense dos redes horizontales continuas, situadas en las fronteras de la estría birrefringente y monorrefringente (fig. 244, *B*), en los músculos disociables de las alas (coleópteros, muscudos, etc.) sólo se encuentra una red emplazada al nivel de la raya de Hensen (figura 245, *b*) y orientada a veces con irregularidad. De una red a otra van trabéculas comunicantes algo más gruesas, y éstas, reuniéndose con otras, dan origen a los ramos terminales de las tráqueas. En los cortes transversales del haz muscular apréciase bien que las referidas redes se extienden a todo el espesor del material estriado, y que en sus mallas alójanse las fibrillas primitivas o prismas musculares.

Las redes horizontales a que aludimos no son peculiares de los insectos. Las investigaciones de Fusari y Veratti (1902), confirmadas después por Sánchez (1907) y Holmgren (1909), han demostrado la existencia de redes idénticas en los crustáceos y en los varios órdenes de vertebrados. Puesto que aquí faltan tráqueas, las trabéculas periféricas del retículo no pueden afectar igual disposición.

Según han demostrado Fusari y Sánchez, las redes se anastomosan entre sí a favor de trabéculas longitudinales y las ramas más periféricas, aquellas que están en inmediato contacto con el sarcolema, acaban libremente generando, como Sán-

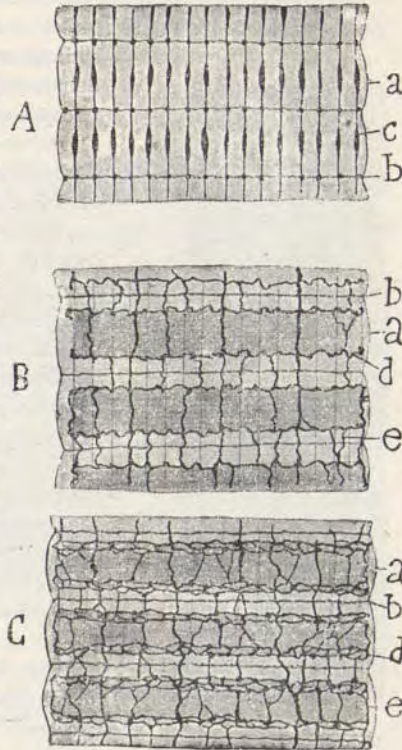


Fig. 244. — Trozos de fibra muscular de insecto. *A*, fibra tratada por el cloruro de oro; *B*, fibra *Geotrupes stercorarius* tratada por el método de Golgi; *d* y *e*, trabéculas del aparato reticular; *C*, músculos de otro insecto en el cual las redes del sistema de filamentos se complican notablemente (*e*, *d*). (Según D. Sánchez.)

chez ha observado bien, ciertos fondos de saco más o menos limitados, y como flotantes, en un espacio plasmático periférico.

El número de redes transversales coloreables por el método de Golgi en las fibras de los mamíferos es de tres, en sentir de Fusari y Veratti: dos fácilmente reconocibles, emplazadas encima y debajo del disco anisótropo, y otra residente en el espesor de la raya de Krause. Nuestras observaciones, plenamente confirmatorias de las de Sánchez, nos han persuadido de que esta tercera red es pura apariencia, debida al fenómeno, no muy frecuente, de la dislocación longitudinal de las dos redes típicas, las que, aproximándose a la raya de Krause, pueden dar la imagen confusa de una reticulación central única. En realidad, la red horizontal de la banda de Krause, que se colorea muy bien por el cloruro de oro, no se impregna jamás por el cromato argéntico.

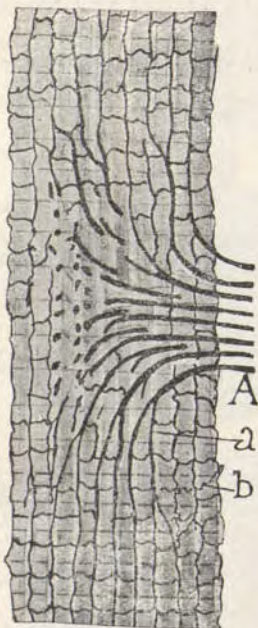


Fig. 245. — Trozo de una fibra muscular de las alas del hidrófilo. Método de Golgi. A, tráqueas; a, ramas traqueales longitudinales situadas entre los cilindros primitivos; b, trabéculas transversales del aparato reticular. (Según Sánchez.)

En los últimos años, Holmgren (1907-1916), inspirándose en su ingeniosa hipótesis del *trofospongio*, ha tratado de identificar las redes intrafasciculares descubiertas por nosotros, Fusari y Veratti, con aquel sistema de prolongaciones protoplásmicas de células neuróglícas penetrantes en determinadas neuronas colosales de los invertebrados.

El observador sueco, después de hacer un excelente estudio morfológico de las citadas redes en toda la serie animal, admite también, con Veratti y Sánchez, que representan el aparato reticular de Golgi Holmgren de las neuronas y otros elementos; mas, a semejanza de lo ocurrido en ciertas gruesas células nerviosas de invertebrados, supone que dichas trabéculas son huecos en que penetran expansiones protoplásmicas de ciertas células exteriores. La naturaleza de tales elementos adventicios va-

riaría según las especies animales.

En los insectos, dichas redes derivan de la última célula constitutiva de las finas tráqueas terminales y representan, por tanto, filamentos protoplásmicos macizos, homólogos del trofospongio de las neuronas. Pero en los crustáceos y vertebrados dicho sistema reticular se prolonga con las ex-

pansiones ramificadas de ciertas células situadas entre las fibras musculares. Tales células (*trofoespongias*) afectan forma de huso, yacen paralelas a los haces y exhiben dos órdenes de expansiones: unas, destinadas a rodear los capilares sanguíneos y a absorber jugos nutritivos, y otras, íntimamente aplicadas a la fibra muscular, cuyo sarcolema barrenan, para constituir las mencionadas redes horizontales. Tales elementos nutritivos serían, sobre todo, evidentes en el músculo cardíaco de los crustáceos y mamíferos.

Sarcosomas. — Hace ya mucho tiempo que Retzius, Kölliker, nosotros, Heidenhain, etc., llamamos la atención sobre la existencia, dentro del sar-

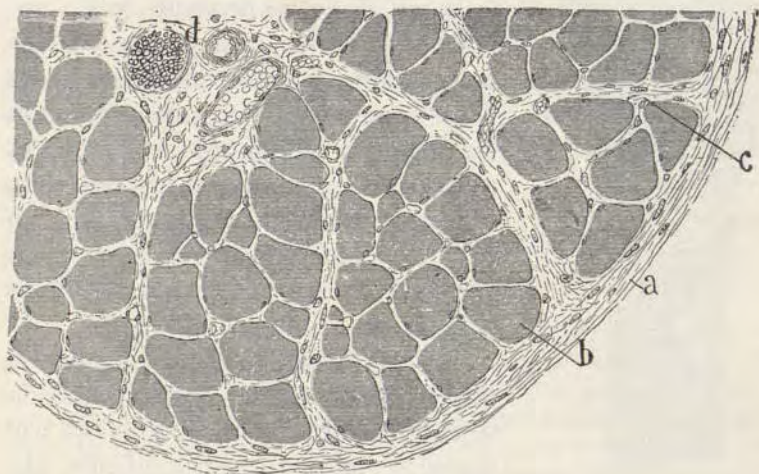


Fig. 246. — Corte transversal de un músculo de mamífero. *a*, cubierta conjuntiva o perimio externo; *b*, fibra muscular; *c*, tabique que separa los fascículos secundarios; *d*, corte de un nervio y de los vasos nutritivos del músculo.

coplasma de los músculos de los insectos, de ciertos granos, ora esferoidales, ora alargados (véase más adelante), y provistos de aletas laterales, que residen entre las fibrillas primitivas. En la figura 253, *b*, mostramos el aspecto de tales gránulos en los músculos de las alas del hidrófilo.

Durante los últimos años, Holmgren (1908 a 1913) ha sometido estos granos o sarcosomas a un estudio escrupuloso demostrando su naturaleza proteica, sus metamorfosis fisiológicas y su presencia constante en las fibras de vertebrados e invertebrados. Tales granos, que se tiñen intensamente por la hematoxilina ferruginosa, son de dos clases. Los unos, llamados *sarcosomas J*, son sumamente frecuentes, yacen al nivel de la banda clara, a cierta distancia de la línea de Krause; los otros, que llama *sarcosomas Q*, residen al nivel del disco obscuro y son menos comunes. Acerca del papel fisiológico de los sarcosomas trataremos más adelante.

Unión de las fibras musculares y tendinosas. — Los haces musculares se determinan por cabos redondeados y adelgazados, cubiertos por el sarcolema e implantados en los extremos de fascículos tendinosos; a veces el cabo muscular se muestra ramificado e inserto en el tejido conectivo dermoideo (músculos de la lengua).

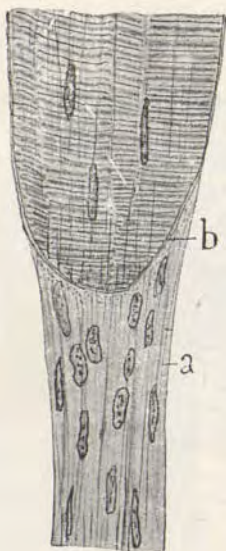


Fig. 247. — Unión de una fibra muscular con un fascículo tendinoso. *a*, haces colágenos; *b*, sarcolema.

Cada haz tendinoso recibe la inserción de una fibra muscular, uniéndose (a beneficio de un cemento sólido soluble en la potasa) la superficie del sarcolema con los cabos terminales de las fibras conjuntivas. Pero más a menudo los manojos tendinosos reciben haces musculares, no sólo por sus extremos, sino por sus lados, de manera que un solo fascículo conectivo secundario transmite la energía de muchas fibras contráctiles.

En la figura 247 presentamos el modo común de esta reunión, cuando se efectúa entre el cabo de una fibra y el manojito conectivo correspondiente. Adviértese en el punto de enlace la presencia del sarcolema y de una materia finamente granulosa destinada a encolar dicha membrana con los extremos de las hebras colágenas.

En estos últimos años, O. Schültze y Longinow han tratado de probar que cada hebra colágena se continúa con una miofibrilla; pero este aventurado dictamen, basado en una técnica insuficiente, ha sido refutado por Herwerden, corroborando una vez más el hecho clásico de la inserción de las fibras colágenas en la superficie exterior del sarcolema, en torno del cual caminarían a veces cierto trecho envolviendo el cabo de la fibra contráctil como un cáliz fibrilar. Mediante la digestión con la tripsina, operación que destruye la materia estriada, pero respetando el sarcolema y los haces tendinosos, Herwerden no ha visto jamás una fibra conectiva dentro de la cámara sarcolemática. Disposiciones semejantes habían sido ya reproducidas por Schiefferdecker.

Asociación de las fibras musculares. — El haz muscular primitivo o fibra muscular se asocia con otros a favor de un tejido conectivo laxo poco abundante (fig. 246), que alberga una red capilar muy tupida y dispuesta en mallas cuadrilongas. Los capilares son tortuosos, a veces helicoides, para adaptarse fácilmente a los estados de retracción y relajación del músculo. Los manojos resultantes de la asociación de las fibras musculares están individualizados por tabiques conjuntivos espesos y toman el nombre de *fascículos secundarios*. De la integración de los fascículos secundarios en otras unidades mayores, limitadas por septos conectivos todavía más espesos y no pocas veces infiltrados por tejido adiposo, resultan unos manojos voluminosos, visibles a la simple vista y calificados de *haces terciarios*.

Y, finalmente, el músculo entero está revestido por una fuerte membrana aponeurótica (*perimisio externo*).

El tejido conectivo intramuscular ha sido estudiado escrupulosamente por Schiefferdecker en una serie de trabajos consagrados al análisis de los músculos. Con relación a la fina trama intersticial, separa dicho sabio dos urdimbres: una, compuesta de haces colágenos relativamente gruesos, coloreables por el método de Calleja (el tricrómico con carmín) y modelada en septos separatorios de grupos de fibras musculares (*trama de sostén*); otra, mucho más delicada, que rodea individualmente cada fibra, integrada por haces refractarios al carmín de índigo, pero bien tingibles con el nitrato de plata. Puesto que esta reticulación argentófila acompaña a los finos capilares del músculo, justificase la designación dada por Schiefferdecker de *retículo nutritivo*. Estas redes se tiñen bien por el proceder del formolurano, así como por los métodos de Achúcarro y Río-Hortega, según han demostrado estos autores y algunos de sus discípulos (Calandre, etc.).

VARIEDAD ESTRIADA DEL CORAZÓN

Pertenece el tejido muscular de esta víscera al tipo estriado y de contracción brusca, pero ofrece algunas particularidades que conviene hacer notar.

En primer lugar, las fibras musculares cardíacas son ramificadas y anastomosadas, y cada haz primitivo, en vez de estar

representado por un solo elemento, consta en realidad o parece constar de varias células musculares superpuestas. La superficie de contacto de los corpúsculos constitutivos de un haz es plana y se halla a menudo cortada en escalones; la unión de estas superficies tiene lugar a favor de un cemento sólido o pieza intercalar (*disco intercalar* de Heidenhain), coloreable en

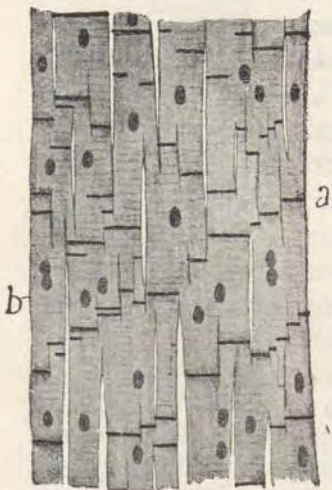


Fig. 248. — Esquema de Heidenhain acerca de la disposición del cemento intercalar de las células cardíacas. *a*, discos intercalares; *b*, segmento celular.

violado por el *Blauschwarz B* y soluble en la potasa (fig. 250, *a*). Esta substancia, sobre cuya significación se discute mucho actualmente, dispónese en placas escalariformes, separadas por planos verticales desprovistos de cemento y al nivel de los cuales la materia estriada de un corpúsculo parece continuada con la del otro (fig. 250, *b*).

Sin embargo, como ha mostrado Heidenhain, a veces los discos intercalares yacen próximos (fig. 248).

Consta la fibra cardíaca de sarcolema, núcleo y materia estriada. El *sarcolema* descubierto por nosotros (1) y confirmado por Hoche, Ebner, etc., bien teñido por Heidenhain con ayuda de un método especial y negado por Calandre (1919), que lo identi-

fica con las hebras de reticulina que envuelven toda fibra muscular, es finísimo, se dispone también en festones, como en las fibras musculares, y no se interrumpe, como creemos haber demostrado, al nivel de las suturas o contactos intercelulares. Según Heidenhain, muchas fibras presentan hendiduras o bolsas revestidas por prolongaciones del sarcolema (*Zwichensarcolema*) y desprovistas de refuerzos conectivos.

(1) Cajal: «Textura de la fibra muscular del corazón.» *Revista trimestral de Histología normal y patológica*, núm. 1, 1888. Véase también nuestro trabajo: «Observations sur la texture des fibres musculaires des pattes et des ailes des insectes» (avec 4 planches). *Intern. Monatschrift f. Anat. u. Physiologie*, 1888, Bd. V.

A nuestro juicio, tales espacios dan la vuelta a las fibras y corresponden a superficies vecinas, excepcionalmente cortas, de brazos musculares anastomosados. El *núcleo* es único, ovoideo, voluminoso, y está alojado en el centro de la fibra. En algunos animales (cerdo, ratón etc.), el eje protoplásmico de la célula puede contener dos o más núcleos, conforme nota Wer-

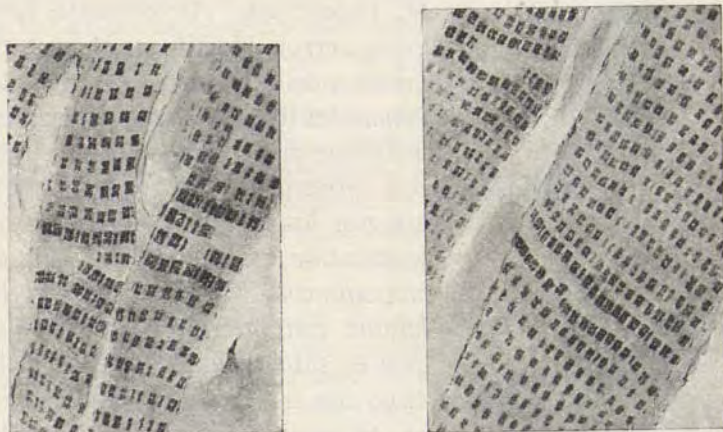


Fig. 249. — Aspecto del cemento o disco intercalar de Heidenhain en los preparados del taniño y plata amoniacoal. (Tomado de Achúcarro y Calandre.) Nótese que el cemento no se colorea, mientras que los discos birrefringentes, singularmente los inmediatos a aquél, se impregnan vigorosamente (fibras musculares cardíacas del hombre).

ner (1910). Finalmente, el *material estriado* exhibe las mismas bandas que el fascículo muscular ordinario, sin otra diferencia que el ser éstas más finas y difíciles de discernir. El disco o placa intercalar que enlaza dos corpúsculos musculares vecinos ocupa precisamente el lugar de una línea de Krause, y, como ésta, viene a insertarse en un repliegue sarcolemático (fig. 250, *c*). A veces, según aparece en los dibujos de Heidenhain, dicho disco ocupa el espesor de un *kommata* (1), abarcando, por tanto, el intervalo de dos rayas de Krause; en

(1) *Inokommata*, o más brevemente *kommata* (de *νωσ*, fibra; *το κομμα*, miembro de un período), voces introducidas en la nomenclatura muscular por M. Heidenhain, expresan el intervalo de dos rayas de Krause o líneas Z.

vez, pues, de recibir la inserción de un festón sarcolemático, recibe la de dos, que encuadran sus límites superior e inferior.

El disco intercalar o cemento de los autores antiguos aparece con ciertos métodos descomponible en bastoncitos lon-

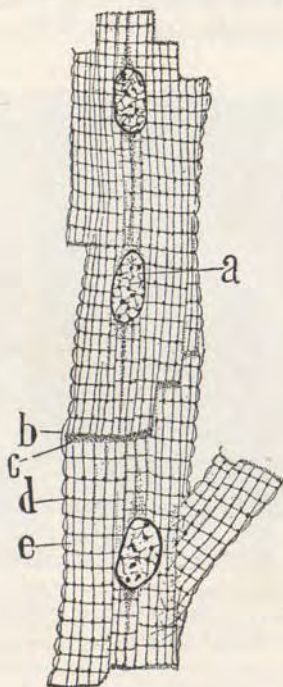


Fig. 250. - Dos fibras musculares del corazón de la vaca, teñidas por el cloruro de oro. a, núcleo; b, sarcolema que pasa de una fibra a otra; c, cemento de unión; d, líneas de Krause; e, fibrilla primitiva.

gitudinales, según probaron hace tiempo Browicz, Przewosky, Mac Callum, Hoche, Ebnér y, sobre todo, M. Heidenhain. No obstante, fuera grave error identificar el material químico de que consta con el de los *kommatas* (bandas oscuras y claras), dado que presentan apetencias tintóreas especiales. Dejamos dicho ya que por los métodos de Heidenhain (coloración en *Blauschwarz B*, *hemotoxilina al vanadio* o en *azul toluidina con thiacinroth*, previa fijación en sublimado), coloréase dicho disco con matices de morado intenso, en ocasión en que los discos birrefringentes no se tiñen o se impregnan débilmente; nuestro método del oro sublimado, que impregna la raya oscura (raya Q), los hace destacar por claro (Calandre) de igual modo que el proceder de Achúcarro, según patentiza la figura 249. En fin, en presencia de la hematoxilina de Böhmer o de la ferruginosa permanecen indiferentes.

En los vertebrados inferiores, la figura de las fibras cardíacas recuerda mucho la de las fibrocélulas, pues afecta la de un huso, abultado en el centro, para albergar el núcleo, y apuntado en las extremidades, que carecen de las placas escaleriformes y al parecer de la continuidad longitudinal parcial de los elementos cardíacos de los mamíferos. Las estriaciones son muy aparentes. En el cavia, Luna ha descrito el aparato de

Golgi (1911), formado por cordones y granos, emplazados de preferencia en el eje protoplásmico, cerca de los polos del núcleo.

Durante los dos últimos decenios ha variado notablemente el concepto del corpúsculo cardíaco, a consecuencia de las investigaciones de Browicz (1893), Przewsky (1893), Mac Callum (1897), Hoche (1897), y, sobre todos, de Ebner (1900), Heidenhain (1901), Merceau (1902), Holmgren (1908), Achúcarro y Calandre (1913), etc., referentes a la constitución y significación de las líneas de cemento o discos intercalares solubles en la potasa.

Del conjunto de estos trabajos resulta que las células cardíacas no son corpúsculos independientes, sino que constituyen una red continua, un verdadero *syncytium*, pasando las fibrillas musculares o primitivas de un corpúsculo a otro y continuándose (si hemos de creer a Ebner), a través del músculo cardíaco, desde los orificios aurículo-ventriculares hasta los tendoncitos de las columnas carnosas de los ventrículos. Verdaderos cabos terminales de las fibras sólo existirían en los vértices de las columnas cardíacas libres o en los puntos de inserción de aquéllas en los agujeros aurículo-ventriculares (Marceau).

Semejante concepción se funda en tres hechos, hace tiempo descubiertos por nosotros (1888) e inconscientemente confirmados después por los mencionados autores (ya que ninguno cita nuestra Memoria, anterior nada menos que en trece años a la fundamental de Ebner). Estos hechos son: *a)* interrupción del cemento intersticial de escalón a escalón, con lo que se establece continuación lateral entre el sarcoplasma de las células en contacto; *b)* situación del mismo al nivel de una línea de Krause, de la cual representa simple modificación; *c)* en fin, posición constantemente intracelular de dichos discos de cemento, por insertarse exteriormente debajo del sarcolema, precisamente en el ángulo de un festón.

A estas observaciones nuestras añaden las modernas investigaciones el dato importante de que el cemento en cuestión no es homogéneo, ni recibe simplemente por sus caras, según suponíamos nosotros, la inserción de las fibrillas primitivas e hilos preexistentes, sino que se compone también de bastoncitos íntimamente yuxtapuestos y en continuación con las fibras o cilindros primitivos. Heidenhain cita además la frecuente presencia de líneas de cemento o piezas intercalares dentro del supuesto territorio celular (fig. 248), las cuales no pueden, naturalmente, corresponder a las fronteras de un elemento.

Sobre la significación de los referidos discos solubles en la potasa, las opiniones están muy divididas. Heidenhain supone que son algo así como reservas de materia a los fines del crecimiento de las fibras; Marceau les atribuye la misión de fijar sólidamente la unión transversal de los corpúsculos musculares; Jordan, Steele, Bardin (1913), las relacionan con la contracción rítmica del corazón, suponiéndolas tanto más próximas cuanto

más acelerado el ritmo; mientras que para Ebner no representarían otra cosa que espesamientos accidentales de las bandas de Krause, producidos por las contracciones anormales de la agonía; paradójica opinión, no compartida por nadie, y que pugna contra el hecho indiscutible de poseer el citado disco de cemento composición química especial muy diferente de la de los discos ordinarios.

La doctrina del *syncytium* cardíaco ha sido también apoyada en el terreno embrionario por Godlewsky (1901) y Marceau (1903), Duesberg (1909), quienes al explorar la evolución ontogénica de las fibras cardíacas, no han

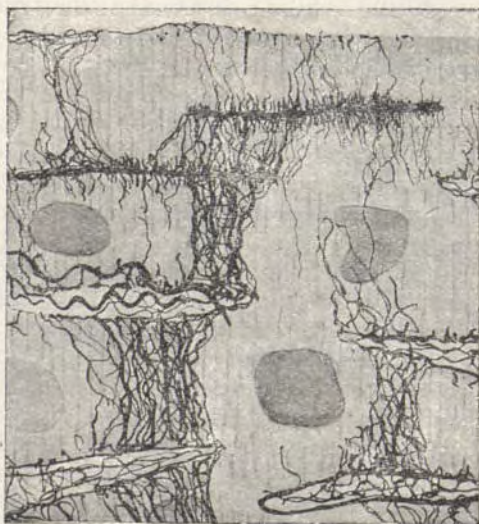


Fig. 251. — Tejido conectivo del corazón humano. Método de Achúcarro (en caliente). Zeiss, Im. 1,30 oc. comp. 12 (según Achúcarro y Calandre).

podido reconocer entre ellas fronteras separatorias. En efecto, los discos de cemento o piezas intercalares faltan en los embriones, apareciendo solamente en épocas tardías.

Sin embargo, en estos últimos años se han producido argumentos que parecen reverdecir la vieja concepción pluricelular de la fibra cardíaca. Zimmermann y sus discípulas Carolina Werner e Irene Paleczowska (1910), insisten sobre el papel de frontera intercorpúscular desempeñado por el disco intercalar o escaleriforme; admiten el repliegamiento del sarcolema por debajo de éste, y, en fin, parecen refutar el argumento cardinal de Heidenhain, a saber: la existencia de discos de cemento próximos y paralelos. Para los sabios berneses, dicha disposición explicaría sencillamente, ima-

ginando la intercalación, entre dos células sucesivas, de una expansión cuadrilonga partida en ángulo recto del soma de un corpúsculo emplazado en plano más profundo y, por tanto, no incluido en el espesor del corte examinado. A tal propósito aportan las discípulas de Zimmermann observaciones y dibujan esquemas muy expresivos.

Reticulo conectivo pericelular. — Diversos autores, singularmente Neuber (1912), han descrito entre las células cardíacas una trama conectiva intersticial delicadísima, cuyos hilos se dispondrían irregularmente. Gracias al poder selectivo del método del tanino y plata amoniacal, Achúcarro y Calandre (1913) han logrado revelar completamente esta urdimbre, demostrando que consta de dos clases de elementos: haces espiroides longitudinales, relativamente espesos, y numerosas y sutiles hebras transversales, en gran parte paralelas entre sí y aplicadas íntima y regularmente sobre el sarcolema, de preferencia al nivel de los surcos o partes profundas de sus festones. En la figura 251 mostramos un dibujo de Achúcarro y Calandre, donde se aprecia, entre otros detalles, que muchos trabéculos son paralelos a las líneas de Krause y que además penetran también en las hendiduras o fondos de saco revestidos por el sarcolema (*intersarcolema* de Heidenhain).

Células de Purkinje. — Debajo del endocardio de ciertos mamíferos (cordero, vaca, cabra, etc.) existe una red de fibras translúcidas, cuyas mallas presentan una forma y dimensión muy variable. Vista al microscopio, cada una de estas fibras o cintas aparece construída de una o más hileras de células poliédricas yuxtapuestas y tan íntimamente unidas como las constitutivas de los epitelios. Semejantes elementos, llamados *células de Purkinje*, suelen encerrar dos núcleos alargados de exigua talla y un protoplasma abundante y granuloso, rodeado por una zona más o menos espesa de materia estriada. Examinando los puntos de enlace de la referida red celular con las fibras cardíacas ordinarias, se advierten transiciones entre ambas especies de elementos, esto es, fibras cuyas células se alargan, mostrando cada vez más recia corteza de material estriado, hasta afectar los caracteres morfológicos de los corpúsculos cardíacos comunes o adultos (figura 252).

Según Ranvier, las células de Purkinje representan elementos cardíacos en vías de evolución y retardados en su desarrollo. A la manera de las fibras estriadas comunes, según luego veremos, el material diferenciado se iniciaría en la periferia, ganando progresivamente terreno hacia el centro, donde permanece el núcleo con un resto de protoplasma indiferenciado.

Marceau (1902), que ha consagrado un buen análisis a las células de Purkinje, hace notar que tales elementos carecen de sarcolema y que las cortezas estriadas que los envuelven pasan sin interrupción de un corpúsculo a otro, borrándose completamente sus fronteras. En la figura 252, que tomamos de la Memoria de este autor, aparece claramente esta disposición, idéntica, por otra parte, a la demostrada por nosotros y v. Ebner en las fibras cardíacas ordinarias.

Fibra estriada de los invertebrados. — Hasta aquí nos hemos referido principalmente a la fibra estriada de los vertebrados, y sobre todo a la de las patas de los insectos, que coincide estructuralmente con la célula muscular de los mamíferos. Pero existen, dentro del tipo general que dejamos descrito, algunas modalidades.



Fig. 252. — Células de Purkinje del corazón, según Marceau. (Embrión de carnero de 55 centímetros.)

Fibras estriadas de las alas de los insectos. — Hemos aludido ya a la gran facilidad con que estos haces musculares se disocian hasta en el estado fresco, y al considerable tamaño de los cilindros primitivos, los cuales se prestan admirablemente al análisis de los discos de substancia mono y birrefringente.

Examinados estos fascículos musculares en los cortes transversales, afectan talla colosal y forma irregular, como lobulada. Un fino sarcolema los envuelve, y de la superficie parten tabiques protoplásmicos que segmentan el haz en grandes compartimientos y conducen tráqueas rami-

ficadas. Los núcleos son numerosos y se hallan tanto bajo el sarcolema como en diferentes puntos de los tabiques protoplásmicos (fig. 253, B).

Explorando con un buen apocromático los grandes espacios limitados por los referidos tabiques, vense dos clases de campos: unos claros, extensos, redondeados (fig. 253, h), correspondientes a los cilindros primitivos cortados de través; y otros oscuros, esquinados, pertenecientes al sarcoplasma y prismas sarcosomáticos (g).

Músculos de las patas de los insectos. — Responden en sus rasgos esenciales a la descripción hecha de la fibra muscular de los vertebrados, con la diferencia de que las bandas son más espesas, más acusado el sarcolema y los núcleos no siempre son periféricos. En muchas especies de

insectos, tanto los músculos de las alas como de las patas poseen núcleos centrales dispuestos en serie dentro de un eje protoplásmico (*dytiscus*, *vespa*, etc.)

Caracteres químicos del tejido muscular. — El *plasma muscular*, es decir, el líquido que se obtiene del músculo por presión del músculo fresco, es un líquido neutro coagulable (por precipitación de la miosina), rico en materias albuminoides. Entre ellas se cuentan: la *miosina* o *miosinógeno*, el *paramiosinógeno*, la *mioalbúmina* y la *mioglobulina*.

La *miosina* o materia del coágulo del *miosuero* es una globulina coagulable a 56°, insoluble en agua, soluble en los líquidos salinos y particularmente en las soluciones de cloruro de sodio o de cloruro amónico al 10 por 100; una solución saturada de sulfato de magnesia la precipita. Aun cuando no es cosa probada, créese que, al modo de la fibrina, la miosina hállase en el vivo representada por una substancia

especial disuelta, el *miosinógeno*, que en presencia de un fermento particular pasaría al estado sólido generando el fenómeno, bien conocido, de la *rigidez cadavérica*. El fermento de la fibrinógena carece de acción sobre el *miosinógeno*.

El *paramiosinógeno* o *musculina* es otra de las substancias albuminoides constitutivas del coágulo muscular. Distínguese del miosinógeno en que coagula a 47°.

La *mioalbúmina* es una materia soluble en agua y soluciones salinas débiles, pero precipitable por saturación del suero

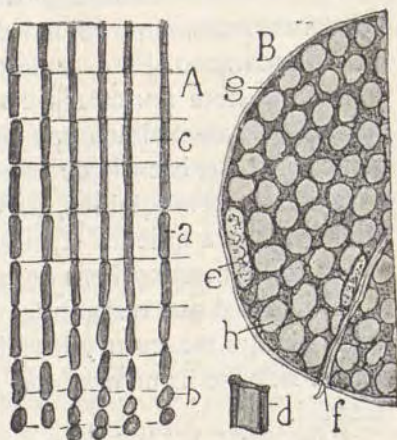


Fig. 253. — Fibras musculares de las alas de la mosca común. Examen en preparaciones impregnadas por el oro. A, trozo de haz visto a lo largo con sus piezas intersticiales aurófilas (*a, b*); B, trozo de fibra vista de través mostrando las piezas intercalares aurófilas (*g*), los huecos ocupados por los cilindros primitivos (*h*), y tabiques portadores de tráqueas (*f*); *d*, pieza intercalar aislada (*sarcosomas colosales* de Holmgren).

sanguíneo con sulfato de magnesia adicionado de un ácido; es imprecipitable por el cloruro de sodio y por diálisis.

La *mioglobulina* coagula a 63° y es soluble en las soluciones salinas neutras diluídas, pero precipita por el sulfato de magnesia saturado en frío, así como por la diálisis y la simple dilución.

Reconócese en la *hemoglobina* la materia colorante principal del músculo, cuyo color rojo se conserva aún después del lavado sanguíneo. Pero, aunque en menos cantidad, contiene también la fibra muscular otro principio colorante, la *miohemoglobina*, caracterizada por ofrecer un espectro de absorción particular. La existencia de esta materia en los insectos donde no existe la hemoglobina, parece refutar la objeción de los fisiólogos, para quienes la miohemoglobina representaría un producto de metamorfosis de la hemoglobina.

El material que resta en las fibras musculares, una vez extraído el jugo muscular y los diversos albuminoides del material estriado, se llama *armazón fibrilar (Bundelgerust)*, de Darnilewski.

En fin, el músculo contiene: *materia glicógena* en proporción del 1 por 1.000 y más; *inosita*, una glicosa insoluble en alcohol y éter, soluble en agua, desprovista de poder rotatorio y reductor y de capacidad fermentatriz; un poco de *azúcar*, creatina y sustancias de la serie úrica, etc.

El músculo fatigado, así como el músculo rígido por la coagulación de la miosina, ha perdido su reacción natural neutra y adquirido la reacción ácida merced a la producción del ácido *sarcoláctico*.

Propiedades fisiológicas del tejido muscular. — La actividad fisiológica para la que el corpúsculo muscular está especialmente diferenciado, es la contracción, que se efectúa, bien por estímulo de los nervios motores, bien mediante excitación directa, eléctrica, química o mecánica, del material estriado. El encogimiento de la fibra tiene lugar solamente en la dirección de su eje, acortando su longitud y aumentando su grueso. Desde los trabajos de Aeby, confirmados por diversos histólogos y fisiólogos, se sabe que la retracción del haz muscular se

determina por espesamientos locales sucesivos, llamados *ondas de contracción*, que comienzan al nivel del punto estimulado y se extienden en dirección opuesta hasta las extremidades. Tal es la contracción que se observa en los fascículos musculares aislados y examinados al microscopio; mas cuando se estimula el nervio que se distribuye por el músculo, en vez de una se producen infinidad de ondas de contracción, tan próximas y rápidas, que cada fibra muscular parece contraerse simultáneamente en todas sus partes.

Rollet ha tratado de averiguar la longitud y rapidez de propagación de la onda muscular en diversas especies animales. De sus pacientes pesquisas resulta que la longitud y velocidad de la onda son mayores en los animales de sangre caliente que en los de sangre fría, y en los vertebrados que en los invertebrados.

Por ejemplo: en el conejo (músculo crural) mide la longitud de onda 261 a 361 mm. y la velocidad 1.500 a 3.400 mm. por segundo. La longitud sería, pues, más grande que el músculo, y ello puede explicar la aparente simultaneidad de la contracción. En la rana decrecen velocidad y longitud, alcanzando ésta de 0,198 a 0,380 mm. Aquí, pues, la onda es más pequeña que el músculo. En fin, en el hidrófilo la longitud ondulatoria desciende a 0,08 ó 0,169 mm. (comprendiendo sólo 12 a 24 inocomatas) y la velocidad, de 0,08 a 0,67. Por lo demás, estas cifras varían para cada autor (véanse las estimaciones de Hurtle).

Las precedentes valoraciones han sugerido a Rollet una idea ingeniosa. A su juicio, en los batracios e invertebrados la escasa longitud de la onda (inferior a la de la fibra) sería compensada con la pluralidad de placas motrices. Basta, por tanto, en los mamíferos una placa por fibra para provocar, dado lo enorme de la onda, la contracción simultánea; mas en la rana y en el hidrófilo la dicha simultaneidad sólo se consigue mediante la acción isócrona de muchas placas motrices. De donde infiere lógicamente Heidenhain que cuanto más rica es la inervación de un músculo, menos perfecta organización nos ofrece. La unidad de la placa motriz del hombre y de los mamíferos constituye, pues, exquisita perfección, relacionada con la magnitud y la velocidad excepcionales de la onda contráctil.

Los cambios que el microscopio permite reconocer en la materia estriada durante el paso de la onda, se han estudiado atentamente en las fibras musculares de las patas de los insectos; por desgracia, la observación de estas mutaciones es tan difícil, tan ardua su interpretación racional, que apenas hay dos

autores que describan los mismos hechos, o que describiéndolos les otorguen igual valor.

En general, cada autor ha visto en la materia estriada en contracción el mecanismo fisiológico a que le obligaba su concepción *a priori* de la textura de la fibra muscular.

Examen de la fibra viva. — Dos hechos se reconocen con cierta claridad en las fibras vivas de los insectos: 1.º Al paso de la onda, las líneas de Krause se aproximan y adelgazan, y el sarcolema se presenta plegado en rizos transversales. 2.º El disco claro o substancia isótropa se estrecha y acaba por desvanecerse, presentándose todo el hueco interpuesto a las líneas de Krause como un disco homogéneo, brillante y notablemente adelgazado (*estado homogéneo* de ciertos autores).

Examen de la fibra fijada y teñida en diversas fases de la contracción. — Variados son los pareceres de los sabios acerca de este punto. Semejante diversidad, imputable a las diferentes y no siempre adecuadas técnicas empleadas, tiende hoy a desaparecer gracias a los recientes trabajos de Schäfer, Holmgren, Duesberg, M. Heidenhain, Thulin (1913), Hurthle (1913), etc., basados en las revelaciones del método de Benda o el de la hematoxilina ferruginosa. Los resultados esenciales de tales investigaciones se resumen en las proposiciones siguientes:

a) En el estado de relajación o reposo, las dos bandas, obscura y clara, diferéncianse perfectamente, tiñéndose la anisótropa intensamente por la hematoxilina (método de Heidenhain). La banda de Krause, perfectamente marcada, afecta bastante delgadez (fig. 254, A), y el disco claro o raya J exhibe relativa longitud. En pleno sarcoplasma, al nivel de la raya J y a cierta distancia de la de Krause, destacan los *sarcosomas J* de Holmgren, intensamente teñidos (fig. 254), los cuales corresponden a las esférulas interfibrilares hace tiempo señaladas por Retzius y Kölliker y erróneamente tomadas por Rollet como discos de las miofibrillas (*discos accesorios* de Rollet).

b) Al iniciarse la contracción (fig. 254, B), la colorabilidad de la banda obscura disminuye, singularmente en su centro; los discos claros se angostan (*raya J*), al paso que los sarcosomas situados enfrente de ella se espesan y dislocan caminan-

do hacia la línea de Krause, con la que se ponen en contacto (figura 254, *B*). Como si la materia cromófila que contienen se pasara a este último disco, adquiere éste intensa coloración y demasiado espesor. (Véase la figura 255, tomada de Schäfer). En fin, la distancia entre las rayas de Krause disminuye y el sarcolema inicia sus festones.

c) Llegado el estado de máxima contracción (figuras 254, *C*, y 255, *C*), exagérase el plegamiento transversal del sarcolema y la dilatación de la fibra muscular. Acentúase además la incolo-

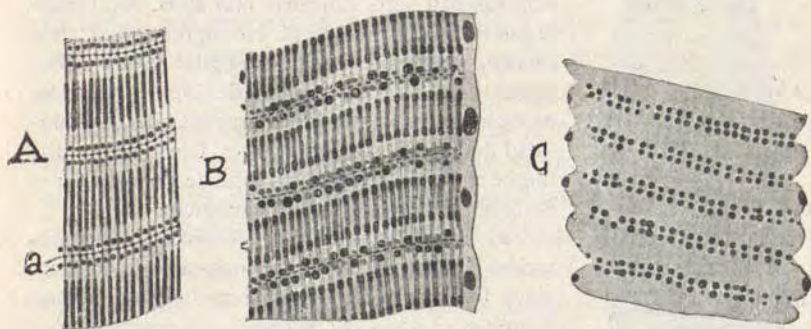


Fig. 254. — Fases de la contracción de la fibra muscular del *Dysticus marginalis* (músculos del dermato-esqueleto). A, estado de reposo o relajación; B, comienzo de la contracción; C, fase de máxima contracción; a, raya de Krause (coloración por la hematoxilina ferruginosa).

rabilidad de la banda obscura (*disco Q*), que ya no hace contraste ninguno con la clara. A consecuencia de la aproximación de los sarcosomas *J* con la raya de Krause y del espesamiento de ésta, genérase recia banda coloreable con la hematoxilina (figuras 254, *C*, y 255, *C*). Esta fusión aparente de dichos elementos con el *telofragma* o raya de Krause explica el fenómeno ya señalado por Merkel, Rollet, Engelmann, etc., de la *inversión de la estriación* (fig. 255).

La prueba de que esta inversión es ficticia y extraña a las miofibrillas, procediendo de la aproximación al telofragma de los sarcosomas *J*, la debemos a Retzius, Schäfer y, sobre todo, a Heidenhain (1911), Duesberg (1912) y Holmgren (1909 a 1913). En la figura 254 damos a este respecto un esquema muy ex-

presivo, tomado de Holmgren, correspondiente a los músculos de los insectos.

Tocante a los cambios íntimos de tales mutaciones (procesos de hidratación, oxidación, reducción, cambios de tensión superficial, etc.), sobrevenidos en los distintos factores de las miofibrillas, sarcoplasma y telofragma, nada se sabe de positivo. Ni siquiera es dable puntualizar cuáles son las partes activas o contráctiles de la miofibrilla (¿disco oscuro?), y cuales las pasivas o elásticas (¿disco claro?).

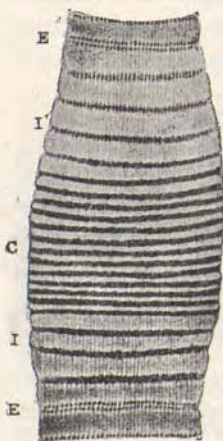


Fig. 255. — Onda de fibra muscular del *Dysticus* (según Schäfer). E, reposo; I, comienzo de la contracción; C, fase de la máxima contracción.

No faltan ciertamente hipótesis, basadas todas en la concepción textural más grata a cada sabio. Algunas han sido indicadas más atrás. Aquí mentaremos brevemente la de Holmgren (1913), destinada a mostrar el papel fisiológico de los sarcosomas y las curiosas relaciones existentes entre las mutaciones de éstos y las alternativas de colorabilidad de los discos miofibrilares. Dicho sabio distingue en las de los insectos (tipo de *granos Q*, alas de la libélula) cuatro fases fisiológicas:

a) *Estado discrecional* (es decir, de acumulación de energía latente precursora de la contracción). La línea de Krause aparece finísima, apenas aparente. El disco *H* coloréase enérgicamente por la hematoxilina (método de Heidenhain), distinguiéndose bien del claro. Entre las miofibrillas se perciben los *sarcosomas Q*, ovals, alargados, que abarcan toda la extensión del disco oscuro, débilmente coloreados.

b) *Fase de contracción*. — Raya de Krause, recia y enérgicamente coloreable y coincidiendo con el abultamiento de la fibra y el aplastamiento de los discos *Q* y *J*. La banda oscura (*Q*) carece de color. La imagen traduce la *inversión* de la estriación, fenómeno bien conocido de los autores. Parece, pues, según Holmgren, que la materia de los sarcosomas se ha pasado al telofragma, que funcionaría como *chromatóforo*, es decir, como recolector y portador de una substancia energética que sería gastada por el disco oscuro.

c) *Fase de regeneración*. — Suspendida la contracción, regenerase la materia de los sarcosomas *Q*, que abultan y se tiñen ahora enérgicamente. En cambio, la raya de Krause palidece y parece como atrofiarse. Las miofibrillas se alargan.

d) *Postregeneración*. — Adelgazamiento notable de las miofibrillas, que palidecen mucho. Intensa colorabilidad de los sarcosomas. La raya de Krause se tiñe, etc.

En suma: la idea central de Holmgren parece ser que los sarcosomas (especie de *protomeras* vivientes de la fibra muscular, correspondientes a las mitocondrias de Duesberg) elaboran un principio dinámico, indispensable a la contracción; este material precioso, coloreable por la hematoxilina ferruginosa, es primeramente absorbido por el telofragma, que lo conduce al disco obscuro. Disipado por éste durante la fase de actividad, regenerase inmediatamente en los sarcosomas. Por lo demás, estos cambios han sido observados también por Holmgren en la contracción de la fibra cardíaca y en la común de los vertebrados.

Cambios morfológicos durante la contracción de las fibras musculares lisas. — Ocurre en ocasiones encontrar en preparaciones coloreadas de músculos lisos espesamientos locales que se consideran como legítimas ondas de contracción conservadas por los reactivos. Un ejemplo interesante aporta Heidenhain (1911) al descubrir en las miofibrillas elementales de las fibras lisas del intestino de la salamandra ciertas nudosidades cortas y finas que no corresponden al mismo plano, como si cada hebra se hubiera contraído por su cuenta. No así en las ondas de contracción señaladas por Carolina Mc. Gill en el intestino del *Necturus*, donde la onda (zona intensamente coloreada por la hematoxilina) comprende la totalidad de las miofibrillas. La exigüidad de los nudos u ondas relaciona Heidenhain con la ley de Rollet, según la cual éstos son tanto más breves cuanto menos diferenciado se halla el corpúsculo muscular.

Génesis del tejido muscular (fig. 256). — Proceden las fibras musculares del mesodermo, iniciándose su evolución en las masas del tejido conectivo embrionario que rodean las protovértebras. Según dejamos apuntado más atrás, el mesodermo, una vez constituido, se diferencia en dos masas celulares: una *lateral (mesodermo lateral)*, que se divide en las dos hojas mesodérmicas *fibrocútanea* y *fibrointestinal*, y una porción espesada situada cerca de la médula espinal y que toma la designación de *m. paraxial*. Este territorio interno o *paraxial* se separa sucesivamente del territorio externo o mesodermo lateral y acaba por adoptar una disposición segmentaria (figura 256, *m. s.*). Cada segmento (*segmentos musculares primitivos*) afecta forma cuboídea y aparece compuesto de una recia

pared, formada por células alargadas de aspecto epitelial, y de una cavidad central llena de plasma.

Pronto el segmento crece y se deforma, dando sus paredes origen a diversos tejidos. Así, la pared ventral (fig. 256, *s. c.*), cuyas células se ramifican y separan luego por una substancia intersticial, generará el esqueleto, de donde el nombre de *es-*

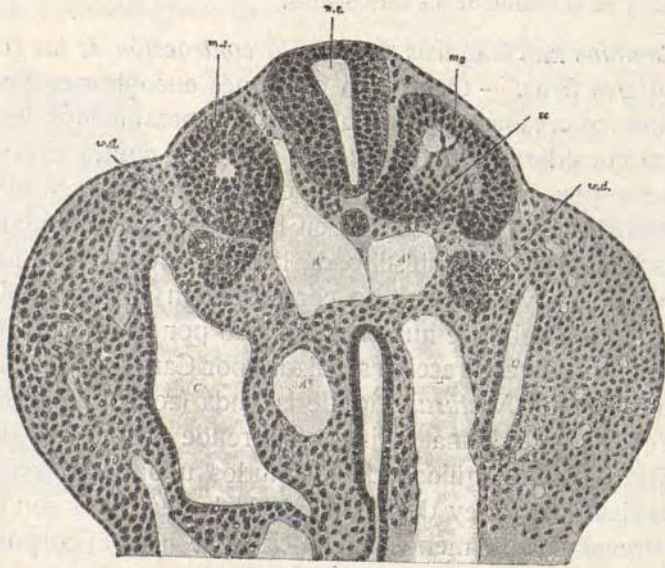


Fig. 256. — Corte transversal del tronco del embrión de conejo del décimo día. El corte es un poco oblicuo (según F. H. Bryce). *nc.*, conducto neural; *ms.*, segmento mesodérmico; *sc.*, pared ventral de un segmento que comienza a transformarse en esclerotoma; *wd.* conductos de Wolff; *A*¹, las dos aortas primitivas; *A*², arteria de la alantoides; *C*, celoma.

clerotoma con que se la conoce. La pared lateral posterior, dispuesta en forma de placa, conservará su aspecto epitelial bastante tiempo (fig. 256, *s. p.*) y producirá el tejido conectivo cutáneo (placa cutánea); en fin, la cavidad desaparecida por el crecimiento y metamorfosis del lado ventral del segmento será ocupada por una lámina celular clara, paralela a la *placa cutánea*. Ahora bien; esta lámina clara, situada entre la placa cutánea y el esclerotoma, será el germen de todo el tejido muscu-

lar voluntario del organismo. Conócenla los embriólogos con la designación de *placa muscular* o *miotomo* (fig. 256, *m. p.*). Sus elementos, alargados en sentido longitudinal, representan los gérmenes de las futuras células musculares, los *mioblastos* de ciertos autores (*miocélulas* de Tello).

La evolución de la fibra muscular ha sido estudiada por un

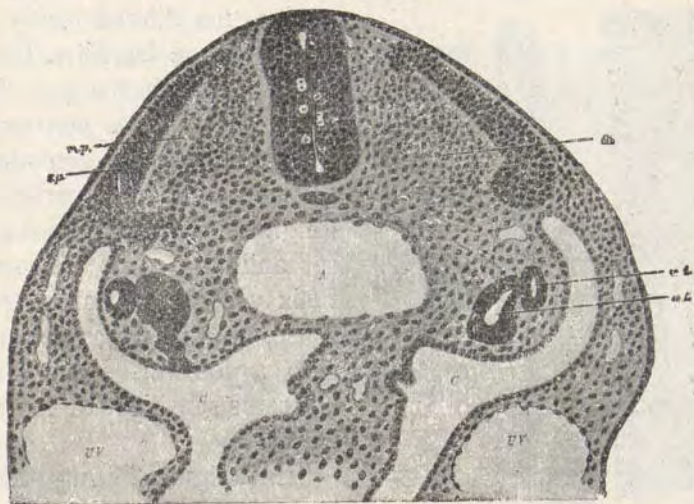


Fig. 257. — Corte transversal del tronco de un embrión de conejo del onzavo día (según F. H. Bryce). *mp.*, placa muscular; *sp.*, placa cutánea; *sc.*, esclerotoma; *wd.*, conducto de Wolff; *A*, aorta; *C*, celoma; *VU*, venas umbilicales.

gran número de autores, entre los cuales, como más modernos, citaremos a Godlewsky, Heidenhain, Asai, Duesberg, Meves y Tello.

En un principio, la *miocélula* carece de estrías, y está representada por un elemento fusiforme o cilíndrico, provisto de núcleo ovoide y central (fig. 258, *A*). Más adelante el núcleo se modifica, y la periferia de la célula exhibe una corteza estriada, que va sucesivamente engrosándose: en el eje reside una sarta de núcleos, así como un cordón protoplásmico indiferenciado (*D*). Esta corteza es ya descomponible en miofibrillas con sus discos característicos.

Durante esta fase, según han demostrado Maurer en el *pe-tromyzon*, Heidenhain en las larvas de lepidóptero y Tello (1917) en las aves y mamíferos, se produce un aumento de las células musculares (*miotubos*), por un proceso de hendimiento longitudinal. La fibra embrionaria o *miotubo* de que emanan las demás se mantiene en el centro del paquete, conforme mos-

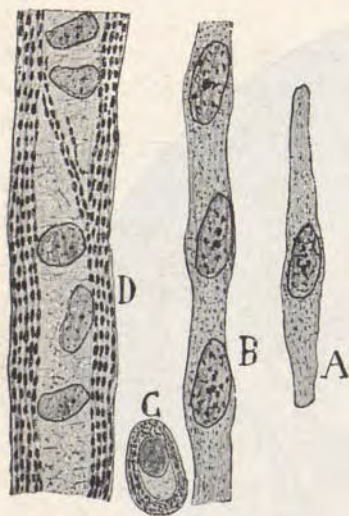


Fig. 258.—Fases evolutivas de la célula muscular de un feto de vaca. A, célula muy embrionaria de núcleo único; B, célula multinucleada, pero sin estriación; D, célula provista de corteza estriada; C, este mismo elemento cortado de través.

tramos en la figura 260, e, y exhibe una diferenciación más avanzada que las hijas. De ahí la distinción hecha por Tello entre los *miotubos primarios* o generadores, y los *secundarios* o generados. Las particiones longitudinales que ciertos autores antiguos como Weissman, Félix y otros señalaron, refiérense, no a las fibras comunes, sino a los husos de Kühne (aparatos sensitivos de los músculos).

En la figura 259 mostramos la sección de los *miotubos* aislados, correspondientes a los músculos de las patas del embrión de pollo de siete días. Repárese que la corteza de los mismos exhibe ya fibrillas primitivas o miofibrillas bien diferenciadas. En la figura 260, tomada también, como la anterior, del excelente trabajo de Tello, aparecen ya las pléyades de *miotubos* isogénicos (embrión del noveno día), rodeando el *miotubo* central o primario (e).

Finalmente, conforme avanza la evolución, la célula se alarga notablemente, el eje protoplásmico se adelgaza hasta desaparecer, y los núcleos, oprimidos en cierto modo por la invasión creciente del material estriado, salen por ciertas discontinuidades o ventanas de que éste se halla sembrado, para colocarse definitivamente debajo del sarcolema (fig. 258, D).

Tello compara este fenómeno a la emisión de pseudópodos de los leucocitos.

Diferenciación de las miofibrillas. — En cuanto a la diferenciación del material estriado de cada fibra, puede concebirse como un fenómeno de regularización y evolución ocurrido en el seno del retículo protoplásmico embrionario.

Según Heidenhain (1913), las miofibrillas, una vez iniciadas en la época embrionaria, se multiplicarían por escisión longitudinal. No se trata, pues, durante el crecimiento de la fibra (fig. 261, *a*), de un acto renovado de diferenciación, sino de un proceso de proliferación incesante de las miofibrillas primitivas, cuyos descendientes se agregarían en histómeras o grupos de histómeras de forma y dimensión variada. Además

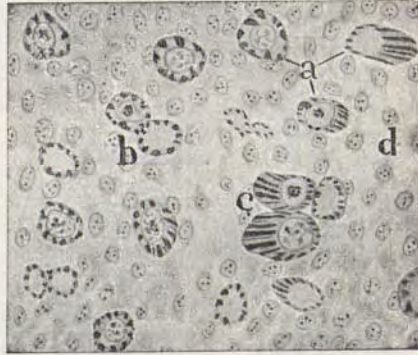


Fig. 259. — Corte transversal de un músculo de la pierna del embrión de pollo de siete días. *a, b, c*, miotubos; *d*, conectivo (según Tello).

de esta multiplicación por hendimiento longitudinal, ya mencionada hace tiempo por Kölliker, Felix, Minot, etc., y, sobre todo, por Maurer, produciríase un crecimiento a lo largo, mediante aparición de nuevos kommatas, es decir, por multiplicación de los preexistentes al nivel de los extremos del paquete miofibrillar. En la figura 261, tomada de Heidenhain, se echa de ver cómo, gracias a la división longitudinal, un grupo exiguo de miofibrillas se convierte, dentro del protoplasma del mioblasto, en un haz considerable, que conserva durante cierto tiempo aspecto radiado.

Preparación del tejido muscular. — *a) Fibras lisas.* — Para estudiar las fibras lisas pueden utilizarse cuatro procedimientos principales: la disociación, los cortes, la distensión y el método de Ehrlich.

La *disociación* debe efectuarse químicamente. En un tubo de ensayo que contenga ácido nítrico al cuarto, se abandonarán por dos o más días

pedazos de tejido muscular del intestino, vejiga, etc., de un vertebrado. Al cabo de este tiempo el cemento de unión es destruido y las fibrocélulas se desprenden y aíslan por simple agitación del líquido. La conservación podrá efectuarse en glicerina, previo lavado de la preparación, a fin de purgarla del ácido que contiene. Las preparaciones así obtenidas son muy bellas desde el punto de vista de la disociación, pero se tiñen mal por los reactivos, y el núcleo apenas se distingue.



Fig. 260. — Corte de un músculo del embrión de pollo de nueve días. *a*, pléyades isogénicas de miotubos; *b*, miotubos aislados; *e*, miotubo primario; *p*, fibras nerviosas aferentes (según Tello).

Para obtener elementos cuyos núcleos sean tingibles por el carmín, hematoxilina, etc., convendrá obtener la disociación por el alcohol al tercio, siguiendo el manual operatorio ya descrito con ocasión de la preparación de los epitelios. También la potasa puede aprovecharse como aislador, pero este reactivo es de difícil manejo y todavía altera más profundamente los núcleos que el ácido nítrico.

Los cortes se ejecutarán en trozos de esófago, estómago, intestino, etc., previa induración en el alcohol y englobamiento en celoidina o parafina. La coloración se efectuará en hematoxilina o carmín.

La hematoxilina con eosina es un buen reactivo, pues colora en rosa el protoplasma contráctil y en violado los núcleos. También es aplicable

el método de Gieson y el de la triple coloración (picro-índigo y fuchina básica).

La *distensión* es particularmente aplicable a membranas transparentes que contienen fibro-células. Supongamos que se trata de la vejiga de la rana: un trozo de este reservorio se extenderá por semidesecación sobre un portaobjetos; luego se lubricará, durante algunos minutos, por el alcohol absoluto, a fin de fijar sus elementos; en seguida se hará actuar sobre él por breves instantes una solución colorante.

b) *Fibras musculares estriadas*. — Conviene estudiarlas en el vivo y tratarlas por diferentes reactivos: cloruro de oro, ácidos, álcalis, alcohol, bicromatos, etc.

Examen en vivo. — A este fin son preferibles las fibras de las patas de los insectos (hidrófilo, escarabajo, cucaracha, etc.). Si operamos en el hidrófilo, debemos comenzar por arrancar una pata al animal y recoger el plasma que rezuma de la herida sobre un portaobjetos. Acto continuo se corta, a favor de tijeras finas, un pedazo del paquete muscular que aparece en el muñón, o un trozo de los músculos interiores de las patas; se traslada la masa viva rápidamente al portaobjetos y se cubre con una laminilla, evitando ejercer sobre las fibras la menor presión. Si la maniobra se ejecuta con destreza, los haces musculares se mostrarán íntegros, sobre todo en sus porciones centrales, y no será difícil encontrar algunos recorridos por ondas de contracción. La observación se realizará de preferencia en los haces atravesados por ondas lentas o agitados por débiles sacudidas.

Algunos autores, por ejemplo, Hürthle (1909), han empleado el cinematógrafo para tomar instantáneamente las fases de la construcción y realizar la síntesis por proyección.

Cabe asimismo practicar el estudio de la trama viviente del músculo en las fibras cortadas de través, procedimiento utilísimo para apreciar el valor analítico de los ácidos y de todos los agentes que revelan las redes

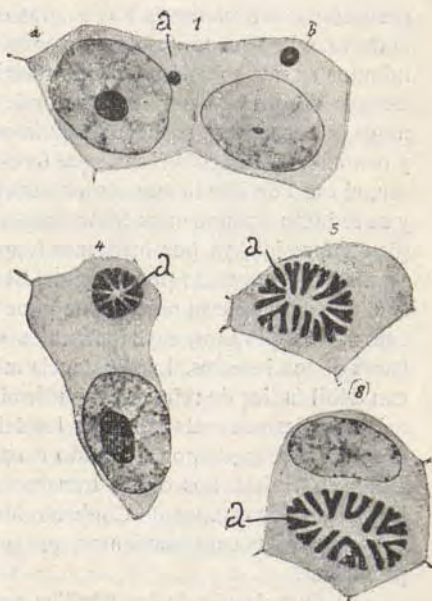


Fig. 261. — Diversas fases del desarrollo en las miofibrillas en el interior de los mioblastos de la larva de trucha. Nótese en la *a* y *b* las gruesas miofibrillas aparecidas y cómo por división longitudinal generan recios paquetes (4, 5, 8). (Según Heidenhain.)

transversales. Para ello no hay más que picar en menudos fragmentos un trozo de músculo todavía palpitante, a favor de un escalpelo bien afilado y sobre el mismo portaobjetos, lubricado por una gota de plasma. Entre los pequeños trozos que se presentarán al examen, una vez cubierta (sin presión) la preparación, hallaremos algunos situados de punta, que mostrarán elegantes reticulaciones transversales, iguales a las reveladas por el oro.

c) *Preparación por los ácidos.* — Los métodos ideados son varios, pero nosotros preferimos, por su gran constancia, el siguiente, casi idéntico al de Lœwit. Trozos de músculo vivo son abandonados por cinco o diez minutos en una solución de ácido fórmico al cuarto; luego se inmergen en cloruro de oro al 1 por 100, en donde permanecen cuarenta a sesenta minutos, y por último, se maceran en la oscuridad, de veinticuatro a cuarenta y ocho horas, en ácido fórmico al tercio. Los trozos del músculo adquieren, al cabo de este tiempo, color violeta oscuro, son sumamente friables y se reducen a fragmentos transversales con la mayor facilidad, ya por simple compresión, ya por insistente fragmentación a favor de un escalpelo bien afilado, sobre un portaobjetos. El examen debe efectuarse en agua o alcohol con un fuerte objetivo de inmersión, sobre todo si se trata de músculos de vertebrados, cuyos músculos son mucho más finos que los de los haces de los insectos. La substancia miósica aparecerá hinchada, incolora, con débil índice de refracción, pudiendo faltar por completo en los parajes más enérgicamente atacados por los ácidos. Sobre este fondo incoloro, en gran parte ocupado por el líquido reactivo, destaca la trama fibrilar del haz teñida en violeta. Los cortes transversales presentarán con gran limpieza las redes y los campos de Conheim, los longitudinales, los filamentos preexistentes y sus engrosamientos, que son las partes más enérgicamente impregnadas.

d) *Disociación de las fibrillas primitivas.* — Su separación es facilísima con ayuda de cualquier agente coagulante: el alcohol, el ácido ósmico, el ácido pícrico, crómico, bicromato de potasa, bicloruro de mercurio, etc. La simple maceración en agua común y aun la coagulación espontánea, son condiciones que pueden determinar la disociación.

Con todo, el medio más seguro y el que permite un estiramiento más fácil y, por consiguiente, la exhibición de mayor número de estrías en las fibrillas, es el alcohol flojo (de 33 a 50°). Los músculos frescos deberán abandonarse en este líquido por dos o cuatro días, y serán disociados con las agujas por el procedimiento de la semidesecación. La preparación se teñirá por el carmín o la hematoxilina y se montará en glicerina.

La *disociación* de las fibrillas por las agujas resulta cómoda en los músculos de las alas de los insectos, donde la coagulación de la miosina es, digámoslo así, sobre todo en ciertos insectos (muscidos), instantánea. Basta disociar en agua o en plasma un trozo de músculo torácico de mosca común para que inmediatamente aparezcan numerosas fibrillas perfectamente aisladas. La descomposición es menos fácil en otros insectos (hidró-

Esta disposición fundamental de las neurofibrillas fué confirmada substancialmente (1904 y 1907) por van Gehuchten, Azoulay, Lenhossék, Rossi, Joris, Tello, Marinesco, Nageotte, Retzius, etc., etc. También Donaggio (1903), independientemente de nosotros y a beneficio de un método especial, ha demostrado la existencia de neurofibrillas anastomosadas; empero, influido por las doctrinas de Bethe, admite aún la presencia de algunos hilos gruesos e independientes.

En las figuras 272 y 273 reproducimos la disposición de las neurofibrillas en diversos tipos celulares. En ellas puede repararse que la riqueza y complicación de los susodichos filamentos varía no poco con el tamaño y morfología de la célula. Bajo este aspecto cabe distinguir tres categorías neuronales: a) *neuronas fasciculares o motrices*; b) *neuronas pequeñas o reticulares*, y c) *neuronas reticulofasciculadas o medianas*.

a) Pertenecen al *tipo fasciculado* los grandes elementos motores de la médula, bulbo raquídeo, gran simpático, gigantes y medianas pirámides cerebrales, etc. Todas estas células exhiben huecos fusiformes para alojar los granos de Nissl (véase más adelante), entre los cuales residen, condensadas en haces complicados, las neurofibrillas. Según se aprecia en la figura 272, d, hasta en el espesor mismo de los claros se divisa tal cual filamento. Una parte del vasto sistema fibrilar pasa, concentrándose, al axon, que, después de formar un cono de origen, se adelgaza progresivamente, palideciendo, para ensancharse nuevamente en el punto en que comienza la vaina medular. Al nivel de dicha estrechez es imposible discernir las neurofibrillas. En fin, las hebras destinadas a las dendritas provienen de diversos parajes del almacén, y sin apretarse notablemente, como ocurre en el punto de emergencia del axon, generan un haz que va desprendiendo neurofibrillas al compás de las dicotomias dendríticas. Las últimas ramillas constan de una sola hebra excesivamente pálida y, al parecer, libremente terminada. Carecen de filamentos de este género las espinas colaterales de las dendritas y buen número de varicosidades de los axones y arborizaciones terminales de éstos.

b) Al *tipo reticulado* corresponden las células de los ganglios raquídeos y craneales, los pequeños y medianos corpúsculos de la médula, bulbo y protuberancia (células funiculares), algunas medianas y pequeñas pirámides del cerebro, casi todas las ganglionares de la retina, etc. Distínguense tales armazones por su relativa pobreza en neurofibrillas, que no suelen constituir haces intrasomáticos, sino redes poligonales en donde confluyen las hebras arribadas del axon y de las dendritas (fig. 274). A menudo se distinguen dos regiones bien deslindadas dentro del retículo somático: *zona cortical*, compuesta de mallas amplias e hilos laxos; *zona perinuclear*, construída de retículo aplastado y denso. Conforme han revelado nuestras observaciones, esta zona perinuclear recibe de las dendritas y axon manojos radiados formados por neurofibrillas, de ordinario más espesas que las constitutivas de la zona cortical y situadas originariamente en el eje de las

expansiones. Asimismo hemos puesto de manifiesto que tales hebras se ramifican al asaltar el plexo perinuclear (conejo joven)

En los reptiles, según ha descubierto Tello, aparece con extraordinaria claridad (fig. 276, *e*) el citado plexo profundo, así como su comunicación con un sistema especial de neurofibrillas.

c) Armazones mixtos, es decir, en parte fasciculados y en parte flojos y reticulados, hállanse en muchas células funiculares grandes de la médula, bulbo, protuberancia, etc. La disposición reticular, así como el doble plexo somático antes descrito, preséntase también con claridad.

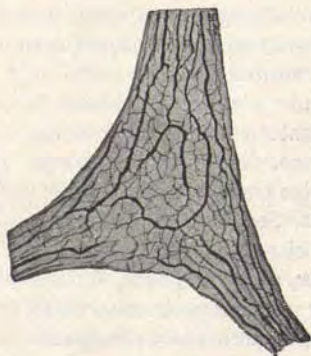


Fig. 274. — Célula funicular mediana de la médula espinal del conejo de pocos días. Tipo de armazón fibrilar reticulado. (Nitrato de plata reducido.)

No todas las neurofibrillas afectan el mismo espesor. Nuestras observaciones demuestran que, por lo menos en ciertas células, existen dos especies de hebras continuas entre sí: neurofibrillas *primarias*, relativamente espesas, que constituyen las principales vías del armazón, y las neurofibrillas *secundarias* o finas, pálidamente coloreadas y destinadas a enlazar entre sí los filamentos primarios (fig. 274).

2. *Cromatina protoplásmica o inclusiones basiófilas*. — Además de este armazón o esqueleto fibrilar, las investigaciones de Nissl, Schäffer, etcétera, realizadas con un método especial de coloración, han revelado un nuevo factor protoplásmico: los

grumos o usos crómicos (fig. 275).

Cuando se tiñen por el rojo magenta, azul de metileno β , o la tionina, etc., las gruesas células del asta anterior de la médula, previa induración en alcohol, se advierten, en medio de una masa protoplásmica casi incolora, unos cuerpos fuertemente coloreados, de un tamaño superior al de los gránulos ordinarios, puesto que miden un diámetro de $1\frac{1}{2}$ a $3\ \mu$. Semejantes *grumos cromófilos* afectan forma triangular o poliédrica en las inmediaciones del núcleo, y están separados por escasa cantidad de substancia pálida; mas los residentes cerca de la periferia se muestran alargados, a menudo fusiformes y separados por mayor cantidad de protoplasma incoloro (fig. 275, *b*). Algunos pocos grumos cromófilos se extienden también, durante

un buen trecho, por las expansiones protoplásmicas, en las cuales se disponen en largos usos paralelos; en cambio faltan completamente en el cilindro-eje, que se presenta pálido hasta en su mismo cono de origen (fig. 275, *a*). Esta diferencia, seña-

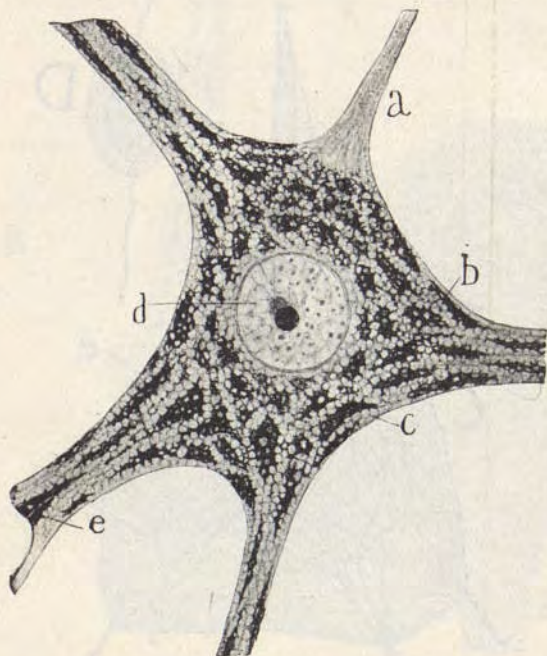


Fig. 275. — Célula motriz de la médula espinal del conejo. Coloración por la tionina. *a*, cilindro-eje; *b*, grumo cromático; *d*, núcleo; *c*, espongioplasma; *e*, masa de bifurcación.

lada primeramente por Simarro y confirmada por Schäffer, permite distinguir bien ambas especies de expansiones, y establece entre el cilindro-eje y el cuerpo celular un contraste de estructura y composición química, que debe guardar relación con la distinta actividad funcional de ambas partes celulares.

Algunas investigaciones nuestras nos permiten afirmar que los grumos cromáticos ofrecen en su interior un espongioplasma vacuolado, de trabéculas continuadas con el esqueleto del protoplasma. Asimismo hemos notado que los grumos de

Nissl no están colocados al azar dentro de la célula, sino que aparecen constantemente emplazados entre los parajes donde habitan haces de neurofibrillas o líneas de conducción nerviosa (Lugaro, Cajal); por donde cabe conjeturar que los tales

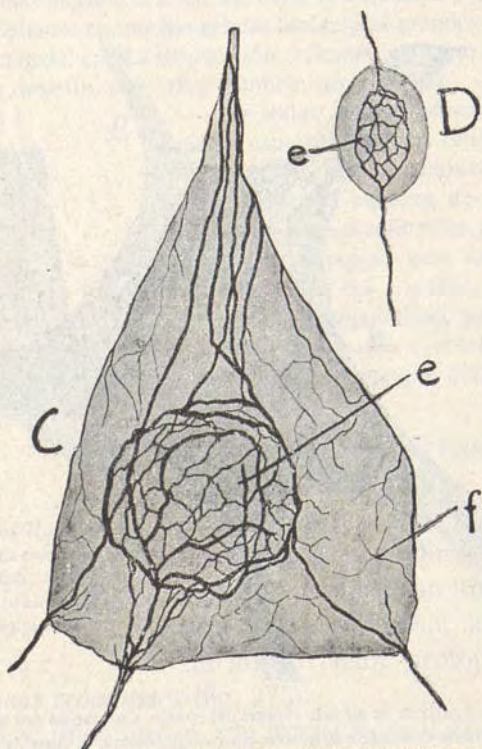


Fig. 276. — Disposición de la red perinuclear en las células de la médula y bulbo de los reptiles (según Tello). Método del nitrato de plata reducido. *e*, red perinuclear; *f*, trabéculas finas de la red superficial.

grupos desempeñan en la fisiología celular un papel pasivo, probablemente de naturaleza nutritiva. Los experimentos fisiológicos de Lugaro, Mann, Marinesco y otros prueban además que los referidos grupos pueden sufrir grandes alteraciones en condiciones patológicas.

3. *Espongioplasma*. — Es muy probable, aunque no seguro, que tanto las neurofibrillas como los husos de Nissl estén

contenidos en ciertos tabiques anastomosados de una substancia especial que, en los preparados teñidos por las anilinas, exhibe la disposición de una esponja pálida, adherida por dentro al núcleo y periféricamente a la cubierta (fig. 275).

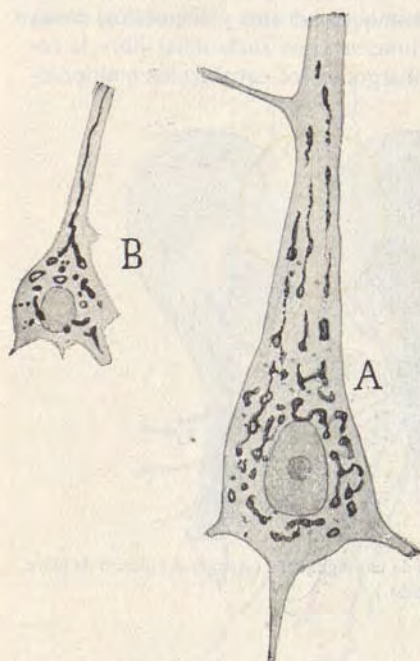


Fig. 277. — Perro adulto. Aparato reticular de Golgi, de dos pirámides cerebrales. (Método del nitrato de plata reducido con fijación en formol-acetona.)

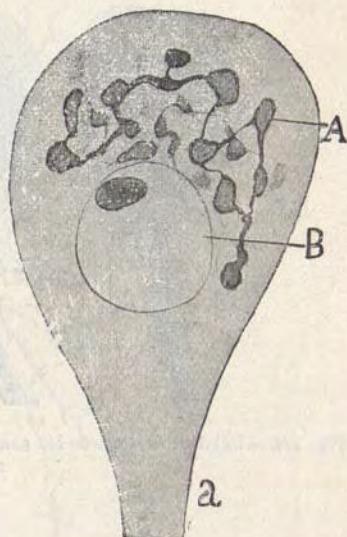


Fig. 278. — Célula nerviosa de la lombriz de tierra. A, aparato reticular; B, núcleo. (Método del nitrato de plata reducido.)

4. *Jugo celular*. — Es el líquido transparente que empapa todos los huecos del espongioplasma y de las neurofibrillas. Abunda mucho proporcionalmente en las células de tipo reticulado y su composición química se desconoce. En suspensión en este líquido hállanse finas granulaciones coloreables por el método de Altmann, y que Held, que las ha estudiado bien, designa *neurosomas*. Para Nageotte (1909) estos finos granos correspondrían a las *mitocondrias* de Benda y Meves.

Que los citados gránulos sean positivamente idénticos a las mitocondrias de Benda y Meves, es pleito harto dudoso, sobre todo si se tiene presente, como nota Duesberg, que los métodos de teñido clásicos del

condrioma (el de Benda, el de Regaud y el de Meves), dejan percibir, con gran rareza y escasez, granos y filamentos en el protoplasma nervioso. Sin embargo, Luna (1913) pretende haberlas coloreado en los dos primeros métodos.

5. *Aparato reticular de Golgi* (fig. 277). — Según expresamos en la parte general de este libro, los trabéculas de este aparato se presentan en las células nerviosas de los mamíferos muy numerosos y dispuestos, como ha demostrado Golgi, en retículo perinuclear, que suele dejar libre la región cortical del protoplasma. Sin embargo, en los corpúsculos multipolares

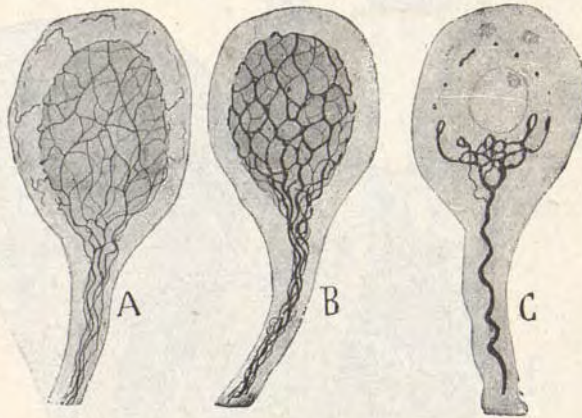


Fig. 279. — Células nerviosas de los ganglios de la sanguijuela. (Método del nitrato de plata reducido.)

res de la médula espinal, cerebro y cerebelo, esta red tubular se extiende a casi todo el protoplasma somático, constando de numerosos cordones sinuosos, moniliformes, separatorios de angostos espacios interlobulares. En armonía con las conclusiones de Golgi, Veratti y Soukanoff, no hemos logrado hallar comunicación entre dichos cordones intracelulares y el exterior, por lo cual no podemos aceptar la opinión de aquellos sabios, que reputan los referidos cordones como un sistema de conductos nutritivos en continuación con los vasos o con elementos neuróglícos (el *neurospogium* de Holmgren).

Células nerviosas de los invertebrados. — Las investigaciones de Retzius, Lenhossék, Apathy, Bethe, etc., sobre los ganglios de los invertebrados, prueban que las neuronas de estos animales simplifican su morfología conforme se desciende en la escala animal. Así, en los vermes, preséntanse en su mayor parte monopolares, del mismo modo que en insectos, crustáceos y gasterópodos. No obstante, en algunos gusanos (*Lumbricus*, etc.)

aparecen ya elementos con dos o más expansiones, nacidas, generalmente, del polo profundo de la neurona gangliónica. La expansión única es recia; dirígese hacia las regiones profundas del ganglio, donde existen territorios plexiformes especiales (*Punktsubstanz* de Leydig); suministra colaterales o ramas cortas ramificadas en estas zonas, y, finalmente, emerge del ganglio, constituyendo una fibra motriz. Los trabajos ya citados de Retzius y Lenhossék han revelado que las expansiones cortas repartidas en el interior

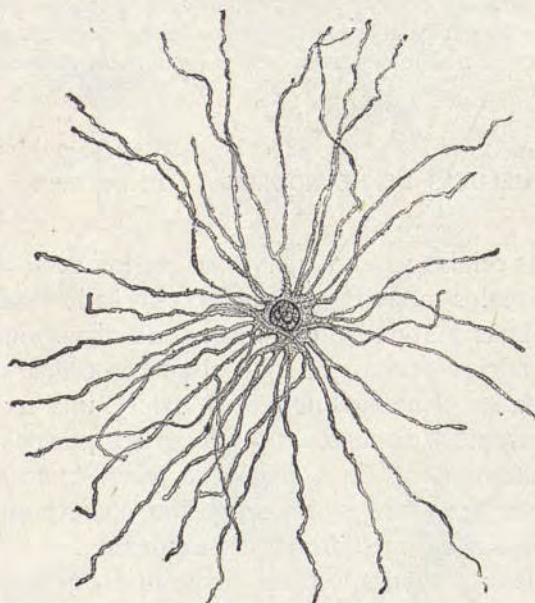


Fig. 280. — Célula de neuroglia de la sustancia blanca de la médula espinal. Disociación por el bicrotomo de potasa diluido. Coloración con carmín.

del foco representan las *dendritas* de las neuronas de los mamíferos, dendritas que, en vez de proceder, como en éstos, del soma, emanan de la porción originaria del axon. Asimismo se ha comprobado que tanto las referidas expansiones protoplásmicas como el axon se terminan libremente a favor de arborizaciones varicosas.

En fin, en los insectos, dicha dislocación de las dendritas se exagera todavía, naciendo a gran distancia del soma, conforme mostraron Kenyon, Cajal y Zawarzin en los ganglios ópticos. Las investigaciones posteriores efectuadas por nosotros y Sánchez en los muscudos e himenópteros (1915 a 1918) enseñan que existen neuronas de cuyo tallo principal emergen dos

o más pisos de dendritas, y que, de igual suerte, la arborización terminal de aquél puede descomponerse en varios tramos distantes de ramificaciones varicosas (1).

Posee cada célula ganglional de los invertebrados, núcleo, membrana y protoplasma. Dentro de este último se contienen también un aparato de Golgi (de ordinario confinado en la región supranuclear) (fig. 278, A), finos grumos cromáticos, un espongioplasma pálido y, sobre todo, las neurofibrillas. Estas son muy aparentes, conforme mostró primeramente Apathy en el *hirudo* y otros vermes, y hemos confirmado nosotros, Azoulay, Sánchez y Ascoli. En la figura 279 damos los tres aspectos más comunes del retículo neurofibrillar de las neuronas motrices de la sanguijuela.

CÉLULAS DE NEUROGLIAS O DE DEITERS

Entre las células y tubos nerviosos de los centros residen unos corpúsculos menudos, de cuerpo estrellado y guarnecido de largas, finas y abundantes expansiones divergentes (figura 280). El núcleo ocupa casi todo el cuerpo celular, y a diferencia del de los elementos nerviosos, exhibe una red cromática bien aparente y dispuesta en capa cortical por debajo de la membrana acromática. En la neuroglia joven, junto al núcleo y en el origen de la más gruesa expansión, aparece un diminuto aparato de Golgi (método del urano-formol).

La abundancia, finura, escasas dicotomías y aspecto granuloso y flexuoso de los apéndices de las células neuróglicas, distinguen perfectamente estos elementos de los nerviosos. De la reunión de semejantes apéndices, entrecruzados de mil modos, resulta la trama o plexo de hilos que separa los tubos de la substancia blanca y de las células de la gris.

Bajo el aspecto de la forma es preciso distinguir tres tipos de células neuróglicas: 1.º, *tipo de la substancia blanca*, el cual afecta forma estrellada y exhibe larguísimas expansiones lisas, poco o nada ramificadas y bien coloreables por el método de Weigert (fig. 281); 2.º, *tipo de la substancia gris*, constituido

(1) Cajal y D. Sánchez: «Contribución al conocimiento de los centros nerviosos de los insectos.» *Trab. del Lab. de Inv. biol.* Tomo XIII, 1915 (con 89 grabados y dos láminas litográficas).

por elementos estrellados, alargados o fusiformes, provistos de expansiones ordinariamente más cortas, erizadas de espinas o

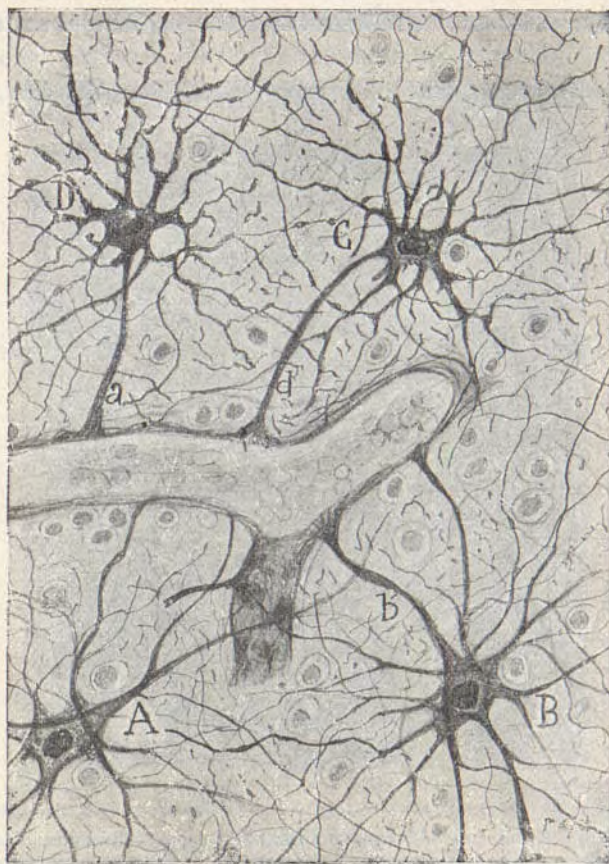


Fig. 281. — Células neuróglícas de la substancia blanca del cerebro humano adulto. (Método del oro.) A, aspecto de ciertas células donde se divisa un aparato fibrilar; B, C, aspecto ofrecido por otras, donde el protoplasma teñido en masa no consiente la percepción de fibras; a, b, c, pies perivascularés.

de apéndices verrugosos colaterales (fig. 282), y 3.º, *el tipo adendrítico*, pequeño, al parecer sin apéndices y acerca de cuya naturaleza no se ha llegado todavía a un acuerdo.

a) *Neuroglia de la substancia blanca*. — Los memorables

estudios de Weigert (1895) pusieron de manifiesto una importante particularidad de las células neuróglícas. Usando un método especial de coloración (véase más adelante la técnica del tejido nervioso), demostró este sabio, en las células en araña,

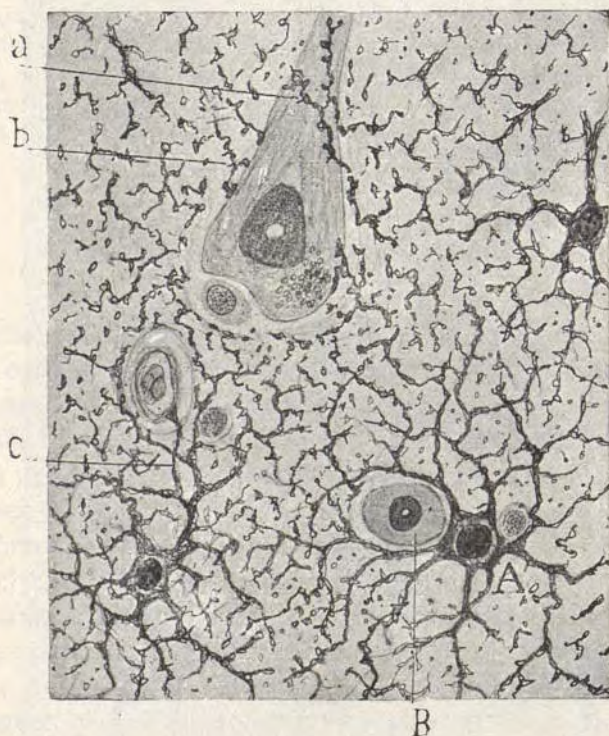


Fig. 282. — Trozo de un corte de la corteza cerebral del hombre adulto normal. A, astrocito protoplásmico; B, neurona probablemente de axon cortó; a, b, pedículos pericelulares continuados con apéndices neuróglícos; c, fino pedículo perivascular. (Coloración por el cloruro de oro.)

dos substancias: una granulosa, que forma el cuerpo celular y acompaña en parte los filamentos, y otra homogénea, dispuesta en hilos (filamentos neuróglícos propiamente dichos), la cual atrae vivamente el violado de metilo (método de Weigert). Tales filamentos coloreables atravesarían de parte a parte el cuerpo celular, de manera que dicho cuerpo, con su materia

granulosa, vendría a ser solamente un punto de entrecruzamiento de multitud de filamentos neuróglícos independientes.

Los astrocitos de la sustancia blanca poseen uno o varios recios apéndices, designados *pedúnculos vasculares* o *aparatos chupadores*, insertos sobre la adventicia de los vasos inmediatos (fig. 281, a) En la porción originaria de este pedículo yace,

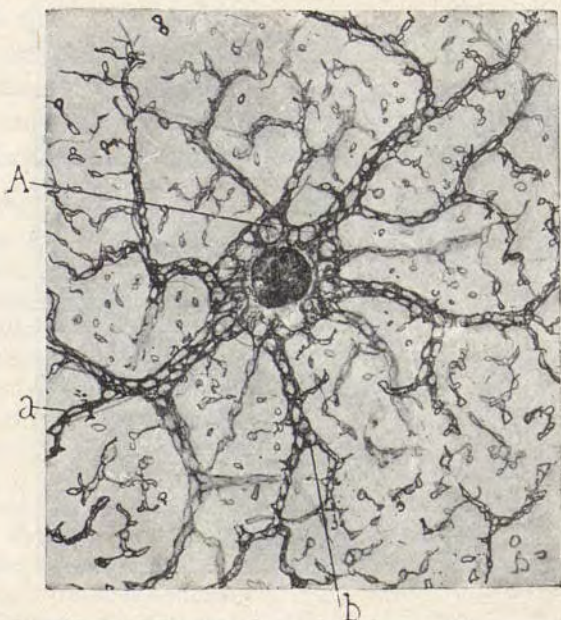


Fig. 283. — Gruesa célula neuróglíca de la capa de las pirámides del asta de Ammon del hombre adulto. A, grandes vacuolas del soma; a, b, huecos de las expansiones destinados a los gliosomas.

según hemos mostrado Achúcarro y nosotros, el centrosoma. En el hombre obsérvase con frecuencia, ya en el soma, ya en uno de los apéndices radiados, cierto divertículo a veces modelado en zurrón, relleno de esférulas coloreables por el nitrato de plata y semejantes a los gránulos de pigmento de las neuronas.

b) *Células neuróglícas de la sustancia gris* (fig. 282).— Caracterízanse, según dejamos dicho, por la cortedad y aspec-

to vellosos de sus expansiones, así como por la ausencia de fibrillas de Weigert diferenciadas. Desde el punto de vista estructural y prescindiendo del núcleo y centrosoma, que nada tienen de particular, son de notar en el protoplasma de estos astrocitos: un espongioplasma cavernoso, tingible por el oro (método del sublimado-oro; fig. 283, A), y ciertas esférulas o

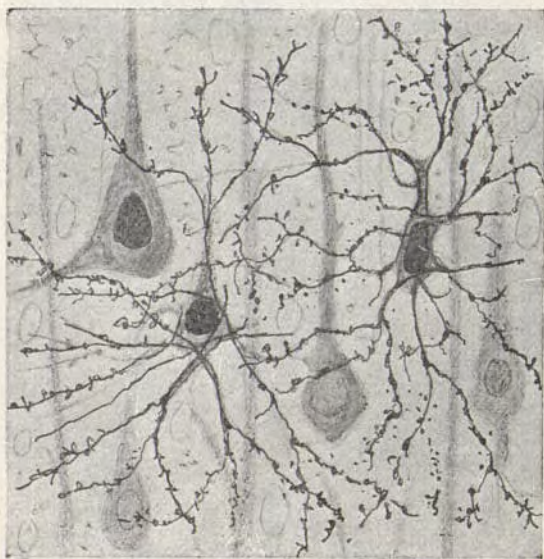


Fig. 284. — Células neuróglícas de tipo mixto de la corteza del gato adulto. Nótese al nivel del soma una diferenciación fibrillar semejante a la característica de los astrocitos de la sustancia blanca.

inclusiones señaladas por muchos autores y recientemente estimadas por Nageotte (1910), Mawas (1910), Achúcarro (1914) y nosotros (1915), como legítimas mitocondrias (*gliosomas*). A imitación de los astrocitos de la sustancia blanca, los de la gris poseen también pedículos vasculares, pero éstos son finos y se insertan sobre el endotelio de capilares vecinos a favor de pequeña eminencia cónica (fig. 283, c). En el hombre contiene el soma, casi constantemente, granos pigmentarios. Son fre-

cuentes los grupos isogénicos de dos y cuatro astrocitos, cuyos somas están casi en contacto.

En fin, entre el corpúsculo neuróglico de la sustancia gris y el de la blanca encuéntranse transiciones. Estos corpúsculos mixtos presentan apéndices vellosos, y al nivel del soma y porción inicial de éstos percíbense fibrillas de Weigert bien diferenciadas (fig. 284). Habitan en la capa molecular del cerebro y porciones profundas de la gris (hombre), y en casi toda la corteza cerebral de los mamíferos (perro, gato, etc.)

Entre las variedades neuróglicas de la sustancia gris merecen consignarse: 1.º, los *corpúsculos satélites*, es decir, astrocitos, que rodean con sus apéndices el soma de la neurona (fig. 282, A); 2.º, los astrocitos perivasculars, señalados hace tiempo por Andriezen, y cuyos apéndices forman plexos fibrilares en la adventicia; 3.º, los corpúsculos en *forma de búcaro*, bien descritos por Achúcarro (1913) en la corteza cerebral del gato y perro jóvenes, y que representan astrocitos de forma juvenil, con predominio del pedículo vascular, formas subsistentes en el conejo adulto y otros animales leicéfalos; 4.º, las *células cometarias* de Rétzius, de que abundan ejemplos en la capa molecular cerebral.

c) Los *elementos* al parecer *adendríticos*, señalados hace tiempo por Bevan-Lewis, Robertson, Nissl, etc., confirmados modernamente por Bonome (1909), Eisath (1911), Achúcarro, etcétera, han sido impregnados por nosotros (método del formol-urano (1914). Trátase de células pequeñísimas, redondeadas, de contorno tuberoso, a veces ornado de protuberancias o apéndices breves, fungiformes, que les prestan aspecto de rueda dentada (fig. 285). Hacia el lado del soma más rico en

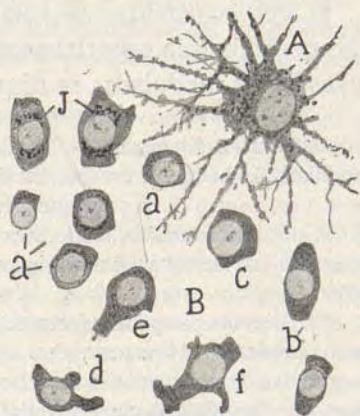


Fig. 285. — Células impregnadas en la sustancia blanca del gato de veinte días. Fijación en formol-urano. Reducción argéntica. A, astrocito común; B, diversos tipos de células diminutas adendríticas, tomadas de diversos parajes de la sustancia blanca.

protoplasma, destaca diminuto aparato de Golgi. El núcleo, frecuentemente excéntrico, es exiguo. Por la dimensión del soma diferéncianse dos modalidades: tipo menudo, casi redondeado, cuyo núcleo aparece envuelto en escasa cantidad de protoplasma (fig. 285, *a*), y tipo relativamente grande, más o menos poliédrico, cuyo soma, rico en dicha substancia (fig. 285, *f, g, h*), se recorta, a veces, en protuberancias.

El tipo *adendrítico* no falta en ningún órgano nervioso central, pero abunda especialmente en la substancia blanca, entre cuyas fibras meduladas se dispone en series lineales.

Células en bastoncito. — En diversos procesos patológicos, observaron Nissl, Alzheimer, Perusini, Da Fano, Rossi, Cerletti, Achúcarro y Gayarre, etc., dentro de la substancia gris y paralelas al tallo de las neuronas, ciertas células diminutas, fusiformes de núcleo alargado, orientadas paralelamente a las neuronas, que designamos células en bastoncito o *Stäbchenzellen*.

En diversas pesquisas efectuadas en nuestro laboratorio (1908 a 1914) logró Achúcarro demostrar, con ayuda de diversas fórmulas argénticas imaginadas por él, que tales corpúsculos alargados poseen numerosas expansiones ramificadas de tipo glial. Por éste y otros rasgos inclinóse, al principio, a estimarlos como una adaptación topográfica de la neuroglia normal, la cual gozaría, en estado patológico, de la propiedad de dislocarse y reformar sus expansiones. Más adelante, al notar que jamás se impregnaban con nuestro proceder del oro-sublimado, en un trabajo colaborado por Gayarre, atribuyó a las *Stäbchenzellen* un origen mesodérmico, corroborando el parecer de Nissl y Alzheimer. Pero las interesantes investigaciones de Río-Hortega (1920), efectuadas con ayuda de una modificación especial de su método del carbonato argéntico, han esclarecido notablemente el problema de la morfología y origen de las *Stäbchenzellen*, demostrando: 1.º, que semejantes células constituyen un factor normal de la trama nerviosa gris y blanca, y 2.º, que deben identificarse con lo que nosotros hemos llamado *glia adentrítica* o *tercer elemento*.

En opinión de Del Río, nuestro *tercer elemento*, como ya habíamos sospechado nosotros, no forma un solo género citológico. Además, percíbese en él, cualquiera que sea su posición, un contorno guarnecido de apéndices más o menos largos y ramificados. En fin, tales células carecerían de aparato de Golgi visible y de gliosomas y mitocondrias.

Aludiendo a los caracteres microscópicos y estructurales, distingue el referido autor estas dos especies; *a*), la *microglia*; *b*), la *glia interfascicular*:

«*a*) La *glia interfascicular* se sitúa de preferencia entre los haces de

fibras nerviosas de la substancia blanca, aunque también acompaña a las células nerviosas y a los vasos (satélites neuronales y vasculares), y se caracteriza por su núcleo grueso, vesiculoso, su cuerpo redondeado o poliédrico, de aspecto epitelial, y sus prolongaciones escasas, largas, filiformes y poco ramificadas.

»b) La *microglia* se difunde por todo el tejido nervioso, abundando más en la substancia gris que en la blanca, y se caracteriza por su núcleo pequeño, obscuro, envuelto por escaso protoplasma y por sus expansiones largas, tortuosas, ramificadas y guarnecidas de espinas laterales. En su protoplasma, toscamente reticulado, no encierra gliosomas ni gliofibrillas, pero contiene frecuentemente (senilidad y procesos patológicos) granulaciones pigmentarias y lipoides.»

Ambas variantes del tercer elemento reconocerían probablemente, según dicho autor, origen mesodérmico, y cabría bautizarlas con la designación genérica de *mesoglia*. Ambas poseerían también alto grado de capacidad emigratoria y contractilidad amiboide.

Lo más importante para nosotros en las investigaciones de Del Río consiste en la demostración de la existencia normal, dentro de la substancia gris, de lo que denomina *microglia*, es decir, una categoría celular completamente diferente en tamaño, morfología y estructura de los dos tipos clásicos de neuroglia. En cuanto a la existencia de apéndices en todos los elementos incoloreables por el oro y fórmulas argénticas derivadas del método de Bielschowski, abrigamos todavía algunas dudas. Por ejemplo: en los nidos de diminutos satélites de las pirámides cerebrales y de la corteza cerebelosa (conejo), no hemos tenido la fortuna de sorprender expansiones, aun empleando reiteradamente la reciente modificación introducida por de Del Río en su proceder del carbonato de plata. ¿Es que existen y la plata no los revela, o es que se trata de un tipo citológico especial absolutamente desprovisto de ellos? Sólo ulteriores investigaciones podrán disipar estas dudas y resolver definitivamente el problema del origen y morfología de todos los elementos no nerviosos refractarios al oro-sublimado y al método de Golgi.

FIBRAS NERVIOSAS AMEDULADAS Y MEDULADAS

Como ya hemos expuesto anteriormente, las fibras nerviosas representan mera continuación de la expansión de Deiters o cilindro-eje de las células de los centros.

Llámanse *nervios* o *cordones nerviosos* los órganos extra-centrales, contruídos por la asociación de las expansiones nerviosas que llevan un mismo camino. La asociación intracentral

(cerebro, médula) de dichos cilindro-ejes, engendra la sustancia blanca del eje encéfalo-raquídeo.

Dividense los tubos o fibras nerviosas en dos variedades: *fibras medulares* o de los nervios cerebro-raquídeos; *fibras amedulares*, de Remak o del gran simpático. Las primeras han tomado el apelativo de medulares, por ofrecer una cubierta de mielina, especie de barniz grasiento, aislador de la corriente nerviosa, y las de Remak o amedulares designanse así por carecer de dicha envoltura.

Las fibras de Remak son la continuación de los cilindro-ejes de las células de los ganglios del gran simpático (fig. 286), y se encuentran especialmente en los nervios nacidos de este sistema ganglionar; mientras las fibras medulares representan, o la expansión periférica de un corpúsculo sensitivo yacente en los ganglios raquídeos, o el cilindro-eje de una célula motriz de la médula o encéfalo, y residen en los nervios o pares encéfalo-raquídeos.



Fig. 286.—Fibras de Remak disociadas de un nervio simpático.
a, núcleo.

Fibras amedulares. — Cuando se disocia un nervio emergido de un ganglio simpático, se reconocen unas fibras pálidas, cilíndricas, de 3 a 5 μ . de espesor, de contorno neto y exento de membrana aparente. De trecho en trecho presentan estas fibras ciertos núcleos elipsoides, de 8 a 10 μ . de largo por 3 a 5 μ . de grueso, los cuales se superponen estrechamente a las mismas; el protoplasma que los rodea es escaso, granuloso, se acumula algo en los polos nucleares y se prolonga bajo la forma de fina membrana, que recubre una buena parte del cilindro-eje. Ignó-

rarse si este forro protoplásmico es continuo o discontinuo, pues no se aprecian bien los límites de cada territorio celular (fig. 286, a). Mediante el método del urano-formol, según mostramos en la figura 288, a, el protoplasma polar de los núcleos exhibe aparato de Golgi rudimentario. Tocante a la

fibra nerviosa propiamente dicha, o axon, exhibe un aspecto pálido y ligeramente estriado a lo largo; su contorno está bien deslindado del forro protoplásmico, como lo prueba la circunstancia de que el método de Golgi tiñe la fibra en negro, dejando absolutamente incoloro el núcleo y su expansión de protoplasma.

Las fibras ameduladas se reúnen en hacesillos longitudinales para formar los nervios de la vida orgánica; entre ellas yace un cemento de unión, así como las expansiones de numerosas células neuróglícas.

En la figura 287, *B*, aparecen estos hacesillos cortados de través con los tabiques intercalares conectivos y el neurilema.

Nageotte, en estos últimos años (1916 a 1918), ha descrito un *syncytio* de células voluminosas, dentro de cuyo protoplasma quedarían reservados túneles o huecos tubulares para alojar a un grupo de fibras de Remak. Este supuesto, en desacuerdo con la opinión de muchos autores, nos parece muy aventurado. En nuestros preparados, al menos, toda fibra de Remak aparece envuelta individualmente por una célula especial, dotada de un núcleo alargado. Si los núcleos se presentan con rareza en los cortes transversales, ello depende de que en cada fibra éstos yacen muy apartados y son relativamente escasos (fig. 287, *a*).

Fibras meduladas. — Son verdaderos tubos, de composición bastante compleja, que se distinguen fácilmente al microscopio por la obscuridad de sus bordes y presencia de un doble contorno. Estos tubos son cilíndricos y de un diámetro oscilante entre 6 y 10 μ . Como ha demostrado Ranvier, de trecho en trecho, es decir, a distancias variables entre $\frac{1}{5}$ a 1 milímetro, el tubo nervioso exhibe ciertos cuellos o estrecheces (*estrangulaciones* de Ranvier), a cuyo nivel la mielina queda interrumpida, observándose en su lugar un disco transversal de cemento. Este disco se tiñe en negro por el nitrato de plata (figura 292, *b*), y destaca en claro en los tubos nerviosos ennegrecidos por el ácido ósmico (fig. 292, *a*).

Llámase *segmento interanular* el intervalo que existe entre dos estranguladores. De fuera a dentro, los tubos nerviosos tienen que estudiar: la *membrana de Schwann*, la *célula de Schwann*, la *mielina*, la *vaina de Mauthner*, y el *cilindro-eje*.

a) *Membrana de Schwann*. — Es una cubierta hialina, elástica, que rodea el tubo nervioso, moldeándose exactamente a la mielina. Al nivel de las estrangulaciones recibe la inserción de los discos de cemento, se continúa por fuera de éstos para pasar a otro segmento interanular.

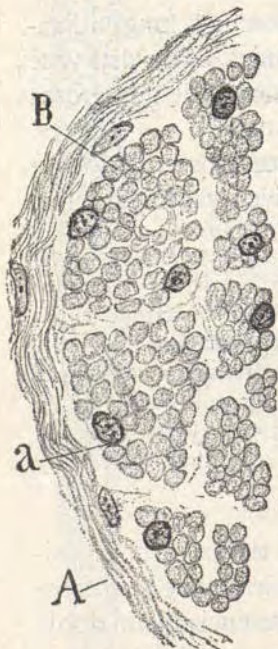


Fig. 287. — Corte transversal de un nervio simpático. A, neurilema; B, fascículo nervioso amedulado.

b) *Célula de Schwann*. — Cada segmento interanular posee un solo núcleo alargado, adherido exteriormente a la membrana de Schwann, y emplazado por dentro en una foseta ofrecida por un segmento de mielina (fig. 292, *f, g*). En torno del núcleo se ve un acúmulo de protoplasma extendido por debajo de la vaina de Schwann. Para Ranvier, este protoplasma envuelve los segmentos de mielina, constituyendo un forro para todos los órganos integrantes de cada segmento interanular. Las investigaciones modernas de Nemilof (1908 y 1911), Nageotte (1910) y nosotros (1911) han confirmado en principio este pensamiento del sabio francés, añadiendo interesantes detalles. Coloreado por nitrato de plata (una fórmula especial), el citado protoplasma aparece constituyendo una elegante malla de trabéculas aplanadas, entre las que se distinguen: *bandas anchas longitudinales* no rigurosamente paralelas, a veces bifurcadas, y provistas de bordes festoneados (fig. 289, *t*), y *trabéculas finas transversales*, nacidas en ángulo recto e insertas a guisa de peldaños de escalera, en las citadas bandas longitudinales. Al nivel de las cisuras de Lantermann, conforme Nemilof y Nageotte han descrito, destacan recias trabéculas circulares de sección triangular (fig. 289, *a*). Este cerco no penetra, sin embargo, como dice Nemilof, en el espesor de la cisura. Ancha placa de protoplasma granuloso, punto de con-

vergencia de las bandas longitudinales, forma la región perinuclear (fig. 289, A). En fin, cerca del disco de soldadura las trabéculas se anastomosan, fundiéndose y continuándose en fondo de dedal (fig. 289, D, C).

Aparato endocelular de Golgi. — Señalado primeramente por nosotros (1912), no falta en ningún tubo nervioso. Conforme mostramos en la figura 290, b, reside en torno del núcleo, precisamente en el espesor del macizo protoplásmico donde convergen las bandas longitudinales, y afecta la forma de placa reticulada, compuesta de grumos y cordones varicosos, en gran parte longitudinales. Hay núcleos provistos de dos alas reticuladas contrapuestas (fig. 290, B y C); pero los hay también cuyo aparato de Golgi se extiende casi exclusivamente por un lado (A).

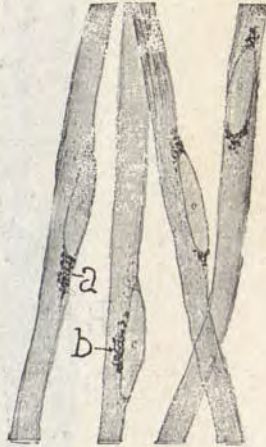


Fig. 288. — Aparato de Golgi de las fibras de Remak. a, cordones situados en un polo; b, cordones situados lateralmente.

Aparato de sostén. — Formado por un esqueleto de fibras gruesas, situado en el espesor de las trabéculas de la célula de Schwann, fué entrevisto por Sala (1900), Nemiloff y nosotros (1912); pero sólo M. Sánchez (1916) lo ha observado completamente en los peces, donde lo ha impregnado por el proceder del formol-urano. Descubre este autor en este esqueleto: un sistema de anillos que corresponderían a los de Segall de los mamíferos; una urdimbre compuesta de trabéculas, de preferencia longitudinales, que juntan entre sí dichos anillos y que penetran, a veces ramificándose complicadamente, hasta la vaina de Mauthner (*plexo periaxónico* notado por Sala), y, en fin, ciertos glomérulos o conglomerados de hilos, que recuerdan algo la forma de nidos de golondrina. Este aparato de sostén, según M. Sánchez, se continúa al través de las estrangulaciones de Ranvier con el de los vecinos segmentos interanulares. Es muy posible que el aparato de Rezzonico constituya una dependencia del citado esqueleto.

c) *Mielina.* — Es una materia oleaginosa, sumamente refringente, dispuesta en espesa cubierta en torno del cilindro-eje. En los tubos nerviosos vivos, la capa de mielina es homo-

génea y de bordes correctos; mas después de la muerte, esta materia se coagula, afectando la forma de grumos irregulares

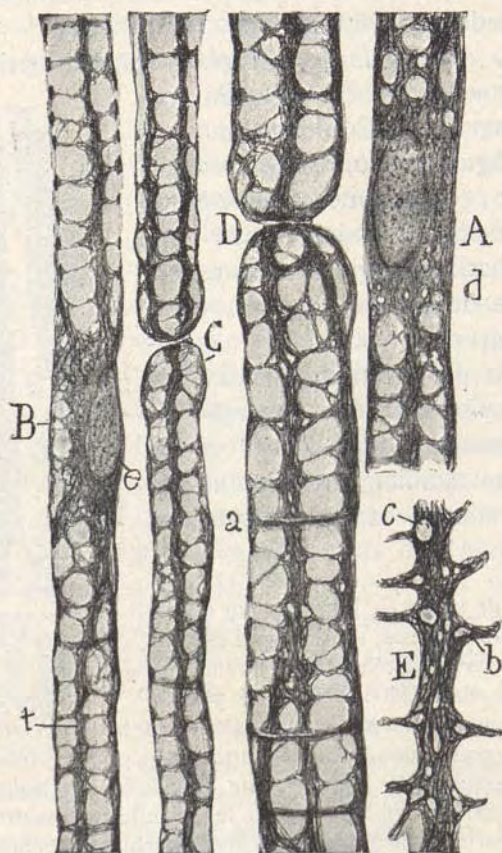


Fig. 289. — Tubos disociados del nervio ciático (gato adulto). Impregnación argéntica. *A* y *B*, región protoplásmica vecina del núcleo; *D*, tubo grueso al nivel de una estrangulación; *C*, tubo fino; *E*, trabécula longitudinal notablemente aumentada; *a*, aros al nivel de las cisuras de Lantermann; *b*, vacuolas en el arranque de los filamentos transversales del velo tubular; *c*, gran vacuola; *e*, núcleo; *t*, trabécula longitudinal.

(anillos, hilos, redes, etc.), que prestan al tubo nervioso aspecto tortuoso y moniliforme.

El alcohol y el éter, disolviendo la substancia grasa, dejan en la mielina un armazón reticulado resistente a los reactivos

y a la digestión artificial, que algunos autores califican de *armazón de neurokeratina*. Verosimilmente, la disposición reticulada es un efecto de los reactivos.

La mielina ofrece dos clases de interrupciones: interrupciones grandes, transversales, que corresponden a los discos o

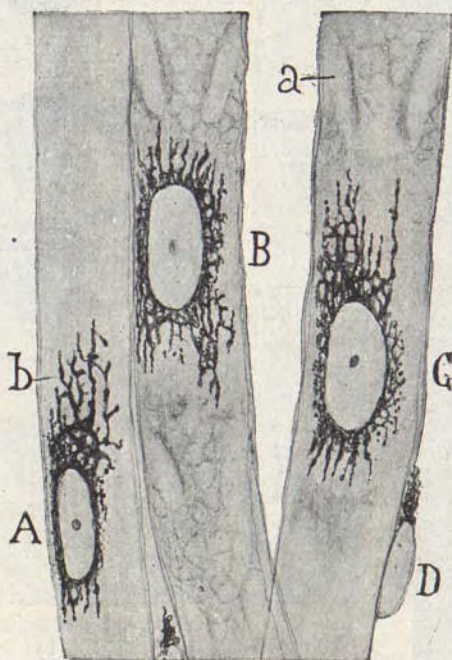


Fig. 290. — Tubos nerviosos del conejo de tres meses. A, B, C, aparatos reticulares de Golgi; a, cisuras de Lantermann; b, cordones del aparato endocelular; D, célula conectiva intersticial, con retículo endocelular polar.

placas de cemento (fig. 292, a), y discontinuidades finas, oblicuas, muy numerosas, que han sido designadas *cisuras de Schmidt* o de Lantermann (fig. 292).

Las *cisuras* de Lantermann son circulares y fragmentan la mielina de cada segmento interanular en una serie de cilindroconos superpuestos e imbricados. La materia de estas estrías es clara en las preparaciones tratadas por el ácido ósmico; pero en ciertas condiciones, se tiñe en negro por el nitrato de plata,

por lo que algunos autores (Koch, Schiefferdecker, etc.) la consideran como un cemento de unión permeable a los líquidos nutritivos, y análogo al de los discos transversales. En el espe-

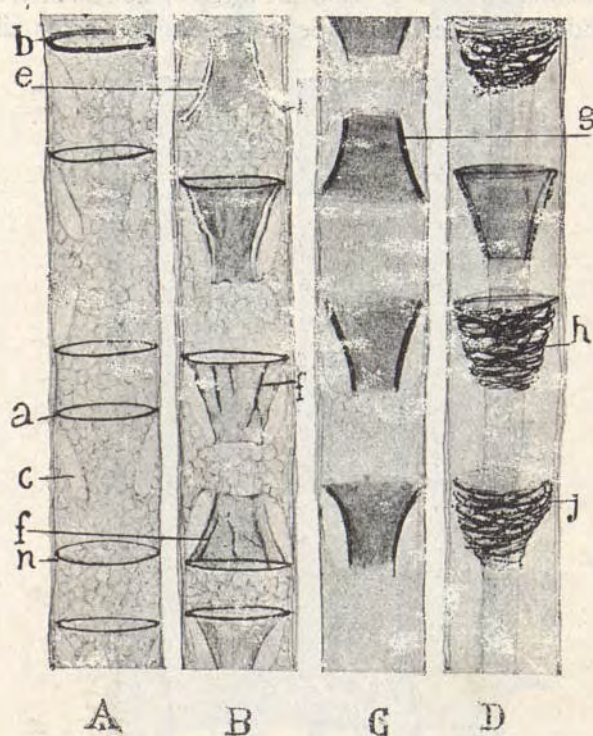


Fig. 291. — Diversos efectos de coloración provocados en los tubos nerviosos por la reducción argéntica en preparaciones fijadas en el formol-urano, A, reacción común mostrando los anillos exclusivamente; a, anillos situados enfrente de las cisuras de Lantermann; b, anillos gruesos; c, cisura de Lantermann; n, anillo alejado de las estrangulaciones; B, reacción menos frecuente, en que los anillos se tiñen en negro y las membranas de las cisuras en amarillo o pardo claro; i, el anillo en sección óptica; e, membrana del infundíbulo; f, tiras oscuras que parecen reforzar la membrana; C, tubos en que sólo se ha coloreado la membrana de las cisuras; g, j, h, infundíbulos exclusivamente impregnados; D, tubos que presentan con más o menos claridad el aparato de Rezzonico. (El nervio provenía del gato adulto.)

tor de este cemento residiría, según Golgi y Rezzonico (figura 291, h), un aparato infundibuliforme, constituido por un hilo elástico, espiroideo. Gedoelst, en cambio, niega la existencia de esta espira, y admite unos puentes verticales que, pasando a

través de la cisura, pondrían en comunicación ciertas redes que, según este autor, constituirían la trama de mielina. Tales puentes y otras disposiciones descritas por ciertos autores nos parecen productos artificiales, debidos a la acción de los reactivos indurantes. En los preparados en que las materias grasas de la mielina han sido disueltas, las cisuras de Lantermann se presentan como embudos granulosos colorables por la hematoxilina (fig. 293, *g*).

Los estudios de Nageotte (1910), en gran parte confirmados por nosotros (1912), revelan que el aparato de Rezzonico consta, no de un hilo espiral, sino de un plexo de filamentos anastomosados, en gran parte transversales (fig. 291, *J*).

Por lo demás, un análisis penetrante de las cisuras de Lantermann revela en ellas textura bastante compleja (fig. 291). En nuestro sentir, este aparato contiene: 1.º, un anillo elástico coloreable en ciertas condiciones por el nitrato de plata (según notaron hace tiempo Schiefferdecker y Segall), anillo residente en el punto de unión de la cisura con el protoplasma de Schwann (fig. 291, *a*); 2.º, cierta ganga o cemento coloreable en pardo claro por algunas fórmulas de impregnación argéntica, dentro del cual reside el anillo citado y aparato de Rezzonico (fig. 294, *a*); 3.º, el sistema espiral de este autor, constituido, según dejamos dicho, por una red de hebras, en gran parte transversales (fig. 291, *h*).



Fig. 292. — Dos tubos nerviosos medulados, uno teñido por el ácido ósmico y otro (el de la derecha) impregnado por el nitrato de plata. *a*, estrangulación; *b*, disco de soldadura ennegrecido por el nitrato argéntico; *d*, axon; *f*, *g*, núcleos; *e*, segmento cilindro-cónico.

Como mostramos en la figura 294, *g*, los anillos de Segall encuéntrase también en parajes del tubo ajenos a los infundíbulo. Esto refuta la opinión de aquellos autores, para quienes los anillos representarían simplemente el contorno periférico del cemento de las citadas cisuras (figuras 294, *c*, y 291, *n*).

d) Vaina de Mauthner. — En torno del cilindro-eje y debajo de la mielina existe una capa de líquido transparente, en el cual los reactivos producen precipitaciones proteicas. Este

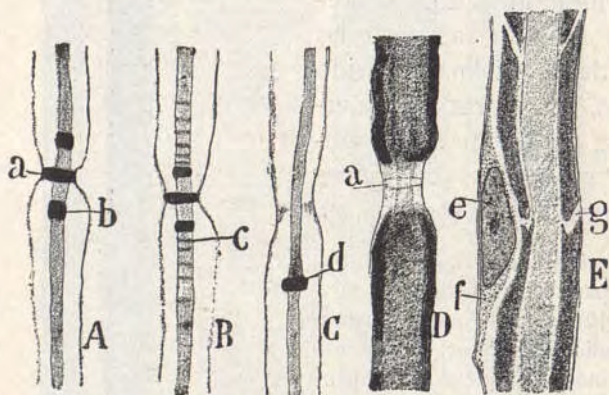


Fig. 293. — Detalles de los tubos nerviosos medulados. A, B, C, tubos tratados por el nitrato de plata; D, E, tubos coloreados por el ácido ósmico; a, disco de cemento; b, c, estrias de Frommann; e, núcleo; g, cisura de Lantermann.

líquido representa un plasma de nutrición del cilindro-eje y se comunica con el exterior de un modo indirecto a través de las cisuras de Lantermann y de los discos transversales (fig. 296, *d*).

e) Cilindro-eje. — Así se designa la expansión celular nerviosa que ocupa el centro del tubo medular y sirve como de hilo de collar para los segmentos interanulares. Su forma es cilíndrica y uniforme; su superficie es lisa y su consistencia semiblanda, como lo prueban las deformaciones que dicha fibra sufre tras la menor presión o estiramiento. Al nivel de las estrangulaciones de Ranvier, el cilindro-eje atraviesa por el centro del disco transversal de cemento, disco cuyo objeto parece ser el mantener la posición axial de la fibra y aislarla de la membrana de cubierta (fig. 295, *b*).

En estado fresco, el cilindro-eje aparece pálido, finamente granuloso y con estriaciones longitudinales que indican una textura fibrilar. El nitrato de plata lo tiñe en negro o moreno, pero no de un modo uniforme, sino en bandas alternadas con

espacios claros. Estas bandas negras, llamadas *estrias de Fromann*, no preexisten en el tubo nervioso fresco; así que pudiera suceder que se tratara, como imaginan algunos, de meros depósitos argéntico-orgánicos, motivados por la acción coagulante y alterante del reactivo (fig. 293, c). De ordinario, una de las estrias o depósitos de Fromann es más espesa y oscura que las otras (fig. 293, b).

Brazaletes de Nageotte. — A favor de un método especial (1910 a 1911), Nageotte observó cerca de las estrangulaciones y rodeando estrechamente al axon, unos

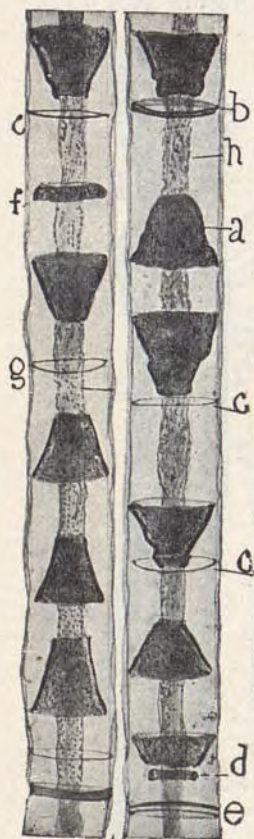


Fig. 294. — Tubos nerviosos del conejo adulto impregnados por la plata, previa fijación en una solución de formol piridina-manganeso. *a*, membrana del infundíbulo energicamente teñida; *b*, cinta anular; *d*, una cinta situada profundamente; *e*, doble anillo independiente; *c*, *g*, anillos libres situados fuera de las estrangulaciones; *h*, axon; *f*, banda infundibular estrecha.

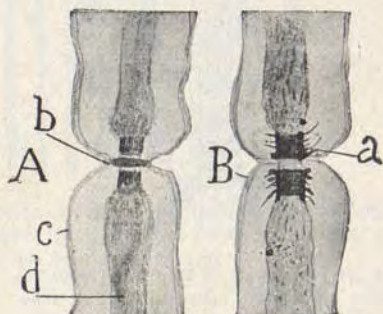


Fig. 295. — Estrangulación de los tubos nerviosos. *A*, impregnación metálica común en soluciones argénticas diluidas y obrando poco tiempo; *B*, impregnación por reducción en tubos fijados en la mezcla formol-piridina-manganeso; *a*, brazaletes espinosos de Nageotte; *b*, disco de Ranvier; *d*, axon; *c*, membrana de Schwann.

aros envolventes de la cutícula pariaxónica, de los cuales parten hacia fuera ciertas crestas paralelas que parecen servir de punto de inserción a las hojuelas de mielina. Merced a cierta fórmula de nitratación argéntica, nosotros hemos confirmado este hallazgo, de que presentamos copia en la figura 295, *a* (1).

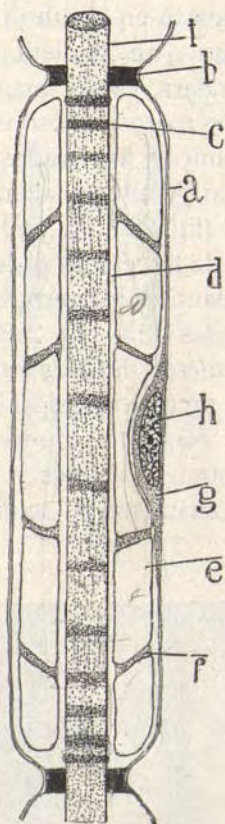


Fig. 296. — Esquema de un tubo nervioso medulado. *a*, vaina de Schwann; *b*, disco transversal; *c*, estria de Frommann; *d*, vaina de Mauthner; *e*, cilintros-conos de mielina; *f*, cisuras de Lantermann; *h*, núcleo; *g*, protoplasma que envuelve el núcleo; *i*, cilindro-eje.



Fig. 297. — Tubo nervioso de gato adulto. Impregnación argéntica tras la fijación en piridina-formol. *A*, haces peritubulares; *B*, región de la estrangulación.

(1) Estos brazaletes o disposiciones algo parecidas, fueron ya observados por nosotros en las fibras centrales del cerebro y médula, teñidas por el azul de metileno, hace muchos años. Véase *Revista trimestral micrográfica*, tomo I, 1896.

Coloreado por los métodos de Bethe, Simarro, Bielschowsky y nuestro, el axon muéstrase formado por un haz de neurofibrillas sumamente próximas, según se expuso más atrás. Entre ellas reside una substancia finamente granulosa, que no

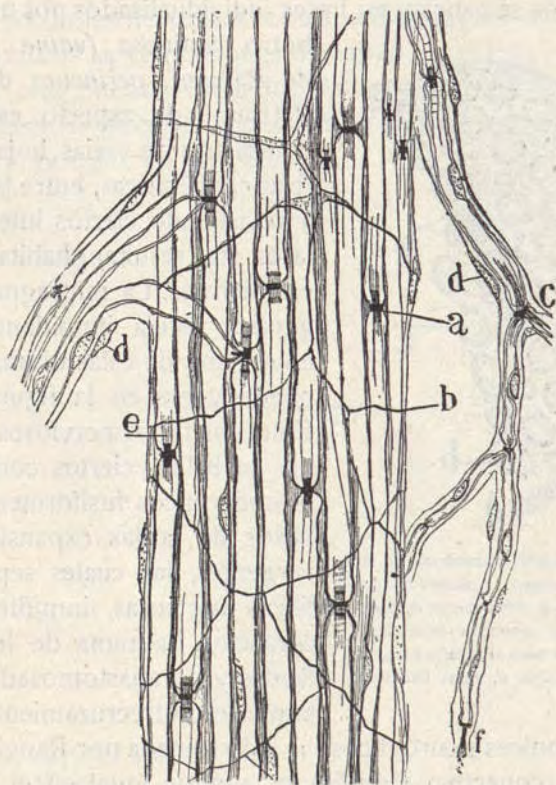


Fig. 298. — Nervio de rana teñido por el nitrato de plata. *a*, disco de soldadura y estrangulación; *b*, líneas de endotelio que envuelve el haz nervioso; *e*, cilindro-eje coloreado por el nitrato de plata; *c*, división de un tubo nervioso.

atrae los reactivos colorantes, llamada *neuroplasma*. En torno del cilindro-eje aparece fina película hialina, continuación de la membrana fundamental de la neurona. Sobre sí las neurofibrillas del axon son independientes durante su trayecto dentro del tubo o se anastomosan entre sí mediante tenues trabéculas

oblicuos o transversales (Retzius, Marinesco, etc.), nada definitivo cabe afirmar. Recordaremos solamente que en los aparatos terminales cada rama nerviosa contiene realmente una red neurofibrillar interior.

Asociación de las fibras en los nervios. — Los tubos medulados se asocian en haces individualizados por una mem-

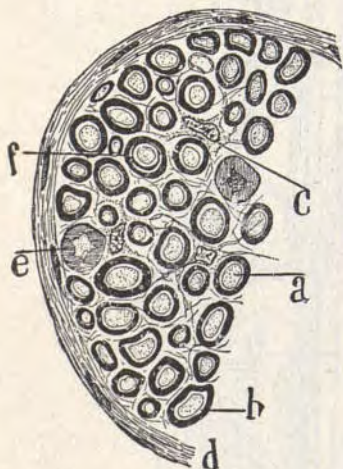


Fig. 299. — Corte transversal de un fascículo nervioso. Coloración con ácido ósmico. *a*, cilindro-eje; *b*, mielina; *c*, célula conectiva intersticial; *e*, corte de un tubo al nivel o cerca de la estrangulación; *d*, vaina laminosa.

brana laminosa (*vaina laminosa* de Ranvier, *perineuro* de Key y Retzius), de aspecto estriado y compuesta de varias hojas conectivas concéntricas, entre las cuales, y revistiendo ciertos huecos anulares que resultan, habitan células endoteliales. La impregnación argéntica revela límpidamente los contornos de estas últimas, como puede verse en la figura 298, *b*. Entre los tubos nerviosos de cada haz se hallan ciertos corpúsculos mesodérmicos fusiformes y provistos de largas expansiones divergentes, las cuales separan las fibras nerviosas, impidiendo los contactos. La trama de hilos brillantes y no anastomosados resultante del entrecruzamiento de dichos apéndices neuróglícos, ha sido tomada por Ranvier como un tejido conectivo modificado, aunque igual en el fondo a la variedad laxa (*tejido conectivo intrafascicular* de Ranvier (fig. 299, *c*).

Tejido conectivo peritubular o vaina de Retzius. — Los preparados del nitrato de plata reducido revelan que, además de dichas células conectivas, existen entre los tubos nerviosos finas hebras y hacecillos colágenos comparables a los del tejido citógeno. Estos hacecillos, en gran parte paralelos a los tubos, se aplican a veces tan íntimamente a la membrana de Schwann que forman en torno de ésta una especie de cubierta

La impregnación argéntica revela límpidamente los contornos de estas últimas, como puede verse en la figura 298, *b*. Entre los tubos nerviosos de cada haz se hallan ciertos corpúsculos mesodérmicos fusiformes y provistos de largas expansiones divergentes, las cuales separan las fibras nerviosas, impidiendo los contactos. La trama de hilos brillantes y no anastomosados resultante del entrecruzamiento de dichos apéndices neuróglícos, ha sido tomada por Ranvier como un tejido conectivo modificado, aunque igual en el fondo a la variedad laxa (*tejido conectivo intrafascicular* de Ranvier (fig. 299, *c*).

fibrilar de refuerzo (*membrana* de Retzius). Semejante disposición aparece claramente en la figura 297, A, donde se advierte que la citada capa colágena se deprime al nivel de las estrangulaciones, marcando perfectamente su posición (B).

Los nervios pequeños están constituídos exclusivamente por un haz, y aparecen rodeados por la vaina laminosa citada; pero los cordones nerviosos robustos constan de varios haces, entre los cuales se ven tabiques de tejido conectivo laxo, ricos en vasos sanguíneos. Alrededor del nervio existe una membrana conectivo-vascular, continuada con la *pia-mater*, y conocida con el nombre de *neurilema*.

CAPÍTULO XI

TERMINACIONES NERVIOSAS

El origen de las fibras nerviosas ha quedado apuntado anteriormente; es siempre el cilindro-eje o expansión de Deiters de un corpúsculo nervioso. La terminación es también substancialmente idéntica en todas ellas, verificándose a favor de

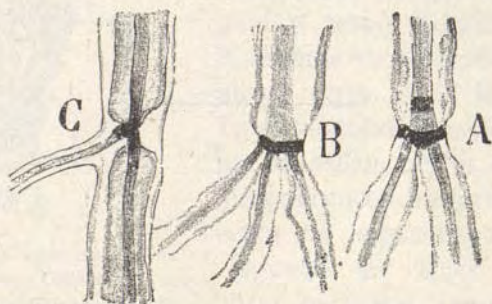


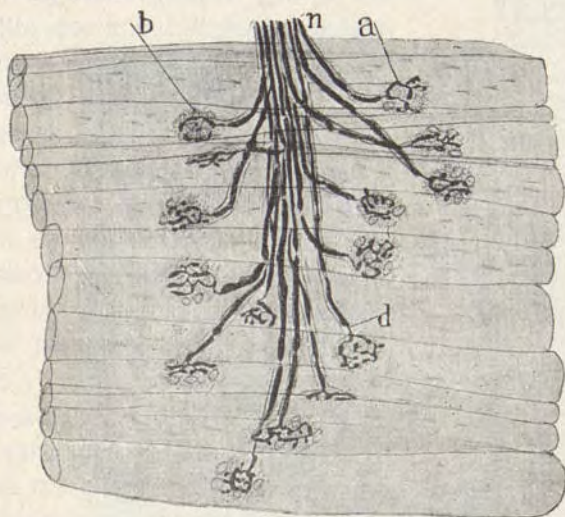
Fig. 300.—Detalles de la división de los tubos nerviosos medulados. A, división en Y; B, génesis de tres fibras; C, brote colateral de una rama. (Impregnación directa por el nitrato de plata.)

ramificaciones libres, varicosas, exentas de mielina y superpuestas, ora a células glandulares, ora a corpúsculos epiteliales, bien a otros elementos ganglionares. En unos casos, la ramificación nerviosa aparece desnuda, poniéndose directamente en contacto con los elementos (células glandulares, epiteliales de la piel); en otros las ramillas terminales están guarnecidas y protegidas por aparatos especiales (corpúsculos de Krause, Pacini, etc.).

Marcha de los tubos nerviosos hacia su terminación. — En general, toda fibra nerviosa medulada próxima a su termina-

ción se aparta del haz de que formaba parte, llevándose consigo una hojuela homogénea, continuada con la vaina laminosa y destinada a reforzar la membrana de Schwann.

Esta fina cubierta adventicia yace a distancia de la vaina de Schwann, y ha sido designada por Ranvier *vaina de Henle*. En su espesor contiene, de trecho en trecho, unos núcleos alargados (fig. 298, *d*).



301. — Placas motrices de un trozo de músculo intercostal de conejo. *a*, arborización termina del cilindro-eje; *b*, núcleos y materia granulosa; *d*, punto en que cesa el forro de mielina *n*, nerviecito. (Método de Loewit.)

El tubo nervioso propiamente dicho se ramifica repetidamente, engendrando, ya por división en Y, ya en T, ramas hijas sucesivamente más delgadas; tales divisiones se verifican constantemente al nivel de las estrangulaciones, advirtiéndose que los segmentos interanulares de los nuevos tubos son cada vez más cortos y estrechos (fig. 300). Al abordar la fibra, el corpúsculo o el aparato terminal a que va destinada pierde primeramente la vaina de Henle, que se continúa con la cubierta del corpúsculo inervado, abandona después la corteza de mielina y la cubierta de Schwann, y reducida a un cilindro-eje desnudo

do se dilata en una ramificación varicosa terminal o se prolonga en un simple tallo acabado por un engrosamiento. En ocasiones, la rama final desnuda posee un carácter de colateral, y brota, como se ve en la figura 305, C, al nivel de una estrangulación.

Las terminaciones nerviosas se dividen en cuatro clases: *motrices, sensitivas, glandulares y sensoriales*.



Fig. 302. — Placa muscular del conejo. Neurofibrillas de las ramas terminales. (Método del nitrato de plata; según Tello.)

TERMINACIONES MOTRICES

Tienen lugar, ora en los músculos de la vida de relación, ora en los de la vida orgánica. A los primeros van a parar los tubos nerviosos nacidos en las células de las astas anteriores de la médula; en los segundos acaban fibras procedentes de las células del gran simpático.

a) *Terminaciones en las fibras musculares estriadas.* — En el punto donde se ramifica la fibra nerviosa, el haz muscular exhibe una placa redondeada, granulosa y sembrada de núcleos

(*placa motriz, colina de Doyère*). Esta placa representa un resto de protoplasma muscular, todavía no convertido en material estriado, y sus conexiones son, por fuera, el sarcolema, y por dentro, la substancia estriada. El tubo nervioso aborda oblicua o perpendicularmente la placa motriz, sobre la cual en algunos casos se bifurca, engendrando dos nuevas ramitas medulares; la rama o ramitas terminales pierden la mielina y vaina de Schwann, penetran en el espesor de la placa y se resuelven en una arborización corta, de ramos gruesos, varicosos, a menudo divididos en ángulo recto y costeados por núcleos especiales (*núcleos de la arborización*). Los cabos de tales ramúsculos se muestran a menudo engrosados y no traspasan nunca los límites de la materia granulosa ni tocan jamás la substancia estriada (fig. 301, *a*).

En los mamíferos, la placa, así como la arborización nerviosa terminal, son muy pequeñas; en los reptiles, ambas alcanzan mayor tamaño, presentando la substancia granulosa un contorno desigual y como escotado; finalmente, en los batracios falta por completo la materia granulosa y la arborización nerviosa terminal se extiende en larguísimas ramitas más o menos paralelas a la fibra muscular (1). Sobre estos tallos pálidos finales yace algún núcleo prolongado (fig. 303, *c*).

Nuestras investigaciones con el nue-



Fig. 303. — Arborización nerviosa terminal de una fibra muscular de rana. Coloración por el cloruro de oro. *a*, tallo nervioso medulado; *b*, fibras terminales sin mielina; *c*, núcleo de la arborización.

(1) Cajal: «Observaciones microscópicas sobre las terminaciones nerviosas en los músculos voluntarios.» Zaragoza, 1881.

vo método de coloración del nitrato de plata enseñaron que cada ramo terminal de la arborización motriz contiene un haz de neurofibrillas, el cual se deshilacha o afloja al nivel de las varicosidades y se termina por redes y asas intraprotoplásmicas, según se echa de ver en la figura 302. Parecida composición ha encontrado asimismo Tello (1905) en las placas

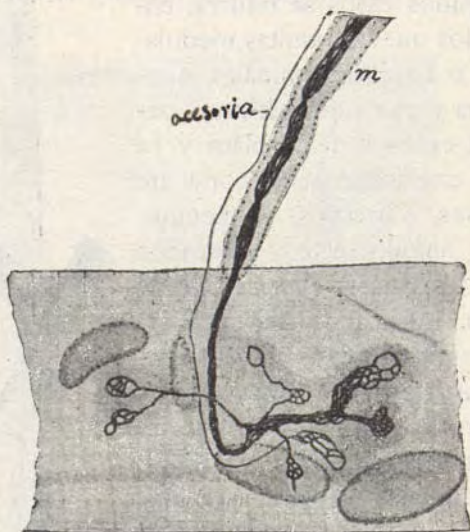


Fig. 304. — Arborización terminal en las placas motrices del lagarto, formada por fibra principal y fibra accesoria. (Según Boeke.)

motrices y arborizaciones sensitivas de diversas especies de mamíferos, y Boeke (1910), Botezat (1910), Aoyagi (1912), que han empleado para sus pesquisas el método de Bielschowsky. Adviértese que las ramas más finas acaban en asas o anillos (Tello), mientras que las gruesas terminan mediante bulbos reticulados. Un neuroplasma abundante, aparta las neurofibrillas de las varicosidades y cabos finales prestándoles singular perceptibilidad.

Los trabajos modernos acerca de la placa muscular, añaden poco a la concepción clásica de esta terminación nerviosa. Mencionemos solamente dos detalles: las *ramas ultraterminales* de Ruffini y la *fibra accesoria* de Perroncito y Boeke.

Fibras ultraterminales. — Con el nombre de fibras o *ramas ultraterminales* ha descrito Ruffini en los músculos del hombre una ramilla que, naciendo de la arborización de una placa motriz, dirígese a otra fibra muscular vecina, donde acaba por una ramificación rudimentaria. Semejante disposición es real, según comprueban las investigaciones de Perroncito, Cecherelli y Tello; pero resulta harto inconstante y como patológica. Músculos hay donde en cientos de placas no es posible sorprender una sola proyección de este género.

Fibras finas accesorias de la placa motriz. — Según mostramos en la figura 304 tomada de un trabajo de Boeke (1910), la placa motriz ofrece a veces, además de la fibra principal, una fibra accesorio, fina, amedulada, llegada en compañía del tubo grueso y acabada dentro de la misma placa mediante minúscula y rudimentaria arborización (*a*). Por lo común, como ha mostrado Boeke, redúcese a simple tallo terminal varicoso.

La fibra accesorio fina fué primeramente vista por Perroncito (1902 a 1903) en los reptiles, reputándola por sensitiva, sin acertar a descubrir su modo de terminar. Más adelante, Gemelli la confirmó señalando sus ramificaciones en las placas y estimándola como emanación colateral del axon principal; mas solamente Boeke ha dado de ella una descripción completa, confirmada en sus líneas generales por Botezat y Aoyagi (1912), este último en el músculo diafragmático. En fin, para Boeke trátase de un conductor simpático amedulado, destinado a reglar el trofismo de la célula contráctil. Ulteriormente (1913), este autor aporta argumento importante contra la naturaleza motriz de la fibra fina, reconociendo que, cuando se seccionan los nervios de los músculos oculares, la placa principal degenera, conservándose incólume la minúscula arborización accesorio.

Ultimamente (1911-1921), Boeke hace partir de la ramificación neurofibrillar de la placa motriz (fibra principal) un sistema de hebras finísimas anastomosadas que, después de cruzar la materia granulosa de la placa, se continuarían con la substancia estriada. Este encuentro de Boeke, que ni nosotros ni Fañanás hemos logrado reconocer, exige confirmación.

b) Terminación de las fibras nerviosas en los músculos lisos (1). — Las fibras nerviosas destinadas a los músculos lisos son fibras de Remak, nacidas, ya del cordón vertebral simpático, ya de ganglios especiales residentes entre las capas muscu-

(1) La verdadera terminación de las fibrillas nerviosas en los músculos lisos fué primeramente señalada por Arnsteln (1887) en la vejiga de la rana, sirviéndose del método del azul de metileno. Con este mismo método la demostramos nosotros también en el intestino y vejiga de los batracios (1888), y últimamente mediante el de Golgi, en el intestino de los mamíferos. Parecidos resultados a los nuestros han obtenido posteriormente Retzius, Berkle y Müller (véase mi folleto: *Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de los mamíferos*, etc., con 13 grabados. Madrid, 1893.

lares. Desde los trabajos de Klebs y Arnold, confirmados por Lœwit, Frankenhauser, Ranvier, etc., se sabe que todo músculo liso ofrece tres plexos nerviosos: uno, *fundamental* o supra-



Fig. 305. — Corte paralelo a las fibras musculares circulares del intestino del conejillo de Indias. A, B, fascículos que venían del plexo muscular profundo; b, fibra nerviosa terminal; a, últimos ramitos acabados por una varicosidad.

muscular, situado en la superficie del plano muscular, y constituido por gruesos haces de fibras de Remak, entrecruzados en diversos sentidos, y en cuyas nudosidades o cruzamientos yace un acúmulo de células ganglionares simpáticas; otro, *intermediario*, formado de haces más finos, y emplazado entre los paquetes de fibrocélulas; y finalmente, otro, constituido por hebras finas, independientes y ramificadas, que ocupa el cemento de unión de los corpúsculos contráctiles (*plexo intramuscular o interfibrilar*).

Las fibras de este último plexo representan cilindro-ejes libres, los cuales marchan de modo flexuoso por entre las fibrocélulas, se ramifican dos o tres veces en ángulo recto, y sus últimas ramitas, que afectan gran delicadeza y aspecto arrosariado, acaban a favor de extremos nudosos, sobre el protoplasma contráctil (fig. 305, a).

Por lo común, como puede verse en la figura 305, cada fibrilla separada de un hacesillo origina, merced a sus ramificaciones, una extensa arborización cuyas ramas, en gran parte paralelas a los intersticios de las fibrocélulas, pueden tocar un gran número de éstas.

c) *Terminaciones nerviosas en el corazón.* — Se han expuesto muchas opiniones, todas hipotéticas, sobre la manera de terminar las fibras de Remak en las células cardíacas de los mamíferos: quiénes, como Ranvier, admiten que los ramúsculos nerviosos ensartan el eje de la materia contráctil; quiénes, como Krause, señalan la existencia de verdaderas placas motrices, etc.

Nuestras observaciones, ejecutadas primeramente con el método de Ehrlich y después con el de Golgi (1891), resuelven, a nuestro modo de ver, definitivamente este punto, demostrando que las fibrillas de Remak se comportan en el corazón lo mismo que en los músculos lisos. Los hacecillos de fibras nerviosas marchan por entre los paquetes de células, disociándose en unos puntos y volviéndose a juntar en otros, constituyendo así, y a consecuencia de cambios de elementos con haces vecinos, una red de anchas mallas, ocupadas por grupos de fibras contráctiles. Por último, los hilos elementales se hacen independientes, se ramifican muchas veces sin anastomosarse nunca y acaban por tallitos finísimos y fuertemente varicosos. Cada célula muscular puede ponerse en contacto con una o varias ramillas terminales, casi siempre flexuosas y dirigidas en el sentido de los corpúsculos contráctiles. Los cabos terminales aparecen, a menudo, guarnecidos de una variocidad (1). Parecida descripción da Fedèle (1910) con relación al corazón de reptiles y batracios.

TERMINACIONES SENSITIVAS

Estas terminaciones son tantas y más que los órganos sensibles. Las principales son: las sensitivas musculares, las músculotendíneas de Golgi y sus variantes, las terminaciones intraepidérmicas, las por corpúsculos táctiles especiales y las terminaciones de serosas y vasos.

(1) Véanse mis folletos: «Terminaciones nerviosas en el corazón de los reptiles y batracios» (*Gaz. sanit.*, de Barcelona, núm. 12, 1890).

Terminaciones sensitivas musculares o husos de Kühne.—

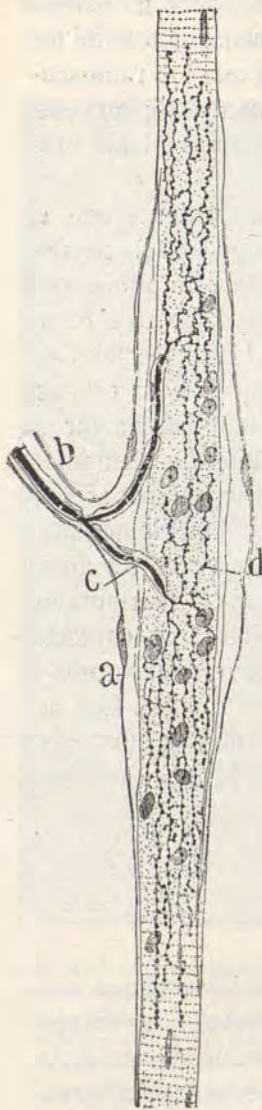


Fig 306. — Terminación sensitiva muscular del pectoral cutáneo de la rana. Método de Ehrlich. *b*, fibra nerviosa medulada; *a*, cápsula; *c*, tubo nervioso hijo; *d*, arborización terminal.

Cuando se examinan las diversas fibras de un músculo estriado, llaman la atención ciertos fascículos primitivos, poco numerosos (dos o tres en el músculo pectoral de la rana), sumamente delgados, y cuya parte central presenta un engrosamiento fusiforme correspondiente a una terminación nerviosa. Estudiando atentamente este engrosamiento se advierten en él tres partes: las cápsulas, las fibras nerviosas y el material granuloso (fig. 306).

Las *cápsulas* (fig. 306, *a*), que habitualmente son dos, consisten en membranas delgadas, tubulares, separadas entre sí por espacios plasmáticos, anchos en el centro del huso, pero que van estrechándose en los extremos de éste, donde aquéllas se juntan y confunden con el sarcolema. La *fibra nerviosa* es muy robusta, y atraviesa las cápsulas, con las que se continúa la vaina de Henle, y una vez sobre el material granuloso aquélla, se divide en dos o más ramas meduladas, que marchan más o menos paralelamente al haz muscular. Perdida ya la mielina y membrana de Schwann, cada rama nerviosa se resuelve en una riquísima arborización fuertemente varicosa y extendida sobre toda la región granulosa del huso: las más finas ramillas acaban mediante una varicosidad.

Finalmente, el *material granuloso*

ocupa todo el espesor del engrosamiento, está sembrado de núcleos y representa un pedazo de fibra muscular, cuyo protoplasma ha conservado sus cualidades embrionarias (fig. 306, *d*).

Los ensayos de coloración que, mediante el azul de metileno, hace tiempo por nosotros practicados en el músculo pectoral cutáneo de la rana, nos permitieron descubrir en dichas fibras musculares otra terminación nerviosa. Esta terminación asemejase mucho a la motriz, y yace en aquel paraje de los husos musculares, donde la materia estriada no está recubierta por las cápsulas ni por la ramificación sensitiva. Por donde resulta que cada huso muscular mantiene conexión con dos fibras: con la *sensitiva*, arborizada en el engrosamiento capsulado supradicho y destinada a conducir al sensorio noticias tocantes al tanto de contracción del músculo; y con la *motriz* o centrífuga, en virtud de la cual el huso muscular será también susceptible de contraerse como los demás haces estriados. Parecidos hechos fueron descritos independientemente de nosotros, en los mamíferos, por Kerschner, Rufini y otros autores. También Tello (1910) confirmó la doble terminación haciendo uso de los métodos neurofibrilares.

Órganos musculotendinosos de Golgi. — En ciertos tendones, y en la vecindad de las fibras musculares, se ven unos cuerpos fusiformes recubiertos de endotelio y enlazados con una arborización nerviosa sensitiva. Estos cuerpos representan en realidad un haz tendinoso especial, el cual, por una de sus extremidades, se continúa con los fascículos comunes del tendón, y por la otra recibe la inser-

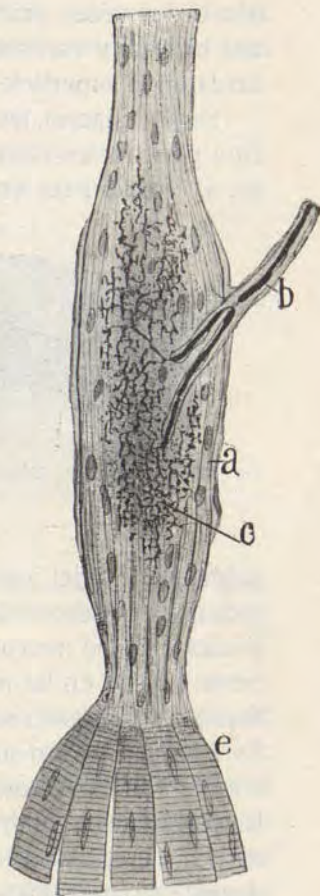


Fig. 397. — Órgano musculotendinoso de Golgi. Coloración por el cloruro de oro.

ción de un grupo de fibras musculares estriadas (fig. 307).

El tubo nervioso aborda, oblicua o perpendicularmente, el cuerpo fibroso susodicho; la vaina de Henle se continúa con la membrana endotelial de éste, y la fibra nerviosa, dicotomizada una o dos veces, acaba por perder la mielina y por engendrar una extensa y varicosa ramificación, completamente libre, y situada en la superficie del huso, por debajo de su cápsula.

Según Ciaccio, las ramillas varicosas y libres de la arborización penetrarían entre los hacecillos fibrosos del huso tendinoso, y constituirían en torno de ellos verdaderas espirales. Fi-



Fig. 308. — Detalles de la arborización en el órgano musculotendíneo de Golgi, según Dogiel.

nalmente, Dogiel, haciendo uso del método del nitrato de plata reducido, ha reconocido en las asas espirales y ensanchamientos finales una red neurofibrillar, comparable a la notada por nosotros y Tello en las placas motrices (fig. 308); Tello ha confirmado esta disposición en las terminaciones tendinosas (1917).

El oficio de tan singulares terminaciones ha sido muy discutido. Nosotros nos inclinamos al parecer de Ciaccio, quien las considera de naturaleza sensitiva, atribuyéndolas la misión de noticiar al sensorio del cuánto de estiramiento del tendón durante la contracción del músculo, haciendo así posible, por acción refleja, la adecuación de la energía de esta contracción a la resistencia de aquél.

Órganos terminales de Ruffini. — En diversos gruesos tabiques del tejido conectivo subcutáneo, y singularmente en los separatorios del panículo adiposo de la planta del pie, encuentra Ruffini unas arborizaciones nerviosas, que recuerdan algo las musculotendíneas de Golgi. Stameni, que las ha confirma-

do, describe en ellas: 1.º, una trama conectiva de sostén, compuesta de haces colágenos y fibroblastos; 2.º, cierta materia granulosa, salpicada de núcleos; 3.º, la arborización nerviosa, bien descrita por Ruffini, dispuesta en foresta o césped de finas, densas y granulosas ramillas (fig. 309). La masa fibrilar o de sostén hállase envuelta en un endotelio continuado con la fibra de Henle del tubo aferente.

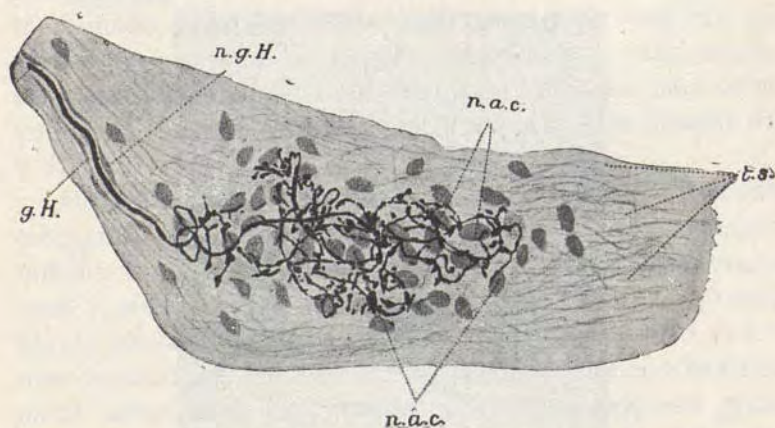


Fig. 309. — Órgano terminal de Ruffini. *t. s.*, tejido conectivo de sostén; *g. H.*, vaina de Henle; *n. a. c.*, núcleos de la arborización. (Según Stameni.)

Terminaciones en las serosas. — Las investigaciones de Dogiel y de sus discípulos Michailow, Smirnow, Schmidt, Ramström, Martinoff (1914), etc., han puesto de manifiesto la existencia en el endocardio, pericardio, pleura, peritoneo parietal, así como en la cubierta interior del árbol vascular, de dos órdenes de terminaciones sensitivas: 1.º, arborizaciones difusas incapsuladas, dispuestas en guirnaldas o céspedes de ramas finas granulosas, y tan apretadas que parecen montones de esférulas intensamente coloreables por el método de Ehrlich. Estas terminaciones *arboriformes*, según la expresión de Dogiel, se aplanan bajo los endotelios, dilatándose en grande extensión; 2.º, ramificaciones, también muy complicadas y densas, pero cuyas frondas aparecen rodeadas de una cápsula

nucleada. Dentro del ramaje adviértense numerosos y complicados glómérulos de ramas nerviosas. Ambas clases de terminaciones parecen continuarse con fibras medulares y depender de los ganglios nerviosos sensitivos.

Terminaciones sensitivas intraepidérmicas. — Este modo de terminación es peculiar de los epitelios pavimentosos estratificados, como el de la córnea, piel, esófago, etc.



Fig. 310. — Terminaciones nerviosas en el epitelio anterior de la córnea. Coloración por el cloruro de oro.

En la córnea es donde mejor pueden estudiarse tales arborizaciones sensitivas, las cuales se coloran muy bien, tanto con el azul de metileno como con el cloruro de oro. Por la periferia de esta membrana penetran varios tubos medulares, los que, perdiendo a poco trecho la mielina y vaina de Schwann, recorren, bajo la forma de fibras pálidas, el espesor de la córnea, constituyendo, al anastomosarse entre sí, una red de anchas mallas, cuyas nudosidades presentan la disposición de pequeños kiasmata (fig. 310). Las fibras constitutivas de este plexo son gruesas, marchan en zigzag, carecen de núcleos y muestran claramente las hebras axiles que las integran, envueltas y li-

gadas por una materia granulosa concretada en gotas, y especialmente ávida del oro y azul de metileno. Designase esta red, que yace entre las láminas conectivas de la córnea, con el nombre de *plexo fundamental*.

Los tallos de este plexo suministran ramitas mucho más delgadas, que atraviesan en escalera las capas corneales y, anastomosándose entre sí por debajo de la basal, forman una red aplanada mucho más rica y tupida que la anterior, que se ha llamado *plexo subbasal*. Las trabéculas de esta red son menos flexuosas que las del plexo fundamental, y encierran en sus nudosidades o pequeños kiasmas, uno o dos núcleos envueltos en cierta cantidad de materia granulosa (figuras 310 y 311, B).

De la red subbasal arrancan fibras sumamente finas y vari-cosas, formadas, al parecer, de uno o dos filamentos axiles primitivos. Estas hebras llevan un curso tortuoso, atraviesan la basal y, entrecruzándose por debajo de los pies de la primera fila de células epiteliales, constituyen un tercer plexo mucho más delicado que los anteriores y exento de núcleos: llámasele *plexo subepitelial*. Las fibrillas constructoras de este plexo, después de raras ramificaciones, recodan bruscamente, marchan verticalmente por entre las células epiteliales, moldeándose a sus contornos, y rematan, ya entre los elementos de las capas profundas, ya en la misma superficie del epitelio, mediante ligeros engrosamientos o a favor de una esférula de materia aurófila (figuras 310 y 311, D).

En el epidermis de Malpigio de la piel hállanse también pa-recidas terminaciones. Gruesas fibras meduladas llegan de lo hondo del dermis, bifurcándose una o dos veces, y, en pleno cuerpo papilar, las ramas resultantes pierden la mielina y se acercan al epidermis. Antes de penetrar en éste, los cilindro-ejes desnudos se ramifican, y los ramúsculos, cuya dirección es vertical, se insinúan entre las células epidérmicas, subdivi-dense una o dos veces, y acaban por series de gránulos o por cabos varicosos situados en las inmediaciones del *stratum granulosum*. En su trayecto intraepidérmico, las fibrillas nerviosas están alojadas en el cemento semilíquido de unión y no

parecen enlazarse con ninguna célula epidérmica (fig. 312, *d*).

Terminaciones parecidas han descrito Retzius en el esófago y mucosas pavimentosas, y van Gehuchten en la piel y mucosas de varios mamíferos.

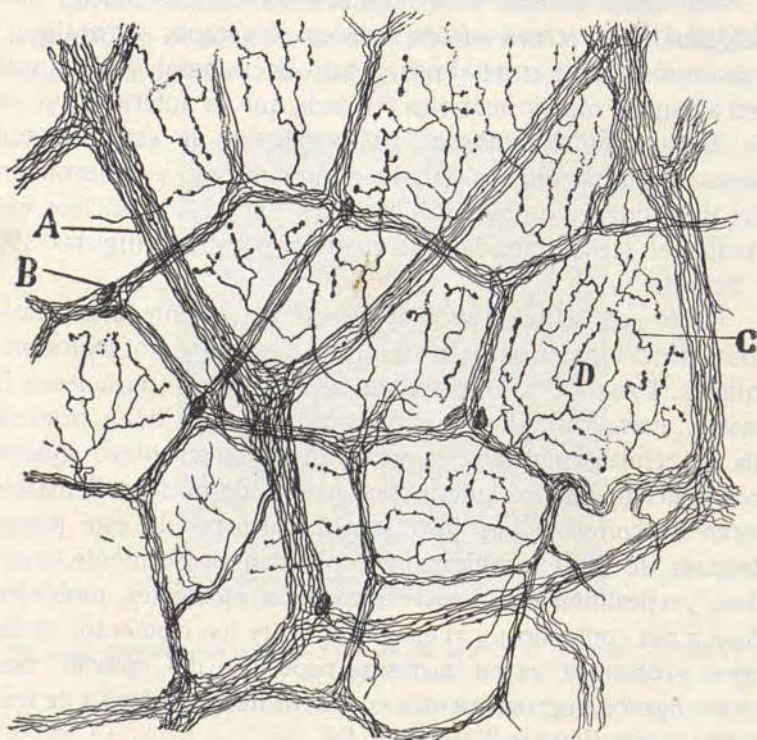


Fig. 311. — Plexos nerviosos de la córnea del conejo, coloreados por el azul de metileno; A, haz del plexo fundamental; B, núcleo del plexo subbasal; C, D, ramas intraepiteliales.

Como una variedad interesante de terminaciones intraepidérmicas libres, podemos considerar las que Ranvier llamó *terminaciones hederiformes*, es decir, las efectuadas mediante dilataciones finales en forma de hoja de hiedra. Descubiertas por Merkel en el hocico del puerco, hállanse también, según demostró Ranvier, en la yema digital del hombre. Prefieren las eminencias interpapilares del cuerpo de Malpigio, dentro

de las cuales generan, como mostramos en la figura 313, *a*, racimos de meniscos dependientes de una sola fibra aferente. Cada menisco terminal yace por debajo de un corpúsculo epiléctico, a cuyo contorno profundo se moldea.

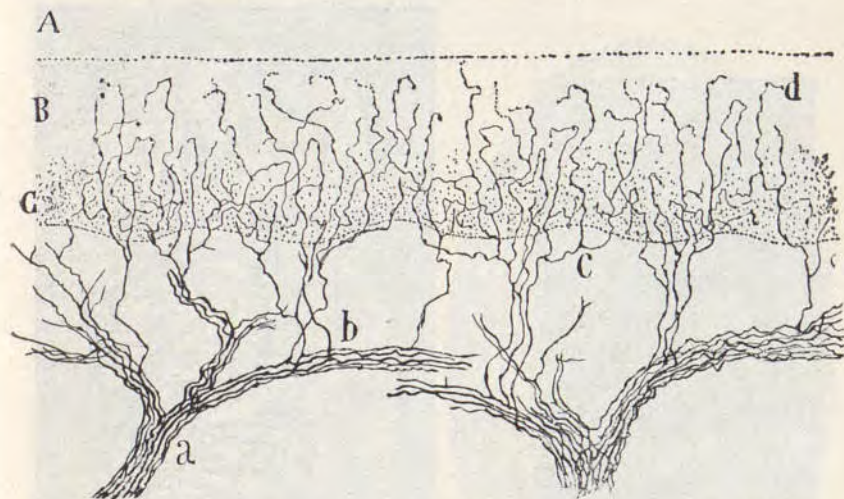


Fig. 312. — Fibras terminales intraepidérmicas de la planta del pie del perro recién nacido. A, epidermis córneo; B, cuerpo de Malpigio; C, granos pigmentarios; a, manojo nervioso; b, bifurcaciones; d, últimas ramillas. (Método de Golgi).

Corpúsculos de Meissner. — Habitan en las papilas de la piel, particularmente en la cara palmar de los dedos, en el dermis labial, mamelón y órganos genitales externos. Estos corpúsculos afectan figura ovoídea, a veces tuberosa y lobulada, y yacen perpendicularmente orientados en la cima de las papilas, casi tocando al epidermis. No todas las papilas de las referidas regiones las contienen, pues existen algunas (papilas vasculares) provistas exclusivamente de asa capilar. El diámetro de los corpúsculos de Meissner es sumamente variable, oscilando entre 30 a 50 μ . de longitud por 20 a 30 de anchura (fig. 314).

Constan estos corpúsculos: de una cápsula fibrosa, gruesa y abundante en núcleos, continuada con la cubierta de Henle de las fibras nerviosas aferentes; de una masa central construída

de células irregulares ordenadas en pilas verticales apretadas e imbricadas, y cuyos núcleos, alargados transversalmente, pres-
tan al todo aspecto groseramente estriado, y de una o varias
fibras medulares que abordan el corpúsculo a diversas alturas,



Fig. 313. — Terminaciones hederiformes en las prolongaciones interpapilares de la piel del dedo de un niño de pocos días. A, fibra aferente; a, meniscos o dilataciones terminales situadas debajo de las células epiteliales. (Método del nitrato de plata reducido.)



Fig. 314. — Corpúsculo de Meissner de una papila digital. Coloración por el nitrato de plata reducido. A, fibra aferente; a, bulbo terminal debajo del epidermis; b, maza final entre las células transversales del corpúsculo.

serpenteando a menudo por encima de la cápsula, y penetrando, perdida ya la mielina, entre las pilas de células, donde forman una rica y complicada arborización. Los ramos terminales son varicosos, caminan transversalmente y acaban por abultamientos lenticulares o simples engrosamientos irregulares, situados en los espacios cóncavos que separan los corpúsculos centrales (fig. 314, b).

Corpúsculos de Pacini. — Son unos cuerpos oblongos, de 1 a 2 mm. de longitud, que se encuentran en las regiones profundas del dermis de la piel, particularmente en la del pulpejo de los dedos; hállase los también, aunque en escaso número, en los nervios articulares, en los distribuidos por los huesos, ligamentos interóseos de la pierna y antebrazo, órganos genitales externos, perimysio interno de los músculos, etcétera. Se componen los corpúsculos de Pacini: de una masa central granulosa, prolongada según el eje mayor del corpúsculo y redondeada por sus extremos, y de una serie de cápsulas concéntricas, verdaderas láminas de tejido conjuntivo, separadas por espacios linfáticos y revestidas en su cara interior por una capa de células endoteliales, cuyos núcleos aplanados forman prominencia hacia adentro. Las cápsulas próximas a la materia granulosa central son más delgadas y están más juntas que las periféricas. La fibra nerviosa medular aborda el corpúsculo por uno de sus polos, atraviesa las cápsulas, y al llegar a la substancia granulosa pierde la mielina y la membrana de Schwann. El cilindro-eje, después de recorrer casi toda la longitud de la materia granulosa pálida, termina en el espesor de ésta por ligera intumescencia. La membrana de Henle, que acompaña al tubo nervioso, y que, por cierto, es sumamente gruesa, se continúa con diversas cápsulas conectivas (fig. 315, a).

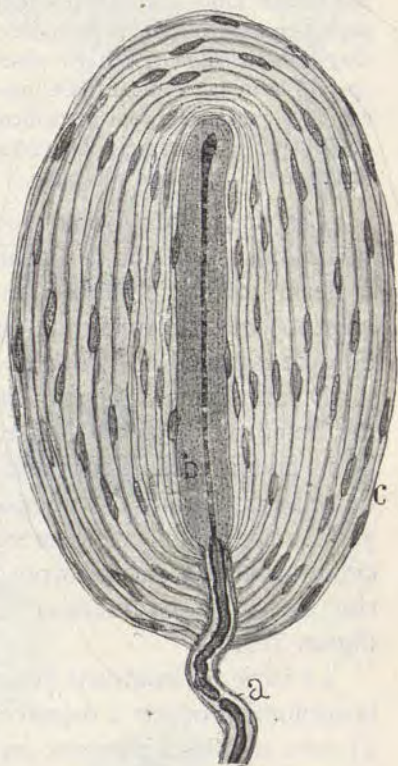


Fig 315. — Corpúsculo de Pacini del hombre. a, vaina de Henle del tubo nervioso; b, materia granulosa central; c, cápsulas.

Las investigaciones de Dogiel, Botezat, van der Velde, etc., efectuadas con los métodos neurofibrilares, han revelado que la maza final y ramos accesorios del axon aferente contienen redes neurofibrilares complicadas.

Con relación a la cápsula, corrige Dogiel (1910) la vieja opinión según la cual los núcleos capsulares corresponderían a corpúsculos endotéticos. En su sentir, dichos elementos son frecuentemente estrellados y poseen expansiones finas que, anastomosándose, generan en cada lámina el armazón fibrilar tupido descrito por Ranvier. El retículo de cada capa fibrosa podría continuarse con el de las vecinas al través del líquido intercapsular. Dogiel y Michailow (1909) han observado también que el eje granuloso del aparato terminal contiene, hasta más arriba de su mitad, una red de finos capilares, penetrantes por el pedículo. En fin, las observaciones recientes de Gil (1921) prueban que cada célula del aparato capsular contiene un retículo de Golgi de tipo conectivo.

Corpúsculos de Krause. — Aparatos más sencillos y menos voluminosos que los de Pacini, están situados, de ordinario, en el dermis de la conjuntiva, mucosa lingual, órganos genitales externos, etc. El tamaño de estos corpúsculos oscila entre 40 y 50 μ . de longitud por 20 ó 30 μ . de anchura.

Desde el punto de vista estructural se conocen dos variedades de corpúsculos de Krause. La variedad más simple se compone: de una cápsula conectiva, expansión de la vaina de Henle; de una masa granulosa interior, prolongada en forma de maza, y de una fibra nerviosa aferente que, desnudándose de sus cubiertas al abordar el corpúsculo, acaba cerca del polo superior de la masa granulosa, a favor de ligero espesamiento (figura 316, A).

La variedad compleja posee un tallo algo mayor y reside en la conjuntiva ocular y órganos genitales externos (fig. 316, B). El tubo nervioso aferente, en vez de terminar en la materia granulosa por simple ramo longitudinal, se dicotomiza en ésta repetidas veces, y los ramúsculos acaban por extremos engrosados y perfectamente libres (Retzius, Dogiel, etc.).

Dogiel describe también en la conjuntiva terminaciones nerviosas por ovillos o apelonamientos complicados de ramillas, sin aparato protector propiamente dicho.

Corpúsculos de Merkel. — En los bordes de la lengua y pico de las aves (singularmente del pato) existen unos corpúsculos especiales, que se han considerado como un rudimento o esbozo de los de Meissner. Estu-

diados en las preparaciones doradas, constan de células aplastadas y superpuestas, entre las cuales yace un disco biconvexo continuado con una fibra nerviosa. La cubierta de Henle de ésta prolóngase con el forro conectivo del corpúsculo (fig. 317, B, C). En el espesor de este disco terminal, Dogiel, trabajando con nuestro método del nitrato de plata reducido, ha observado complicada red neurofibrillar. Según Norwik (1910), las células de apoyo limitante de los discos nerviosos encerrarían también una red fibrilar tupida, de la cual saldrían puentes comunicantes con el protoplasma del corpúsculo compañero.

Hay corpúsculos de Merkel que poseen tres y hasta cuatro células horizontales. En este caso, la talla del órgano es mayor y el número de discos nerviosos terminales se acrecienta. En los mismos preparados puede verse también un pequeño corpúsculo semejante al de Pacini, del cual discrepa por exhibir células en la masa granulosa central (fig. 317, A). Este aparato terminal designase *órgano de Erbst*. Análogos son también los

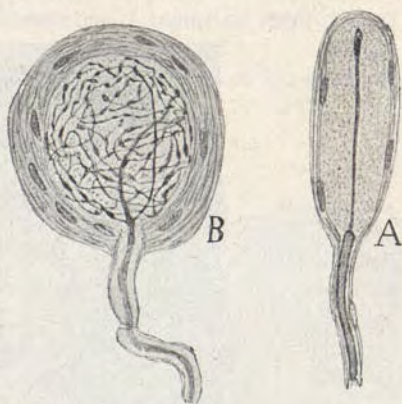


Fig. 316. — Corpúsculos de Krause. A, corpúsculo de la conjuntiva del buey; B, corpúsculo de la conjuntiva del hombre. (Dogiel.)

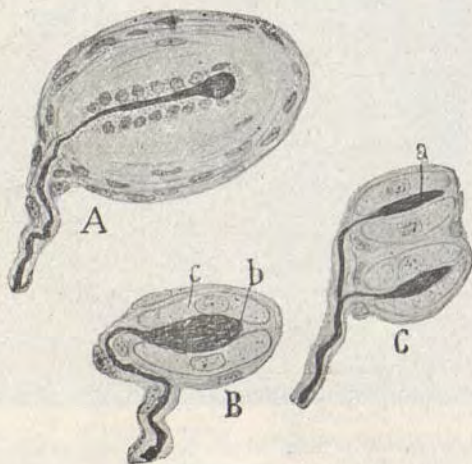


Fig. 317. — Terminaciones nerviosas en los bordes de la lengua y pico del pato. Nitrato de plata reducido. A, órgano de Erbst; B, C, corpúsculos de Merkel.



Fig. 318. — Terminaciones nerviosas en los pelos comunes. Ratón de pocos días.
(Según Retzius.)

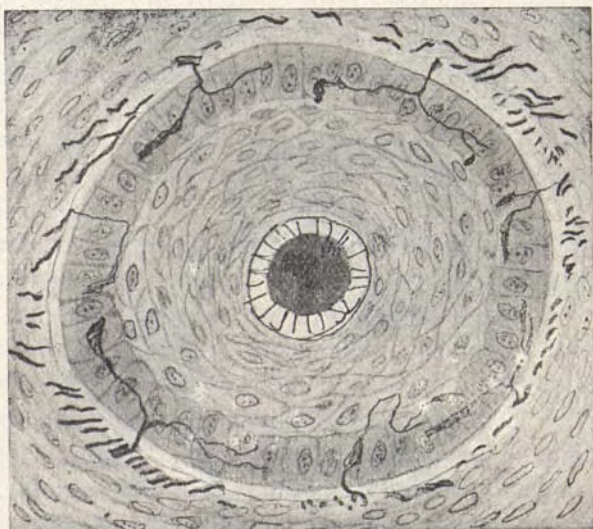


Fig. 319, 1.ª — Corte transversal de la raíz del pelo táctil del ratón de ocho días. Obsérvanse las dicotomías de las colaterales y los ensanchamientos terminales, todos o casi todos en contacto con el epitelio germinal.

corpúsculos de Golgi-Manzoni, residentes en el punto de unión de los tendones con los músculos.

Terminaciones nerviosas en los pelos. — Examinadas en los roedores por Arnstein, Bonnet y Ranvier, mejor estudiadas por v. Gehuchten y Retzius, estas arborizaciones residen alrededor del folículo piloso, no lejos del desagüe de las glándulas sebáceas. La fibra nerviosa llegada de lo profundo comienza por bifurcarse, trazando dos semianillos situados en la vaina conjuntiva del pelo, y de ellos brotan las ramas terminales, que están representadas por un gran número de colaterales gruesas, varicosas, ascendentes, paralelas y aplicadas sobre el pelo a modo de empalizada regular. Los cabos de estas ramas se aplican sobre la membrana vítrea (véase tejido piloso), sin traspasarla ni aboradar, por tanto, la trama epitelial del bulbo piloso (figuras 318 y 319, 1.^a)

Esta descripción se refiere a los animales de pocos días. En los roedores adultos la disposición de las fibras terminales se complica, según ha demostrado Tello con ayuda del nitrato de plata reducido (1905). En vez de una fibra, abordan el bulbo piloso ocho y más, las cuales, antes de resolverse en la empalizada terminal, trazan varias vueltas en torno de la raíz (fig 319, 2.^a). En fin, la empalizada de ramas ascendentes se continúa a menudo y, de un modo individual, con una fibra nerviosa aferente.

En los pelos cavernosos o táctiles de los roedores, las fibras nerviosas generan aparatos terminales todavía más complicados. Una parte de aquéllas acaban bajo la túnica vítrea del folículo piloso, mediante meniscos o apéndices hederiformes situados perpendicularmente a la raíz por debajo de ciertos corpúsculos epi-

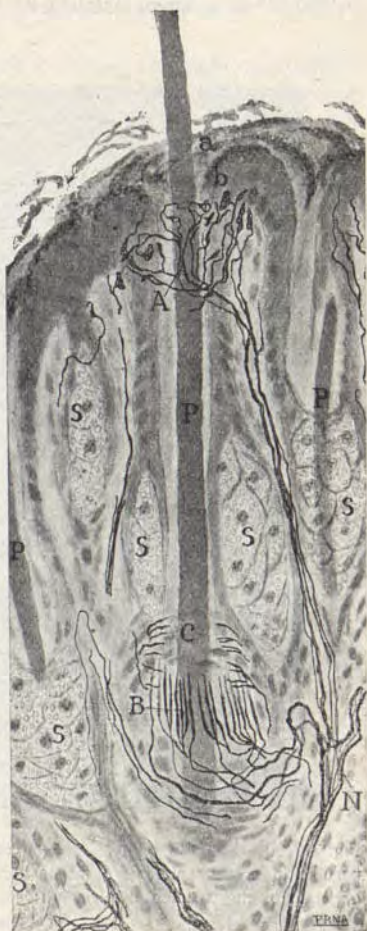


Fig. 319, 2.^a — Ratón de un mes. Pelo central primario. P, pelo; N, pequeño nervio procedente del plexo dérmico que le inerva; A, terminación foraminal; B, ídem en empalizada; C, anillo nervioso; S, glándula sebácea; a, epidermis córnea; b, cuerpo mucoso. (Tomada de Tello.)

télicos; otros conductores forman ciertos espesamientos o porras terminales (terminaciones en espátula), situadas por encima de la membrana vítrea y paralelamente a la dirección del pelo (fig. 319, 3.^a). En la figura 320, 1.^a mostramos detalles de los meniscos táctiles, bien descritos y;



Fig. 319, 3.^a — Ratón de quince días. Pelo táctil del labio superior. A, anillo nervioso; M, superficie de la vaina epitelial; B, fibras nerviosas paralelas; P, terminación en empalizada; a, pequeños engrosamientos iniciación de los meniscos; b, ramificación de amplios meniscos. (Tomada de Tello.)

dibujados por Tello. Nótese que cada abultamiento contiene una red compuesta de neurofibrillas primarias y secundarias. Los estudios de Tello acerca del aparato nervioso de los pelos comunes y táctiles, y en cuyo detalle no podemos entrar aquí (véase *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo IV, 1905), han sido confirmados, consciente o inconscientemente, por Lefebure (1908), Szymonovicz (1909), Botezat (1912), etc., y por nos-

otros (1918) (1). Recientemente, Tello ha hecho un estudio detenidísimo de la formación de los pelos táctiles y comunes y sus terminaciones (2). En la figura 319 mostramos algunas fases de la evolución de los meniscos del ratón y la figura 320, *b*, tomada del trabajo de Tello, da una idea de la extraordinaria complicación de las terminaciones nerviosas en los pelos táctiles.

Corpúsculos de Timotew. — Semejan a largos y sencillos corpúsculos de Pacini, pues poseen una masa granulosa central y fibra axial acabada en maza. Mas, a diferencia de éstos, ofrecen una segunda fibra nerviosa, más

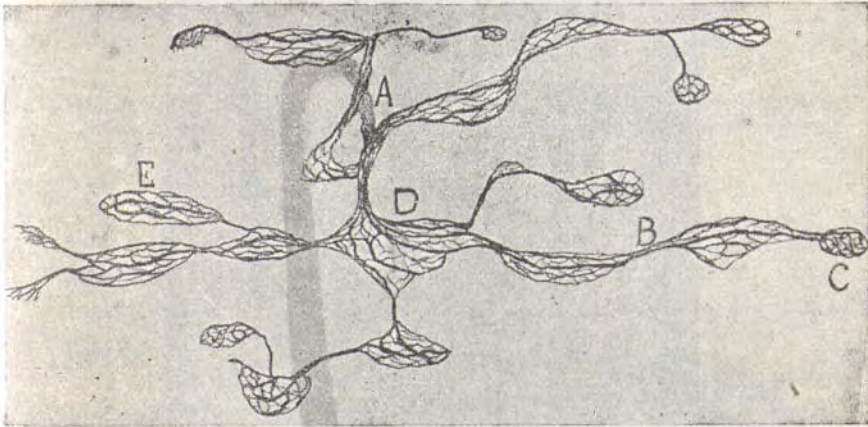


Fig. 320, 1.ª — Meniscos táctiles en que se termina una sola fibra dentro de la vaina epitelial del pelo táctil. A, punto de división; B, puente de unión; C, botón terminal; D, menisco que sirve de base a varias ramas; E, menisco terminal. (Según Tello.)

fina que la precedente, la cual se descompone en una riquísima arborización terminal extendida a distancia de la fibra axial, es decir, en torno de la masa granulosa. Moran semejantes corpúsculos en el dermis de la porción membranosa y prostática de la uretra, así como en la cápsula prostática de los mamíferos (fig. 321).

Terminaciones glandulares. — Este tema ha sido muy debatido hasta estos últimos años, en que los métodos de Ehrlich y

(1) Cajal: «Algunos detalles sobre el mecanismo genético de las ramificaciones nerviosas intraepiteliales sensitivas y sensoriales.» *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XVII, 1919.

(2) Tello: «Genèse des terminaisons motrices et sensitives. II Terminaisons dans les poils de la souris blanche.» *Trav. du Lab. des Rech. biol.*, T. XXI (1923).

de Golgi han permitido obtener coloraciones absolutamente correctas de las fibrillas terminales, aclarando definitivamente la cuestión. Como hemos demostrado primeramente nosotros para las glándulas salivares, y han confirmado y am-



Fig. 320, 2.ª — Ratón de quince días. Pelo táctil del labio superior. A, vaina epitelial; H, parte superior del engrosamiento con terminaciones en menisco y tendón; Col, anillo; F, entrada del nervio folicular con las terminaciones en la parte inferior del engrosamiento; S, glándula sebácea; E, salida del pelo con su terminación foraminal M; C, vaina conectiva exterior; D, ídem interior; S. v, seno vascular; R, rodete anular; V. e, vasos cavernosos; B, pelos comunes con su terminación K; P. s, fascículo nervioso del plexo dérmico. (Tomada de Tello.)

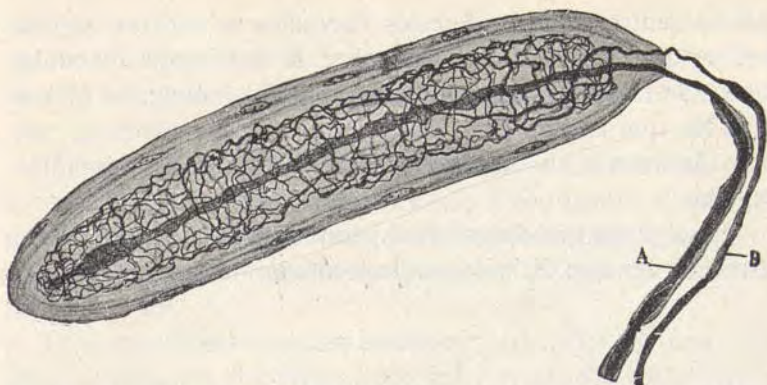


Fig. 321. — Corpúsculo de Timotew de la cápsula prostática del perro. Método del azul de metileno. A, fibra gruesa aferente; B, fibra fina ramificada en torno de la masa granulosa central. (Según Timotew.)

pliado Fusari y Panasci, Retzius, Müller, Cl. Sala, Dogiel, etc., las fibras nerviosas destinadas al tejido glandular acaban libremente sobre las células secretoras, sin penetrar en el protoplasma (fig. 322, 1.^a, C).

Las fibras originarias provienen del gran simpático y están, por tanto, desprovistas de mielina; algunas representan quizá simples expansiones finas de ciertas células nerviosas multipolares (fig. 322, 1.^a, A), yacentes entre los acini de las glándulas (Cajal (1), Cl. Sala). Todas estas fibras constituyen primeramente un plexo tupido, situado por fuera del epitelio, en pleno tejido conectivo; plexo cuyas trabéculas son, en su mayor parte, haces de fibrillas comple-

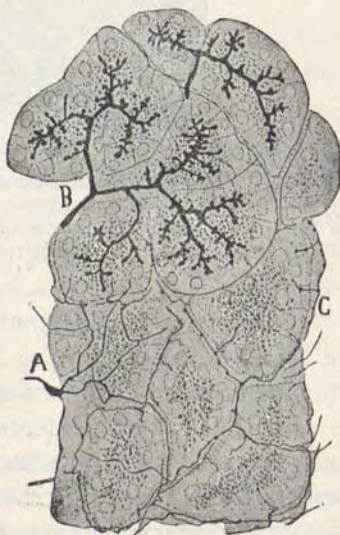


Fig. 322, 1.^a — Plexo nervioso terminal del páncreas. A, célula simpática intersticial; B, acini glandular; C, plexo nervioso pericelular.

(1) Cajal: *Nuevas revelaciones del método de Golgi*. Barcelona, 1898.

tamente entrecruzados; de estos hacecillos se separan algunas hebras que marchan aisladas sobre la membrana glandular, donde se ramifican diferentes veces; y, finalmente, las últimas ramillas, que afectan gran delgadez y aspecto varicoso, acaban libremente en la cara externa de los corpúsculos glandulares.

En algunas glándulas, en el páncreas, por ejemplo, nos ha parecido ver que dichas ramillas terminan libremente, no sólo

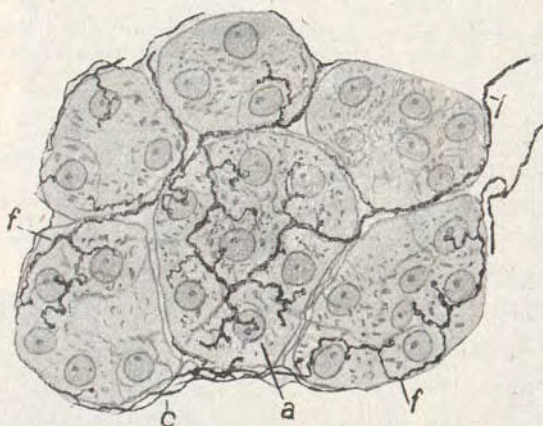


Fig. 322, 2.^a — Acini glandular del páncreas en el ratón adulto. Método de Golgi (doble impregnación); *e*, fibras del plexo periacinoso; *f*, terminaciones interepiteliales (hipolemiales); *a*, fondo de saco glandular mostrando su inervación periacinosa (epilemmales). Tomada de Castro.

por fuera de los corpúsculos secretores, sino entre los mismos, o sea en el cemento intercelular (fig. 322, 2.^a). Ramas intracelulares, como las dibujadas por Tricomi-Allegra (1914) en el epitelio de la mama, no hemos visto jamás. Tampoco las ha sorprendido recientemente Castro (1922).

TERMINACIONES NERVIOSAS SENSORIALES

Terminaciones nerviosas olfativas. — La estructura de la región superior de la mucosa nasal, único paraje donde yacen los corpúsculos nerviosos olfativos, es bastante bien conocida desde las ya antiguas y memorables indagaciones de Máximo Schültze.

Dos principales especies celulares, ordenadas en una sola capa, constituyen el epitelio nasal: los *corpúsculos epiteliales* o de sostenimiento; las *células nerviosas* o bipolares.

Las *células epiteliales* (fig. 324, e) son prismáticas, y ofrecen en sus caras numerosas fosetas o moldes en hueco, para adaptarse a los corpúsculos bipolares, a los que aislan por completo. Parécense en esto tales células a las fibras de Müller de la retina, y su misión no parece ser otra que impedir los contactos de los corpúsculos nerviosos, imposibilitando toda comunicación horizontal de corrientes.

Las *células bipolares* o corpúsculos olfativos poseen un cuerpo diminuto, oblongo o fusiforme, casi exclusivamente formado por el núcleo. De la delgada capa protoplásmica envolvente parten dos expansiones: *externa* e *interna* (fig. 324, b). La *externa* es gruesa y acaba en la misma superficie libre del epitelio mediante algunos apéndices libres, finísimos, no vibrátiles, y extendidos casi horizontalmente por la capa de mucina que moja exteriormente el epitelio. La *interna* es finísima, varicosa, con todas las apariencias de filamento nervioso (circunstancia que ya hizo notar Schültze), y prolongándose hasta la parte inferior del epitelio, se continúa con una fibrilla del nervio olfatorio (fig. 324, d).

Por el dermis de la mucosa corren numerosos haces de fibras olfatorias, separadas por una trama conectiva y abundantes glándulas tubulosas (glándulas de Bowmann).

La continuación de la expansión profunda de la célula bipolar con una fibra olfatoria fué ya sospechada por Schültze. Pero la demostración absoluta del hecho ha exigido la in-

vención de métodos analíticos especiales (método de Ehrlich y el de Golgi), y sólo ha sido llevada a cabo en estos últimos lustros, gracias a las investigaciones de Arnstein, Grassi y Castronovo, las nuestras y las de van Gehuchten.

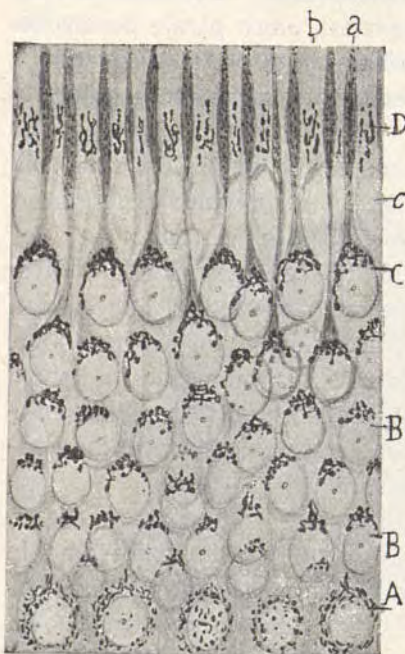


Fig. 323. — Corte de la mucosa olfativa del perro de veinte días. Proceder de impregnación argéntica con fijación uránica previa. A, células basales; B, corpúsculos bipolares profundos; C, primera hilera de células bipolares; D, aparato de Golgi de los corpúsculos epitelícos o de sostén; a, cabo periférico de una neurona olfativa; b, cabo periférico de un corpúsculo de sostén. (Según Fañanás.)

superficial de los mismos, rodeando estrechamente al núcleo (C); mientras que los corpúsculos de sostén albergan un retículo flojo, débilmente coloreable, de cordones más o menos para-

Nuestras observaciones sobre este punto prueban, no sólo la continuación de una fibra de los nervios olfatorios con una célula bipolar de la mucosa, sino también la perfecta unidad e independencia de aquélla durante todo su itinerario hasta el bulbo olfativo, donde cesa, a beneficio de una arborización libre. Las redes y ramificaciones que algunos autores habían descrito en el trayecto intra o extra-epitelial de las fibrillas olfatorias, no han podido ser confirmadas con los nuevos métodos de coloración (1). Los estudios recientes de Fañanás (1913) nos informan acerca de la forma y posición del aparato de Golgi en los elementos de la mucosa olfativa. Según mostramos en la figura 323, el aparato reticular de los elementos bipolares yace en el polo su-

(1) Cajal: «Origen y terminación de las fibras nerviosas olfatorias.» *Gaceta Sanitaria Municipal*. Barcelona, 1890.

lelos y situado por fuera del núcleo, en un plano más superficial que el de las células bipolares (*D*). En fin, en el nivel profundo del epitelio aparecen los elementos basales provistos de un aparato de Golgi granuloso, y difundido por todo el cuerpo celular.

Las neurofibrillas de las células bipolares han sido descritas por Kolmer (1910) en los peces. En los vertebrados superiores es difícil impregnarlas con los métodos argénticos, mostrándose singularmente finas y pálidas. Este mismo autor señala también en los elementos epitelícos ciertas fibras interiores longitudinales, constitutivas de un aparato de sostén comparable al descrito por Held y otros sabios en los elementos de Deiters, del órgano de Corti.

Terminaciones nerviosas auditivas. — La parte fundamental del caracol membranoso es el órgano de Corti, punto donde se verifica la impresión de las ondas sonoras, y de cuya estructura, en extremo compleja, no señalaremos aquí más que los datos esenciales.

Sobre la membrana basilar yace una bóveda o túnel prismático de curso espiral, construído de dos hileras de pilares que, por su posición respecto del eje del caracol, se distinguen en internos y externos (fig. 325). Dichos pilares son células epiteliales diferenciadas en una materia dura, homogénea y elástica, excepto cerca de sus extremos inferiores, donde conservan todavía el núcleo y un resto del antiguo protoplasma. Insértanse por abajo sobre la membrana basilar (*B*), a cierta distancia unos de otros, y reúnen por arriba, ofreciendo el ex-

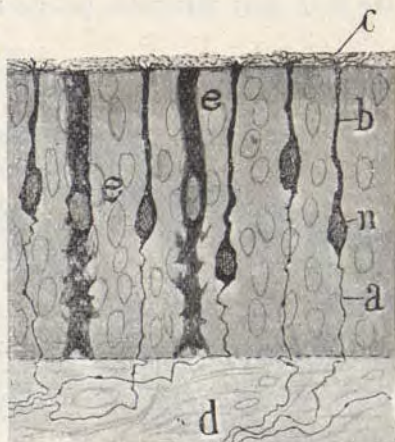


Fig. 324. — Células de la mucosa olfatoria del ratón de ocho días. *e*, célula epitelial o de sostenimiento; *b*, células bipolares; *d*, haces nerviosos olfatorios; *c*, manejo de pestañas en la superficie libre; *n*, núcleo.

tremo superior de los internos una cavidad donde se aloja la cabeza de los externos. Por fuera de estos últimos se halla una formación epitelial, cuya altura va disminuyendo sucesivamente conforme se aleja del túnel de Corti. Esta capa epitelial se compone de dos clases de células: 1.^a Las de *Deiters* o de sostenimiento (*D*), muy alargadas, provistas de un extremo inferior grueso

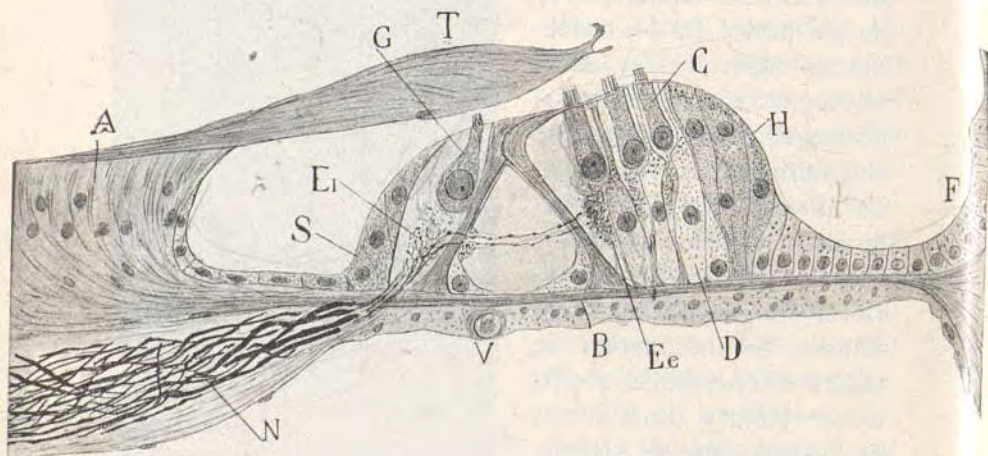


Fig. 325. — Corte del órgano de Corti del hombre (según Retzius). A, cresta espiral; B, membrana basilar; C, células ciliadas externas; D, células de sostenimiento; Ei, manjeto nervioso espiral interno; Ee, manjeto nervioso espiral externo; F, epitelio del surco espiral interno; H, células de apoyo de Hensen; N, nervio coclear por encima del ganglio; T, membrana tectoria; V, vaso espiral; J, arranque de la membrana de Reissner.

so, implantado en la membrana basilar; y de otro delgado, dirigido oblicuamente hacia arriba y terminado en la superficie epitelial (*prolongación falángica*). Hacia la porción intermedia, estos elementos poseen un espesamiento cóncavo en forma de copa, donde se apoyan los *corpúsculos acústicos*. Y 2.^a Las *ciliadas* o *corpúsculos acústicos*, distribuidos en tres o cuatro series alternas con los elementos anteriores, y que se distinguen por ofrecer un cuerpo grueso, corto, terminado hacia arriba por un mechón de pestañas y hacia abajo por un cabo redondeado, sostenido por las células de Deiters (fig. 325, C).

Por dentro del pilar interno existe otro revestimiento epitelial menos extenso, que consta de una hilera de *células ciliadas* análogas a las anteriores (*G*), y varias filas de elementos no pestañosos (*células de sostén*), cuya altura va decreciendo por

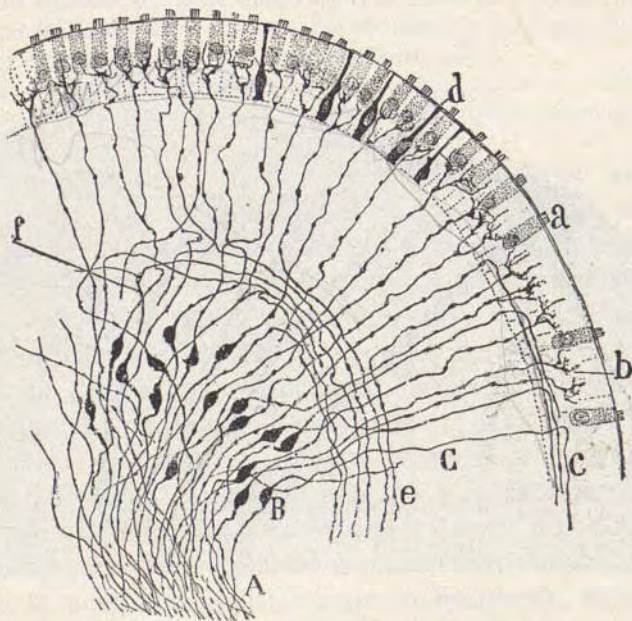


Fig. 326. — Corte de plano de una vuelta de espiral del órgano de Corti del ratón de cinco días. A, nervio coclear; B, trozo de ganglio espiral; C, fibras que forman debajo del epitelio del órgano de Corti un haz espiral; a, células ciliadas; b, terminaciones nerviosas; d, células de sostenimiento.

dentro hasta igualar a la de los corpúsculos aplastados del surco espiral interno (*S*).

Durante el último decenio, la textura de las células de sostén del órgano de Corti ha sido estudiada esmeradamente por Botscher, Nuel Landowsky, Retzius, Joseph, Spee, Hel (1904), van der Strich (1908), Kolmer (1909), nosotros (1919). Aplicando diversos métodos, han diferenciado en los corpúsculos no nerviosos del citado órgano cierto esqueleto fibrilar que, por su elasticidad y resistencia, debe desempeñar algún papel importante en la función auditiva.

Las descripciones más precisas y completas se encuentran en las monografías de Held y Kolmer, quienes han usado de preferencia la hematoxilina ferruginosa de Heindenhain, tras larga fijación de las piezas en un líquido bicromatado (mezcla de formol, bicromato de potasa y ácido acético, obrando varias semanas; después, decalcificación en ácido nítrico al 5 por 100, lavado, etc.).

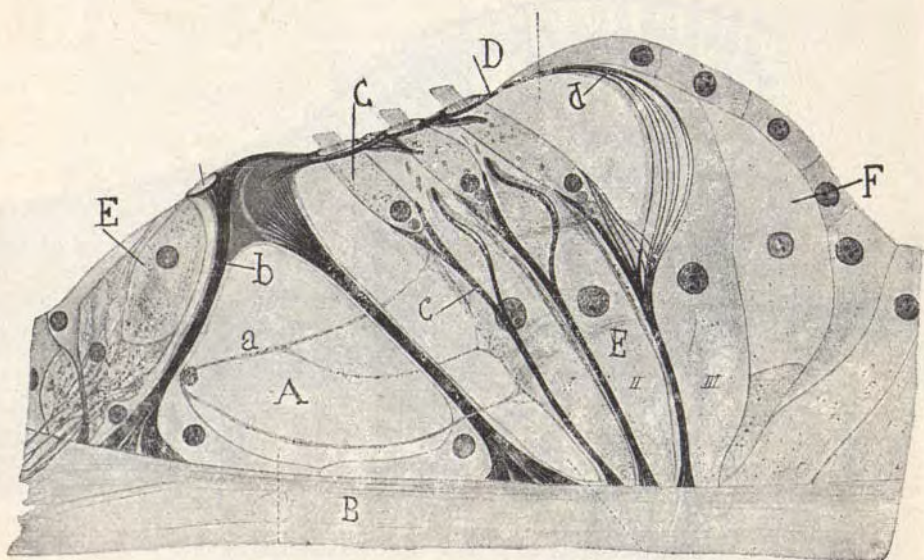


Fig. 327. — Armazón endocelular de las células de sostén del aparato de Corti, del cobaya, según Held. A, túnel de Corti; B, membrana basilar; C, células ciliadas; D, membrana reticular; E, células de Deiters con sus esqueletos interiores; a, fibras nerviosas; b, esqueleto del pilar de Corti; c, esqueleto que sustenta la célula ciliada; d, prolongación falángica de una célula de Deiters con fibras para la capa reticular.

En la figura 327, tomada de una de las Memorias de Held, aparece claramente el esqueleto intracelular de sostén, acaso de naturaleza elástica, residente, tanto dentro de los pilares del órgano de Corti, como en los corpúsculos epiteliales o de Deiters. En los pilares (fig. 327, b) trátase de un haz de fibras que, comenzando cerca de la membrana basilar, corren paralelas hacia arriba; llegada a la cabeza de aquéllos, unas terminan en el límite superior de la extremidad cefálica, mientras que otras abordan la membrana reticular, donde generan disposiciones complicadas, algo diferentes para cada pilar. Menos rico y compacto, el haz fibrilar de los elementos de Deiters asciende también desde la membrana basilar, corre por

un lado del protoplasma y, arribado al nivel inferior de las células ciliadas, se divide en dos manojos: el grueso o principal acaba bruscamente debajo de los corpúsculos ciliados (fig. 327, *c*), a los que sostienen como la huevera al huevo, y el fino o accesorio, que, después de penetrar en la expansión falángica de la célula de Deiters, desvíase lateralmente para abordar la membrana reticular, donde se termina por una placa apical (*d*). En fin, la membrana reticular, punto de concurrencia de buena parte de las fibras de sostén, exhibe unos marcos o anillos que encuadran y mantienen en posición los cabos superficiales de las células ciliadas (*D*).

Recientemente, Torrens (1920) ha demostrado, tanto en las células ciliadas como en las de sostén, un aparato de Golgi (conejo recién nacido).

Terminación en el caracol de las fibras del nervio coclear.

El problema de la terminación del nervio coclear fué plenamente resuelto hace muchos años por Retzius, cuyos estudios fueron confirmados por van Gehuchten, von Lenhossék y nosotros. Como se ve en las figuras 326, *B*, y 328, *A*, el nervio coclear proviene de las células bipolares del ganglio espiral del caracol. Las expansiones descendentes de estas células van hacia el bulbo para constituir la raíz coclear del acústico y terminar en los núcleos acústicos ventral y lateral, yacentes al lado externo del cuerpo restiforme; mientras que las expansiones ascendentes o periféricas penetran por entre las dos hojas de la lámina espiral ósea, llevando una dirección radiada; ganan después la membrana basilar, e ingresan, finalmente, en el epitelio del órgano de Corti. Tanto la expansión descendente como la ascendente, poseen vaina de mielina, que cesa en la ascendente, cerca del paraje de ingreso en la membrana basilar. Como se advierte en la figura 326, *e*, donde hemos representado el órgano de Corti seccionado según el plano de la membrana basilar, no todas las expansiones ascendentes van desde luego al epitelio terminal; algunas, llegadas que son a la porción externa del ganglio espiral, se doblan para acabar sin duda en parajes mucho más altos del caracol; otras se bifurcan al mismo nivel, engendrando ramas generalmente desiguales, que acaso se terminen, después de un curso espiral variable, en zonas distintas del órgano de Corti.

En cuanto a las fibras que marchan directamente al órgano de Corti, las investigaciones de Retzius han demostrado que

se comportan también de dos maneras: unas, las más, ganan el epitelio y se terminan por debajo de las *células ciliadas*, a favor de un penacho de hilos varicosos, ascendentes, que se ponen en íntimo contacto con el cabo inferior y caras laterales de dichos corpúsculos acústicos; y otras, menos numerosas,

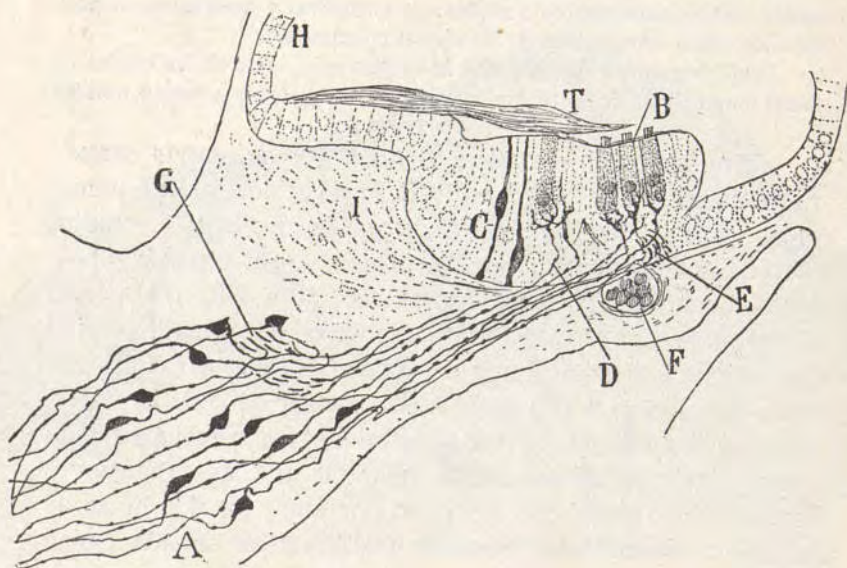


Fig. 328. — Corte del ganglio espiral y órgano de Corti del ratón de cinco días. A, células bipolares del ganglio espiral; B, células ciliadas externas; C, células de sostenimiento; D, arborización terminal de una fibra nerviosa acústica; E, manojo nervioso espiral; F, vaso espiral; G, fibras que marchan en espiral a ramificarse a regiones distantes del órgano de Corti; H, membrana de Reissner; T, membrana tectoria.

antes de arborizarse de igual modo, siguen un curso espiral variable por entre las células de Deiters (fig. 326, c). En el ratón de pocos días, en que el órgano de Corti se muestra todavía embrionario, estas últimas fibras espirales constituyen un solo paquete, situado por debajo de las células ciliadas externas y encima de la membrana basilar; mas en el hombre, Retzius ha señalado la existencia de varios paquetes de fibras espirales: *el del túnel*; *el interno*, colocado por debajo de las

células internas (fig. 325, *Ei*), y *el externo*, subdividido en tres o cuatro hacecillos secundarios y emplazados entre las células de Deiters y debajo de las ciliadas externas (fig. 325, *Ee*).

Como quiera que existen dos zonas o regiones provistas de células ciliadas, se contarán también dos clases de fibras terminales: *fibras internas* poco numerosas, que, sin pasar el túnel de Corti, se arborizan debajo de las células ciliadas internas (fig. 328, *D*), y *fibras externas* muy abundantes, las cuales, en el adulto, cruzan reunidas en manojitos el túnel, para terminar de la manera sabida debajo de las células ciliadas externas (fig. 328, *E*).

Los métodos neurofibrilares revelan bien la manera de terminar de las fibrillas nerviosas por debajo de las células ciliadas del órgano de Corti. El haz neurofibrillar de cada fibra parece entreabrirse y aplicarse al cabo inferior del corpúsculo ciliado, entrando en íntimo contacto con el protoplasma de éste. Tan estrecho es este contacto, que algunos autores, como London y Pesker (1906), Kolmer (1907) y Bielschowski y Brühl (1909), han creído en una penetración de las neurofibrillas nerviosas dentro del protoplasma del corpúsculo ciliado. En la figura 329 presentamos nosotros el detalle de esta terminación tomada del órgano de Corti de las aves (1908), y en la figura 330 la disposición que el método del nitrato de plata reducido (fijación en piridina) revela en el feto de ratón de término.



Fig. 329. — Detalles de la unión de las fibras acústicas y células ciliadas en el embrión de pollo del 19.º día de la incubación.

De lo expuesto resulta que el nervio coclear no es comparable al olfatorio. En la mucosa olfatoria la expansión protoplásmica o periférica de las células bipolares se pone directamente en relación con el mundo exterior; mientras que en el órgano de Corti, esta misma expansión, nacida también de corpúsculos nerviosos bipolares, se relaciona con una categoría especial de elementos intermediarios, las *células ciliadas*, que son las encargadas de recoger y transformar las ondulaciones sonoras. Bajo este aspecto, el caracol membranoso se parece a la retina, donde se halla también una clase especial de células colectoras, los conos y bastones, destinadas a llevar

la impresión luminosa a los corpúsculos bipolares yacentes en capa más profunda.

Las prolongaciones internas de las células bipolares del ganglio espiral que forman el nervio coclear, abordan el bulbo raquídeo, donde se bifurcan en rama ascendente y descendente; éstas, así como sus innumerables colaterales, se ramifican

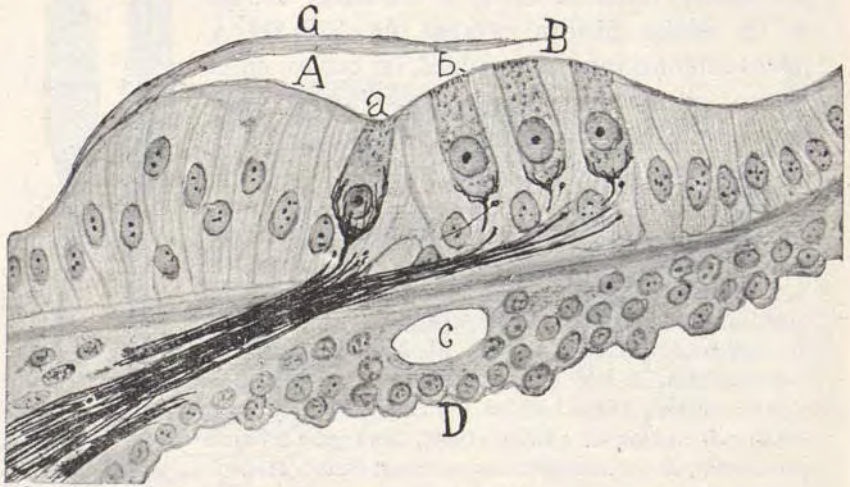


Fig. 330. — Corte del epitelio del órgano de Corti del feto de ratón de término. A, reborde interno; B, reborde externo; D, escala timpánica; a, célula ciliada interna; b, célula ciliada externa; c, vaso espiral.

en *ganglio ventral* y en *el lateral del acústico*. En este punto la excitación acústica es tomada por unos gruesos corpúsculos esferoidales o fusiformes, yacentes en dichos focos, y es llevada al *tubérculo cuadrigémino posterior* (Held, Kölliker, Cajal).

En las aves y reptiles existe un órgano de Corti y un caracol contruídos esencialmente según los principios del de los mamíferos. Las rampas del caracol, sin embargo, no forman espira, sino un largo conducto, algo encorvado y terminado por un divertículo, donde acaban fibras nerviosas. Tampoco se presenta diferenciado el *túnel de Corti*. En su lugar aparece una membrana espesa, la *papila basilar*, donde, como en los mamíferos, residen entre elementos de sostén las células ciliadas dispuestas en ancha empalizada. Cada célula ciliada recibe una fibra nerviosa; pero hay fibras que emiten colaterales accesorias en relación con células vecinas.

Terminaciones del nervio vestibular. — Procede este nervio de un ganglio especial situado en el fondo del conducto auditivo interno, el *ganglio de Scarpa o vestibular*. Como las células del coclear, las de este ganglio poseen dos expansiones polares: una *periférica*, que se dirige a las *máculas acústicas* del utrículo y sáculo, y crestas de los conductos semicirculares; otra *central*, que constituye la raíz vestibular del acústico y tiene su terminación en los ganglios de Deiters, Bechterew y núcleo descendente del bulbo.

En la figura 331 representamos el corte de una *mácula acústica* del ratón de pocos días. Esta mácula es una parte engrosada del epitelio del utrículo; y está construída, como todo epitelio sensorial, de dos clases de células: 1.^a, *elementos de sostén*; es decir, células alargadas que ocupan todo el espesor epitelial y ofrecen: un cuerpo vuelto hacia abajo, portador del núcleo yacente sobre el dermis mucoso, y un vástago o expansión superior acabada, sin pestañas ni placa aparente, en la superficie libre (*B*); 2.^a, *elementos ciliados*, más gruesos y granulados que los anteriores, terminados superficialmente por una gruesa pestaña (*A*) y acabados por abajo a favor de un extremo redondeado y espeso, donde se alberga el núcleo. Estas células no suelen pasar inferiormente de la mitad de la altura de los corpúsculos de sostén.

Las fibras nerviosas, que representan, como hemos dicho, las prolongaciones periféricas de células bipolares, abordan el epitelio, se bifurcan a menudo en el límite inferior de éste, y terminan debajo de las células ciliadas a favor de una arborización horizontal de ramas gruesas y fuertemente varicosas (*D*). Algunos ramitos ascienden también, como ha mostrado Retzius, entre las células epiteliales, llegando hasta cerca de la superficie libre. Cada arborización horizontal se pone en relación de contacto con los cabos inferiores de tres o más células ciliadas. El conjunto de estas ramificaciones constituye, según han indicado Niemack y Lenhossék, un plexo nervioso horizontal extendido por debajo de los cabos de los elementos ciliados (fig. 331).

Por lo demás, iguales terminaciones nerviosas y la misma

estructura exhiben las crestas acústicas de los conductos semi-circulares.

Los métodos neurofibrilares añaden algunos detalles a la

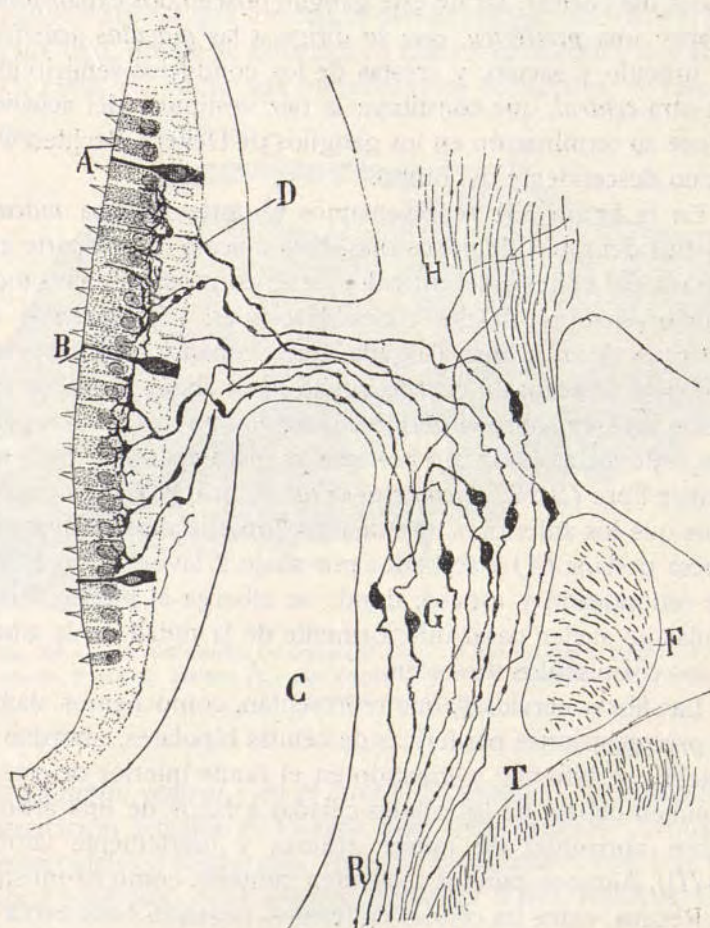


Fig. 331. — Ganglio vestibular y mancha acústica del utrículo del ratón de cuatro días. *A*, células ciliadas; *B*, células de sostenimiento; *D*, fibra nerviosa terminal; *G*, ganglio vestibular; *F*, corte del nervio facial; *T*, bulbo raquídeo al nivel de la rama descendente del trigémino; *C*, cartilago.

descripción clásica de Lenhossék. Según resulta de las investigaciones de Kolmer (1907) y nuestras (1904), confirmadas en

los mamíferos por Bielschowsky y Brühl (1907), además del plexo horizontal mencionado, cada fibra genera un nido o pincel de finas ramillas que se aplica íntimamente a casi toda la superficie de la célula ciliada. Este nido o copa parece formado por la dispersión de las neurofibrillas del axon acústico aferente. Hay fibras que producen un nido final; pero existen otras más abundantes en las *crestas* acústicas que en las *manchas* (fig. 332, *D*, *F*), que constituyen un racimo de nidos pró-



Fig. 332. — Fibras vestibulares terminadas en una cresta acústica (pájaro de pocos días). *E*, fibra colosal destinada a varias células ciliadas; *F*, otra que produce dos nidos terminales; *D*, fibra resuelta en un plexo horizontal.

ximos, destinados a un grupo de corpúsculos ciliados. En fin, notemos que las fibras generadoras de los nidos son gruesas (*E*), mientras que las destinadas al plexo horizontal son delgadas (*e*), aunque en este plexo penetran también algunas ramas colaterales emanadas de los recios conductores (*D*). Añadamos aún que, según Bielschowsky, cada célula ciliada posee en su protoplasma un anillo neurofibrillar, particularidad que denota la naturaleza nerviosa de tales elementos.

Las prolongaciones centrales de las células bipolares del ganglio de Scarpa engendran el *nervio vestibular* y marchan al bulbo raquídeo, a un foco especial llamado *ganglio de Deiters*, en el cual, según han mostrado las investigaciones de Kölliker, de Held y de Cajal, se bifurcan, produciendo una rama ascendente y otra descendente, ricamente arborizadas en dicho foco.

Como nuestras indagaciones han revelado, la rama ascendente se distribuye especialmente por el ganglio de Bechterew (prolongación posterior del de Deiters), *ganglio del techo*, penetrando después quizá en la corteza cerebelosa. . . Conforme

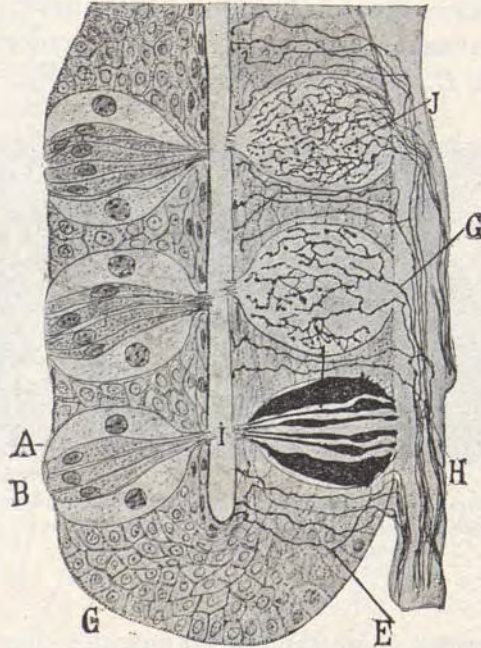


Fig. 333. — Corte vertical de un repliegue epitelial del órgano foliado del conejo. A la izquierda se ven los botones gustativos teñidos por el carmín; a la derecha se muestran teñidos por el método de Golgi. A, célula de sostenimiento; B, células bipolares; C, epitelio pavimentoso; E, fibras nerviosas intergemmales; G, arborizaciones nerviosas intragemmales; J, un botón gustativo donde el plexo nervioso aparecía teñido por completo; H, haces nerviosos que corren por el dermis; I, poro gustativo (según Retzius y Lenhossék).

ha demostrado Lorente de Nó (1925), cada órgano periférico del vestibular está representado en el bulbo y otros centros por vías reflejas secundarias especiales.

Terminaciones nerviosas gustativas. — El aparato terminal del glossofaríngeo lo constituyen ciertos órganos en forma de tonel, llamados *yemas* o *botones gustativos*, situados en el epitelio del surco que rodea a las papilas caliciformes y fun-

giformes de la lengua. En el gato obsérvanse también estos aparatos terminales en el vértice de las *papilas hemisféricas* (fig. 334). En el conejo, el aparato terminal gustativo está representado por dos placas redondeadas, colocadas a los lados de la lengua y cubiertas de crestas paralelas (*órgano foliado*).

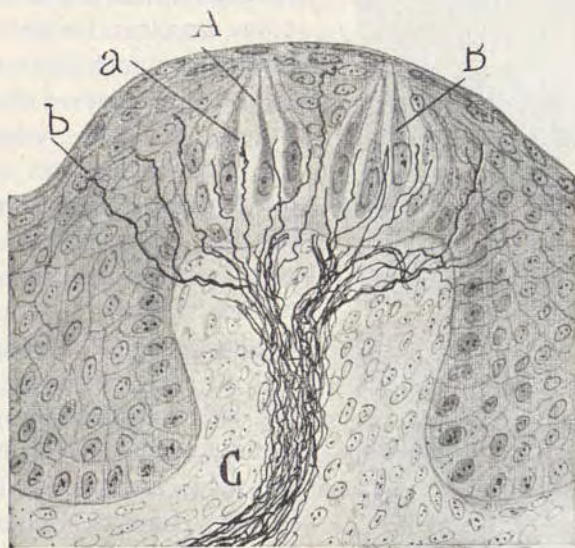


Fig. 334. — Papila hemisférica de la lengua del gato recién nacido. A, B, toneles gustativos; a, fibras nerviosas intragemmales; b, fibras nerviosas extragemmales.

Cuando se examina al microscopio un corte fino del *órgano foliado* del conejo, se ve que en cada surco interpapilar el epitelio posee varias hileras de yemas gustativas (fig. 333, A). Estas yemas afectan figura oblongada, se extienden desde el tejido conectivo a la superficie libre, y constan de dos clases de células: *las del sostén*, gruesas, pálidas, a veces vacuoladas, ricas en protoplasma y yacentes en la periferia del acúmulo celular (A); y las *bipolares* (B), situadas en el centro, mucho más delgadas y provistas de un cuerpo ligeramente engrosado por el núcleo, de un extremo superior adelgazado y prolongado hasta la superficie libre, de la cual emerge bajo el aspecto de fina pestaña, y de un cabo inferior más pesado, terminando

libremente cerca del dermis. Retzius (1913) y Heidenhain (1913 a 1917), que han estudiado atentamente la estructura de estas dos clases de células, señalan entre ellas transiciones de mor-

fología y de textura. Pudiera, pues, ocurrir que sean tan sensoriales o receptoras las unas como las otras. Las células epiteliales comunes llenan los espacios que median entre los botones gustativos, y en el vértice de éstos reservan un espacio circular, el *poro gustativo* (fig. 333, *i*), por donde las partículas sápidas pueden directamente impregnar las pestañas rígidas de las células bipolares.

Los filamentos nerviosos han sido estudiados por varios autores, particularmente por Arnstein, Lenhossék, Retzius, Pusari y Panasz, Jacques, etc., los cuales se han servido ya del método de Ehrlich, ya del de Golgi. Los resultados conseguidos por estos observadores concuerdan en lo substancial y han conducido a admitir en el aparato gustativo dos clases de fibras terminales:

1.^a *Fibras intragemmales (G)*, es decir, fibrillas finas, numerosas, que después de circular reunidas en haces por debajo del epitelio, abordan el

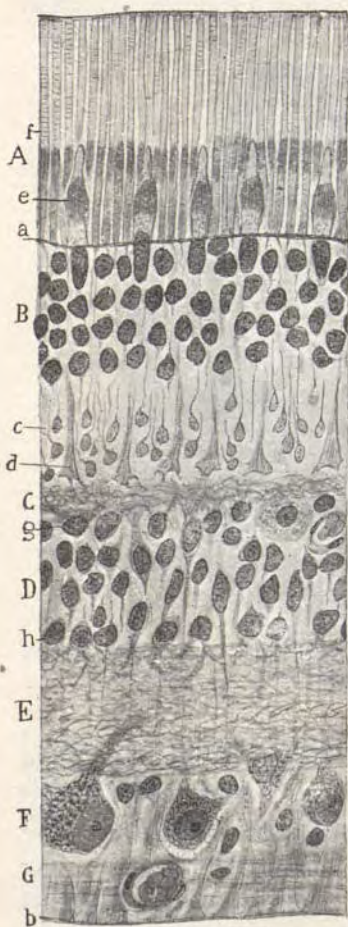


Fig. 335. - Corte de la retina humana. Coloración con las anilinas.

cabo inferior del botón o yema gustativa y engendran una arborización varicosa, libre y muy complicada, que abraza con sus giros y revueltas la superficie de las células bipolares.

Cuando las fibras impregnadas son muy numerosas, como aparece en la figura 333, *J*, el plexo terminal es tupidísimo, y no yace solamente por fuera de las bipolares, sino también entre ellas.

2.^a *Fibras intergemmales (E)*. En los espacios epiteliales que separan los botones gustativos, se ven además unas fibras rectas o casi rectas, poco ramificadas, las cuales se extienden desde los manojitos nerviosos subepiteliales hasta la misma superficie libre, donde acaban por un extremo varicoso, a menudo doblado o dispuesto en zig-zag. Ignórase cuál es la significación de estas últimas fibras. Tocante a las primeras o intragemmales (*J*, *G*), los autores están de acuerdo en considerarlas como terminaciones sensoriales específicas, encargadas de noticiar al sensorio de las cualidades sápidas de los alimentos y bebidas.

Los demás órganos gustativos (papilas caliciformes, fungiformes, hemiesféricas) del hombre y animales poseen la misma estructura. En la figura 334 damos nosotros el aspecto de las terminaciones nerviosas en las papilas hemisféricas del gato recién nacido. El aparato terminal no ha llegado a su completa evolución. Nótese ya la existencia de fibras intragemmales (*a*) y extragemmales (*b*).

De lo expuesto resulta que en el aparato gustativo terminal la impresión no es recibida directamente por los nervios, sino por unos corpúsculos intermediarios, las *células bipolares*, en un todo análogas, bajo el aspecto funcional, a los bastones y conos de la retina y a las células ciliadas de los aparatos acústico y vestibular.

Terminaciones nerviosas visuales. Retina. — Esta membrana, expansión del nervio óptico, es el resultado de la aproximación y adherencia de las dos paredes, anterior y posterior, de la vesícula ocular embrionaria. La pared anterior, notablemente engrosada, engendra las capas retinianas comprendidas desde la de los bastoncitos hasta la limitante interna; mientras que la pared posterior origina solamente la capa epitelial o pigmentaria. En el curso del desarrollo, las capas retinianas anteriores (desde la granulosa interna hacia adelante) de los mamí-

feros, son invadidas por los capilares sanguíneos, mas no por los elementos conjuntivos mesodérmicos.

Estudiaremos en la retina, de acuerdo con los autores más modernos, diez capas o zonas distintas que, contando de dentro a fuera, son: 1.^a, *limitante interna*; 2.^a, la de las *fibras del nervio óptico*; 3.^a, la *capa de células ganglionares*; 4.^a, *capa plexiforme interna*; 5.^a, *capa de las células bipolares* o de los *granos internos*; 6.^a, *capa plexiforme externa*; 7.^a, *capa de los cuerpos de las células visuales* o zona de los *granos externos*; 8.^a, *capa limitante externa*; 9.^a, *capa de los conos y palitos* o *bastoncitos*; 10.^a, *capa pigmentaria*.

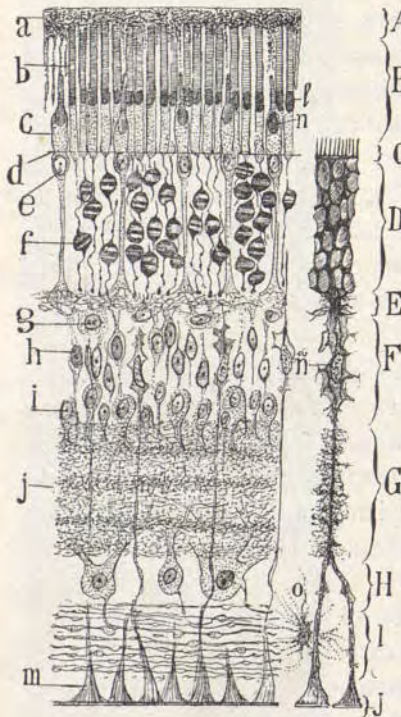


Fig. 336. — Corte perpendicular de la retina del perro. A, capa pigmentaria; B, de los bastones y conos; C, limitante externa; D, de los granos externos; E, plexiforme externa; F, de los granos internos; G, plexiforme interna; H, de las células ganglionares; I, de las fibras del nervio óptico; J, capa limitante interna; a, células pigmentarias; b, segmento externo de un bastón; c, cono; d, limitante externa; e, núcleo del cuerpo del cono; f, núcleo del cuerpo del bastón; g, célula horizontal; h, célula bipolar; i, espongioblasto o célula amacrina; j, zonas granulosas o pisos de la plexiforme interna; m, cono terminal de una fibra de Müller; o, célula de neuroglia; n, núcleo de las fibras de Müller. A la derecha de la figura se ve una fibra de Müller o célula epitelial.

Elementos neuróglícos o de sostén. — Los principales son las células epiteliales o fibras de Müller; elementos gigantes alargados que, arrancando de la zona limitante interna y cruzando perpendicularmente las capas nerviosas, se terminan al nivel de la limitante externa. Las limitantes mismas no representan otra cosa que la reunión en lámina delgada de las chapas o membranas en que rematan por sus extremos las citadas fibras de Müller. En su curso, a través de la retina, las células

epiteliales ofrecen diversos aspectos; comienzan a favor de un cono de base interna al nivel de la limitante (fig. 336, *J*), marchan, trazando alguna curva, por las zonas ganglionar y de fibras ópticas, y en las capas centrales de la retina emiten dos clases de expansiones: apéndices finos, granulados, rizados, para las dos capas plexiformes; expansiones laminosas moldeadas en foseas y dispuestas en una trama como esponjosa para las zonas de los granos (figuras 336 y 337).

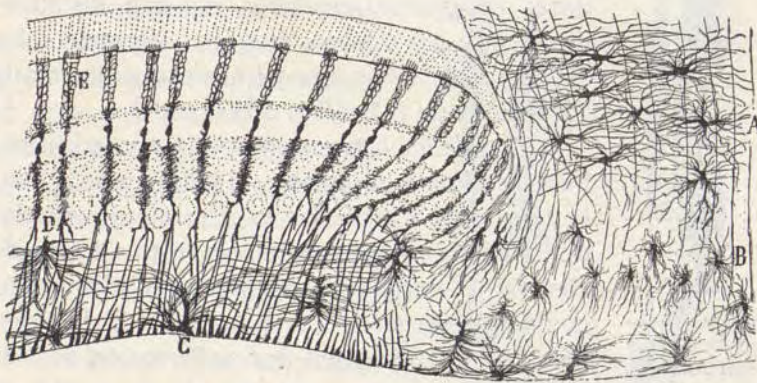


Fig. 337. — Células epiteliales y neuróglicas de la retina y nervio óptico. *A*, células del nervio óptico; *B*, neuroglia de la papila; *C*, neuroglia de la capa de fibras ópticas; *D*, *E*, fibras de Müller.

El cuerpo de la célula de Müller posee un núcleo prolongado, residente al nivel de la zona de los granos internos (figura 336, \bar{n}).

Por último, de la chapa terminal externa o limitante externa parten hacia afuera finos hilos que sirven para separar los conos y bastones (fig. 336, *C*). Las expansiones partidas de una célula de Müller tocan las emanadas de las vecinas, pero sin anastomosarse jamás. Los huecos resultantes alojan los elementos nerviosos de la retina, los cuales quedan perfectamente aislados dinámica y anatómicamente.

A más de las células epiteliales, la capa de fibras del nervio óptico contiene células de neuroglia en forma de araña y en-

teramente iguales a las de la sustancia blanca de los centros (fig. 337, C).

Capa pigmentaria. — Está constituida por un estrato de células alargadas que contiene cristales de pigmento en su interior. La extremidad externa de estas células es maciza, encierra el núcleo y forma un pavimento exagonal bastante regular; mientras que la interna aparece descompuesta en numerosos hilos granulosos, a veces portadores de granos melánicos, los que, insinuándose entre los conos y bastones, forman a los extremos de éstos una atmósfera pigmentaria absorbente de la luz (fig. 336, a).



Fig. 338. — Célula epitelial de la retina de la rana. e, limitante externa; d, porción correspondiente a la capa plexiforme externa; c, mortaja para los espongioblastos; b, apéndices para la capa plexiforme interna; a, huecos para las células ganglionares; f, capa limitante interna.

Capa de los bastones y conos, llamada también *membrana de Jacob.* — Por fuera de la limitante externa y entre las expansiones profundas de las células pigmentarias, se ve una hilera de elementos alargados, rectilíneos y dispuestos como las estacas de una empalizada. Estos corpúsculos se distinguen por su forma en dos variedades: los *bastones* y los *conos*.

Los *bastones* son filamentos cilíndricos, de contorno rectilíneo y de una longitud de 60 μ por 2 ó 2 y media μ de anchura; están mezclados a los conos e implantados perpendicularmente sobre la limitante interna; constan de dos segmentos que se distinguen por sus diversas propiedades, aunque son conocidos substancialmente: el *externo* y el *interno*. El *externo* es hialino (fig. 339, f), birrefringente, colorable en negro por el ácido ósmico, incolorable por el carmín, y ofrece ciertos canales delgados, longitudinales, que le prestan aspecto estriado a lo largo. El agua salada le descompone en discos transversales sumamente delgados, especie de chapas epiteliales reunidas por un cemento sumamente alterable; y a su alrededor existe una membrana homogénea, formada, según Kühne, de *neurokeratina*. El *segmento interno*

es más grueso (A), algo más abultado en su región central, de aspecto granuloso, coloreable por el carmín e incoloreable por el ácido ósmico. Cerca de su continuación con el externo encierra un glóbulo alargado, de forma semielipsoidea (corpúsculo semielipsoideo) constituido por una materia poco afine del carmín y hematoxilina, y estriada finamente en sentido longitudinal (fig. 339, g).

La retina fresca es de color rojo uniforme, excepto en la *fovea centralis*. Esta coloración se debe a la presencia de una materia colorante sensible a la luz actínica, exclusivamente depositada en los artículos externos de los bastones (*púrpura visual, rodopsina, fotoestesina, etcétera*).

Los *conos*, más cortos que los bastones y mucho menos numerosos que éstos, excepto en la foseta central, donde se encuentran de un modo exclusivo, son elementos gruesos y de una forma que puede compararse con la de una botella. También poseen los conos dos segmentos de propiedades análogas a las de los bastones (figura 339, B); sólo que el interno, que corresponde a la parte más gruesa, encierra un corpúsculo elipsoideo mucho más robusto (fig. 339, h).

En la serie animal ofrecen importantes variaciones de dimensión y forma los conos y los bastones. Así, en los batracios y peces, los bastones son recios y de tamaño colosal, en tanto que los conos son finos y cortos y se-

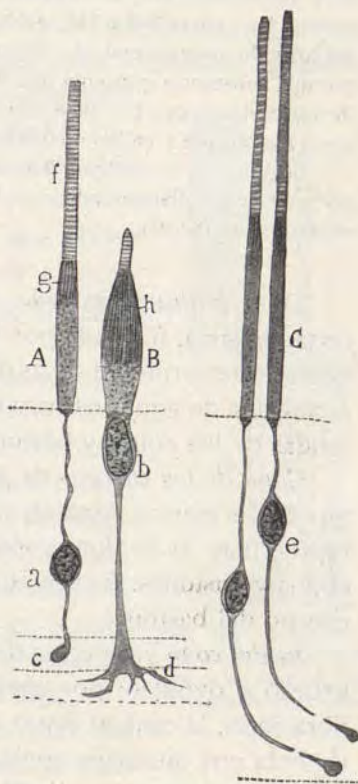


Fig. 339. — Detalles de los conos y bastones de la retina humana (preparación por disociación). B, cono, y A, bastón de la región periférica o principal de la retina; C, conos finos y largos de la foseta central.

mejantes a los de los mamíferos (fig. 348, *c*). Añadamos que en la rana, además de los bastones coloreados en rojo por la rodopsina, los hay también teñidos de verde (bastones verdes).

En los reptiles parecen faltar los bastones (fig. 349), y en las aves son muy poco numerosos, dominando enormemente los conos, cuya forma aparece en las figuras 340 y 347, A. Repárese un detalle interesante: en la unión del artículo interno con el externo reside una esfera refringente, formada por una substancia grasienta que lleva en disolución una materia colorante de tonos diferentes. En unos casos la esfera es roja, en otros amarilla, en otros anaranjada y en los menos azul y verdosa.

Según se ve en la figura 340, *a*, los susodichos granos yacen a nivel un poco diferente, disponiéndose en la misma línea los correspondientes a un mismo matiz (Scott).

Capa limitante externa (fig. 336, *d*). — Es una cutícula recta, finísima, formada por la reunión de las chapas que guardan exteriormente a las fibras de Müller. Esta chapa está acribillada de agujeros para el paso de las prolongaciones profundas de los conos y bastones.

Capa de los cuerpos de los elementos visuales. — Los cuerpos de las células visuales, llamadas también *granos externos*, representan la prolongación protoplásmica profunda de los conos y bastones. Es preciso distinguir el cuerpo del cono del cuerpo del bastón.

El del cono yace cerca de la limitante, poseyendo un núcleo grueso y ovoideo; por abajo el protoplasma se continúa en fibra recta, la cual, al llegar a la zona plexiforme externa, experimenta una dilatación cónica (*pie del cono*), de cuyo contorno basilar emergen algunas fibrillas horizontales libremente terminadas (figuras 341, *B*, *d*, y 342).

El *cuerpo del bastón* (figuras 336, *f*, y 342, *d*) reside a distintas alturas de la zona que estudiamos y encierra un núcleo ovoideo de menor tamaño que el del cono, y cuya cromatina homogénea está dispuesta en zonas transversales alternadas con fajas acromáticas. Siendo los cuerpos de los bastones más numerosos que los de los conos, se ven obligados a constituir muchas hileras, las cuales son tanto más abundantes cuanto más finos se muestran los bastoncitos. El protoplasma se estira en dos fibras, ascendente y descendente: la expansión ascen-

dente, fina y varicosa, se continúa con un bastoncito, mientras que la descendente, también delicada, baja hasta la zona plexiforme externa, donde acaba mediante una esferita completamente libre y exenta de ramillas (fig. 342, c).

Capa plexiforme externa. — Es el punto de entrecruzamiento de numerosas expansiones protoplásmicas, emanadas de las células de la capa subyacente (granos internos), así como de muchas fibrillas basilares procedentes de los pies de los conos.

Esta zona debe dividirse en dos pisos, *superior e inferior*. Cada uno de ellos es paraje de empalme de una categoría particular de células nerviosas.

El *piso superior* es el punto de reunión y contacto (fig. 342, c) de las esférulas terminales de los bastoncitos y de los penachos ascendentes de ciertas bipolares (bipolares para bastón). El *piso inferior* (figura 342, z, C) es el punto de concurrencia y contacto de los pies y fibrillas basilares de los conos, por un lado, y de las expansiones superiores aplanadas de ciertas bipolares, por otro (bipolares para cono).

Capa de las células bipolares o de los granos internos. — Es esta zona la más complicada de la retina, debiendo subdividirse, para el mejor orden descriptivo, en tres subzonas: 1.^a, subzona de las *células horizontales* (subreticulares, estrelladas, etc., de ciertos autores); 2.^a, de las *células bipolares*, y 3.^a, de los *espongioblastos*.

a) *Células horizontales.* — Estudiadas por Krause y Schieferdecker en casi toda la serie de los vertebrados, sólo han sido conocidas regularmente después de los trabajos de Tartuferi, Dogiel y los nuestros. En los mamíferos, estas células forman dos variedades, amén de alguna subvariedad menos importante: células horizontales pequeñas o externas, y células horizontales grandes o internas (fig. 341, b, c).

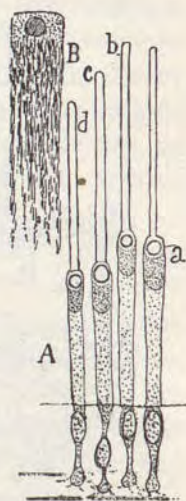


Fig. 340. — Conos de la paloma. A, artículos internos de los conos; B, célula pigmentaria; a, esferas coloreadas.

Las *células horizontales pequeñas* son aplanadas, estrelladas y yacen inmediatamente debajo de la zona plexiforme externa. De su periferia brotan numerosas expansiones divergentes y ramificadas, que constituyen, debajo de los pies de los conos, un plexo muy tupido. El cilindro-eje es fino, dirígese horizontalmente por la zona referida, y a distancia variable acaba des-

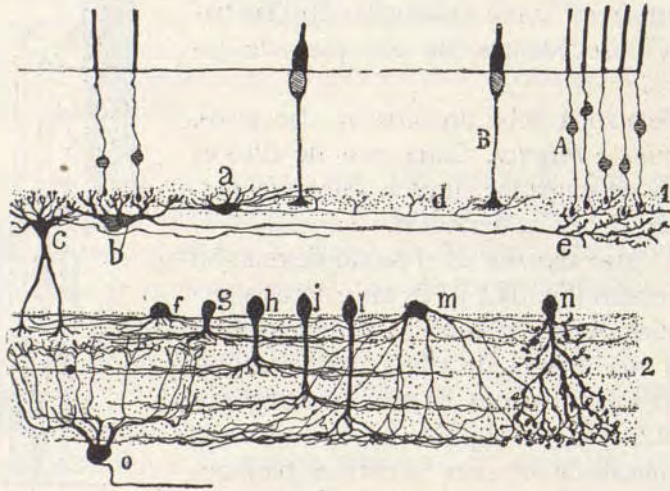


Fig. 341. — Corte perpendicular de una retina de mamífero. A, cuerpo de los bastones; B, cuerpo de los conos; a, célula horizontal pequeña; b, célula horizontal grande; c, célula horizontal con expansión protoplásmica descendente; e, arborización terminal de un cilindro-eje de célula horizontal; f, g, h, j, l, m, n, variedades de espongioblastos; o, célula ganglionar biestratificada.

componiéndose en algunas ramitas terminales; en su trayecto emite numerosas colaterales ramificadas y libres (fig. 341, a).

Las *células horizontales grandes* (fig. 341, b, c) yacen por lo general en un plano más interno que las precedentes, de las que se distinguen además por su gran robustez. Sus expansiones protoplásmicas son espesas, horizontales y rematan a no mucha distancia a favor de ramitas cortas, digitiformes y ascendentes. La expansión nerviosa es robusta y horizontal, y fué ya vista por Tartuferi. Dogiel, que la ha impregnado intensamente con el azul de metileno, supone que, tras un curso

horizontal variable, desciende bruscamente a través de las capas retinianas, para continuarse con una fibra del nervio óptico; pero en nuestro sentir, el sabio ruso ha sido víctima de una ilusión, explicable por lo difícil que es apreciar, en retinas vistas de plano y coloreadas por dicho reactivo, el curso total de las fibras nerviosas y el plano real donde yace cada célula. De nuestras nuevas observaciones resulta que los tales cilindro-ejes no bajan nunca de la zona plexiforme externa, sino que, después de un trayecto larguísimo, se terminan en ella a favor de una arborización varicosa de notable extensión. Cada fibra de semejante ramificación envía hacia el piso de las esférulas de los bastoncitos una ramita corta acabada por una varicosidad (fig. 341, e).

Como variedad de células horizontales grandes o internas, debe mencionarse una especie caracterizada, aparte las propiedades supradichas, por exhibir una o dos expansiones protoplasmáticas descendentes que se ramifican en la zona plexiforme interna (fig. 341, c). Tartuferi y Dogiel creen que todas las células horizontales grandes poseen expansiones descendentes; pero nuestras investigaciones ponen fuera de duda la existencia de células de esta especie exentas de tales apéndices.

b) *Células bipolares*. — Como demostraron Tartuferi y Dogiel, estas células son fusiformes y poseen dos expansiones: ascendente y descendente. La descendente es siempre única, y cesa, a distintas alturas de la zona plexiforme interna, por un penacho aplanado; la ascendente es a menudo múltiple, y forma una abundante ramificación que se dispone horizontalmente en el piso inferior de la zona plexiforme externa (fig. 342, C, z). Nuestras indagaciones nos permitieron añadir a la descripción de dichos autores los siguientes datos:

1.º Tanto el penacho formado por la expansión ascendente como el constituido por la descendente, acaban por ramitas varicosas y libres. No existen, por tanto, las redes que dichos sabios, influidos por el ambiente científico en que escribieron, han descrito en los planos de arborización de tales expansiones.

2.º Las células bipolares no son todas iguales, existiendo entre ellas notables diferencias de forma y de magnitud. Las

principales variedades son: 1.^a Células bipolares de penacho ascendente fino, terminando libremente entre las esferitas de los bastones (fig. 342, *c*). Como éstas se alojan precisamente entre las fibrillas de dicho penacho y como hasta ellas no llegan las expansiones de otros elementos, no queda más recurso que considerar tales bipolares como los corpúsculos destinados a

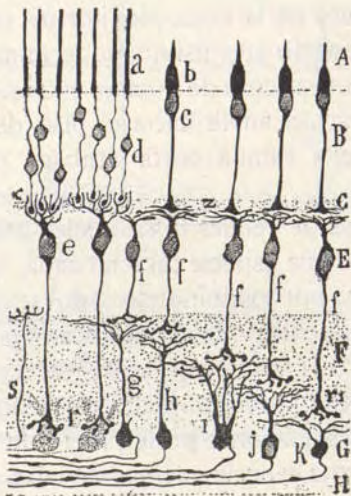


Fig. 342. — Células de la retina de un mamífero. A, capa de los conos y bastones; *d*, cuerpo de los bastoncitos; *e*, *f*, especies de bipolares o granos internos; C, capa plexiforme externa; E, capa de los granos internos; F, capa plexiforme interna; G, capa de las células ganglionares; *a*, bastones; *b*, cono; *e*, bipolares para bastones; *f*, bipolares para cono; *s*, fibras centrifugas; *g*, *h*, células gangliónicas destinadas respectivamente al primero y segundo piso de la capa plexiforme interna; *i*, *j*, *k*, ganglionares ramificadas en los pisos inferiores; H, capa de las fibras del nervio óptico; *r*, pies terminales de las bipolares de bastón.

recoger la actividad específica acarreada por los bastoncitos. De aquí el nombre de *bipolares para bastones* que nosotros las hemos dado.

2.^a Células bipolares de penacho aplanado, ramificado en el piso segundo de la zona plexiforme externa, paraje donde se dilatan las fibrillas basilares de los conos (fig. 342, *z*). Esta coincidencia de posición nos ha hecho calificar dichas células de *bipolares para los conos*, porque, dada la disposición de su

penacho externo, sólo con éstos pueden conexionarse (figura 342, *f*).

3.^a El penacho inferior de todas, o al menos de la mayor parte de los bipolares para bastones, se aplica al cuerpo de las células de la capa ganglionar, mientras que el penacho descendente de las bipolares para conos se termina sobre uno cualquiera de los pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna (fig. 342, *F*).

c) Espongioblastos o células amacrinas (1) (figuras 336, *i*, y 341, *f, g, h*). — Habitan en la parte más profunda de la zona de los granos internos y sus expansiones todas dirígense hacia abajo, ramificándose en la zona plexiforme interna, donde acabarían, en sentir de varios autores, formando redes horizontales. Nuestras observaciones, tocante a estos singulares corpúsculos (exentos de cilindro-eje, como ha demostrado Dogiel), nos permiten afirmar los siguientes extremos:

1.^o Cada uno de los cuatro o cinco pisos de arborización que contiene la forma plexiforme interna posee sus amacrinas propias, o, en otros términos, entre estos elementos cabe distinguir cuatro o cinco categorías, según el plano de la zona mencionada adonde envían su arborización terminal. Hay, pues, espongioblastos o amacrinas cuyo tallo o tallos se ramifican en el primer piso, espongioblastos cuya expansión se arboriza en el segundo, y así sucesivamente (fig. 341).

2.^o Además de las amacrinas, que sólo suministran ramitas para un piso de la zona plexiforme interna, y que por tal disposición pueden calificarse de *estratificadas*, existen otras cuyas expansiones se distribuyen por casi todo el espesor de dicha zona, por lo que pueden llamarse *amacrinas difusas* (figuras 348, *K, n*, y 341, *m, n*). No obstante, la mayor parte de las ramitas de ésta se acumulan en el piso más inferior.

3.^o A cada piso de la zona plexiforme interna donde se acumulan tantas arborizaciones de amacrinas, vienen a conver-

(1) Como lo característico de los espongioblastos es carecer de cilindro-eje o expansión larga, nosotros los hemos designado *células amacrinas*, de *a*, partícula privativa; μακροζ largo, e ζωζ, fibra. Véase Cajal: *La rétine des vertèbres. Le Cellule*, tomo IX, 1892.

ger por debajo extensas ramificaciones horizontales formadas por las expansiones protoplásmicas de los corpúsculos ganglionares.

En resumen; cada piso parece constar: de un plano externo formado por las ramitas de las amacrinas; un plano interno constituido por las arborizaciones de las células ganglionares monoestratificadas, y un plano medio donde se alinean los penachos inferiores de las células bipolares para cono, y acaso (aunque esto no está probado aún) algunos otros pertenecientes a las de bastón. Estos tres plexos de fibras no están rigurosamente separados, pues las ramas de cada uno suben o bajan en diferentes puntos, entrelazándose íntimamente y formando una especie de fieltro tupidísimo.

Nuestros estudios (1) realizados en la retina de las aves nos han probado la existencia de un tipo especial de espongioblastos, que hemos llamado *espongioblastos de asociación*. Trátase de células piriformes, de cuya expansión única y descendente brotan dos clases de expansiones: dos o tres cortas, groseras, con aspecto de apéndices protoplásmicos, que se ramifican en el plano más externo de la capa plexiforme interna; y un axon o prolongación larguísima, horizontal, que caminando por el espesor del cuarto externo de la citada plexiforme, se dilata en una arborización horizontal sumamente tupida. Esta arborización entra en relación con los tallos descendentes de un grupo de amacrinas, situado a gran distancia; acaso se pongan también en contacto con las expansiones descendentes de las bipolares. Detalle interesante: con los somas de los referidos espongioblastos de asociación mantienen conexión las arborizaciones terminales de las fibras centrifugas (fig. 346, b).

Capa plexiforme interna (fig. 336, J). — Con lo anteriormente expuesto queda substancialmente descrita esta zona retiniana. Ella representa el punto de empalme de tres especies celulares: los *espongioblastos*, las *células bipolares* y los *corpúsculos ganglionares*. En los mamíferos esta capa encierra además, aunque con rareza, algunos espongioblastos horizontales, cuyas ramas se pierden en uno de los varios pisos antes descritos.

(1) Cajal: «Nouvelles contributions à l'étude histologique de la rétine & *Jour. de l'Anat. et de la Physiol.*, & Tomo XXXII, núm. 5, 1896.

Capa de las células ganglionares (fig. 336, H, y 342, J, K, G). Así llamada por contener una o dos hileras de células nerviosas, gruesas, granuladas y en un todo comparables a las de las astas anteriores de la médula. Como es sabido, tales poseen un cilindro eje continuado con una fibra del nervio óptico, un cuerpo ovóideo, piriforme o semilunar, y expansiones

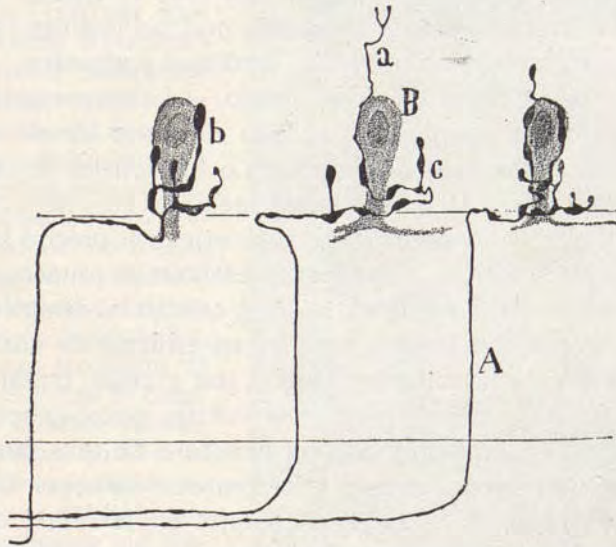


Fig. 343. — Fibras centrifugas de la retina de las aves. Coloración por el método de Ehrlich-Beth. A, fibra nerviosa; B, célula rodeada por la arborización; a, b, c, ramitas varicosas terminales.

protoplásmicas que, partiendo exclusivamente de la cara superior de aquél, se arborizan en plexos horizontales a diferentes alturas de la cara plexiforme interna. También aquí cabe hacer distinciones, según la forma de arborización protoplásmica superior. Todas las células ganglionares pueden distribuirse en tres clases:

1.^a *Células monoestratificadas* (fig. 342, g, h), cuyo ramaje protoplásmico se extiende por un solo piso de la zona plexiforme interna. Siendo cuatro o cinco estos pisos, hay células cuya arborización se terminará en el primero; otras, que envia-

rán sus expansiones al segundo; otras, que las remitirán al tercero, y así sucesivamente.

2.^a *Células poliestratificadas* (fig. 349, s), cuyo ramaje protoplásmico forma dos o más plexos concéntricos correspondientes a igual número de pisos de la capa plexiforme interna.

3.^a *Células difusas*, cuya arborización ascendente es laxa y se distribuye, sin estratificarse, en casi todo el espesor de la zona mencionada. Tocante al tamaño, podrían distinguirse las células ganglionares en pequeñas, medianas y gigantes.

Capa de las fibras del nervio óptico. — La mayor parte de los cilindro-ejes constitutivos de esta zona son simple continuación de las expansiones inferiores o funcionales de las células ganglionares. Pero un contingente de las tales debe considerarse como *fibras centrifugas*, cuyo origen es preciso buscar en los centros ópticos. Estas fibras, descubiertas primeramente por nosotros en la retina de las aves, adivinadas también por Monakow por inducciones basadas en estudios de anatomía patológica, y confirmadas por Dogiel, son gruesas, cruzan perpendicularmente la zona plexiforme interna, y acaban entre los cuerpos de los espongioblastos a beneficio de una ramificación corta, de ramitas espesas y fuertemente varicosas. Un estudio cuidadoso de estas ramificaciones en la retina de las aves (fig. 343, b) demuestra que la mayor parte de las ramitas terminales engendra un nido en torno de los cuerpos de los espongioblastos de asociación; otras ramitas se distribuyen por entre las amacrinas ordinarias (c). La extensión de la arborización terminal varía en las distintas especies animales; breve y casi reducida al nido pericelular en los pájaros y gallina, alcanza mayor extensión y difusión en la paloma, donde es facilísima de teñir con el azul de metileno.

Entre las fibras nerviosas de la capa que estudiamos se ve un gran número de células de neuroglia, las cuales son también muy abundantes en la papila y espesor del nervio óptico (fig. 337, B, C). Estas células en araña poseen numerosísimas expansiones granulosas, que, interponiéndose a los cilindro-ejes, impiden el contacto de éstos.

Limitante interna. — Está constituída exclusivamente por la

reunión en membrana continua de los extremos internos de las fibras de Müller (fig. 336, *J*), y es una cutícula hialina y correctamente contorneada, cuya cara interna es libre, mientras que la externa recibe el cono terminal de las citadas fibras.

Para terminar estos apuntes sobre la estructura de la retina, consignemos algunos datos referentes a la textura de sus neuronas.

Las células nerviosas de la retina coinciden estructuralmente con las neuronas del cerebro o cerebelo. Aparte del núcleo y del neuroplasma, encierran el armazón neurofibrillar, los grumos cromáticos de Nissl y el aparato de Golgi.

El *armazón fibrillar*, primeramente observado por Emden (método de Bethe), fué estudiado circunstancialmente por nosotros, van der Stricht y Sala. Muy rico, y de tipo fasciculado en las grandes células ganglionares, muéstrase laxo y de carácter reticulado en las pequeñas neuronas, así como en los elementos amacrinos o espongioblastos (fig. 344). Pero donde este esqueleto alcanza enorme desenvolvimiento es en las grandes células horizontales (*h*, *i*), cuyo soma y expansiones gigantescas alojan haces neurofibrillares finísimos, que el método del nitrato de plata reducido impregna en rojo intenso. En cambio, sólo rara vez se descubren neurofibrillas en los elementos bipolares (van der Stricht) y hasta ahora no se han percibido en los conos y bastones.

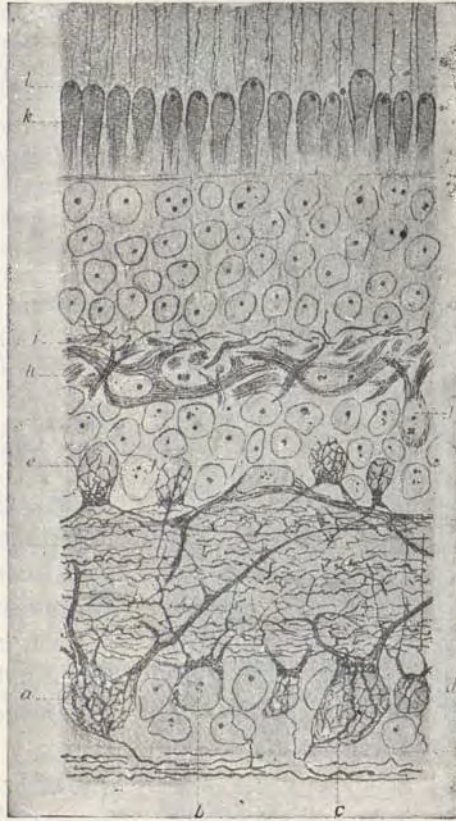


Fig. 344. — Neurofibrillas de la retina del gato joven. Método del nitrato de plata reducido. *a*, red de las células ganglionares; *c*, de las amacrinas; *h*, de los corpúsculos horizontales; *k*, articulo interno de los bastones; *l*, pequeña célula ganglionar.

Grupos de Nissl basiófilos, bien acusados, presentan solamente en las neuronas de la capa ganglionar y en tal cual espongioblasto de excepcional volumen.

En fin, el *aparato de Golgi*, señalado primeramente por nosotros (1910)



Fig. 345. — Aparato de Golgi de las células retinianas impregnadas con el método del formol-urano; A, células ganglionicas; B, D, amacrinas; C, bipolares; E, células horizontales; F, cuerpo de las células visuales; G, conos; a, b, limitantes (gato de veinte días).

en los gruesos corpúsculos ganglionarios, se revela en todos los elementos retinianos cuando la impregnación (proceder del uranofórmol) recae en animales de pocos días. La forma del citado aparato varía mucho, según mostramos en la figura 345, en cada tipo neuronal; en general, subordinase a la figura de éste. Así afecta disposición de red yuxtannuclear extensa (fig. 345, A) en las neuronas grandes; de pequeño y aplanado glomérulo, localizado entre el núcleo y el ramaje protoplásmico; en las células amacrinas (B), y de simple cordón axial contenido en la expansión protoplásmica o externa; en las bipolares (C) y cuerpo de las células visuales (F).

Marcha de las excitaciones luminosas en la retina. — Después de lo expuesto, nada más fácil que seguir el camino de la impresión recolectada por los bastones y conos. Mas como las conexiones de unos y otros son diversas, y es sumamente probable que cada especie de células visuales sea afectada por una cualidad diversa de la luz (los bastones por la intensidad luminosa incolora, los conos por los colores), conviene investigar separadamente el camino de la impresión recibida

por ambas especies de corpúsculos visuales.

Impresión recibida por los bastones. — Es llevada primeramente a la zona plexiforme externa, donde la toman las bipolares de penacho ascendente o de bastón, para conducirla

cuerpo mismo de las células ganglionares gigantes; desde este punto, el movimiento se propaga a lo largo de los cilindro-ejes de la capa de las fibras ópticas, corre después por los nervios y cintas ópticas y acaba en los cuerpos geniculados externos y tubérculos cuadrigéminos anteriores, donde se pone en conflicto con los penachos protoplásmicos periféricos de ciertas células nerviosas yacentes en estos órganos.

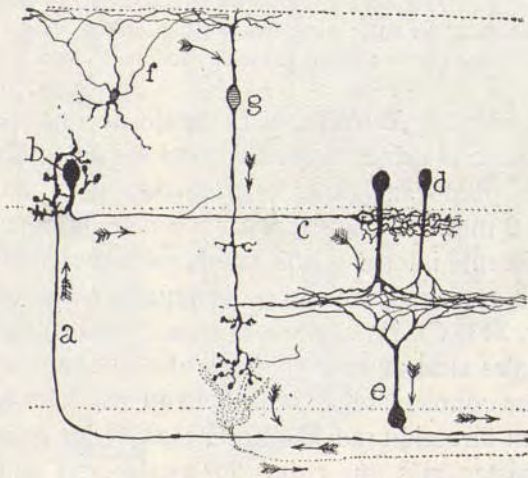


Fig. 346. — Marcha de la corriente nerviosa centrífuga en la retina de las aves. *a*, fibra centrífuga; *b*, amacrina de asociación; *d*, amacrinas comunes; *c*, corpúsculo gangliónico; *e*, célula bipolar. Las flechas señalan la dirección de las corrientes.

Impresión recibida por los conos. — Es, desde luego, conducida al piso profundo de la zona reticular externa, donde la recogen los penachos aplanados de las bipolares de cono; después, según sea la bipolar impresionada, la corriente se dirige a uno de los varios plexos de la zona plexiforme interna, donde la reciben los penachos protoplasmáticos de las células ganglionares; finalmente, los cilindro-ejes de éstas se encargan de la conducción ulterior hasta los centros ópticos.

Estas corrientes van a los centros; pero hay además impulsos nerviosos nacidos en los centros.

En la figura 346, *a*, mostramos la corriente aportada por las fibras centrifugas, las cuales se terminan en las aves sobre el cuerpo de un elemento especial ausente, al parecer, en los mamíferos, y descubierto por nosotros (nuestra *célula amacrina de asociación*). Mediante el axon horizontal de este corpúsculo, la corriente abordaría las amacrinas ordinarias, y desde ellos la articulación de las gangliónicas con las bipolares del cono, adonde llevaría alguna acción particular indispensable a la buena transmisión de la impresión luminosa. Los partidarios de la teoría del amiboidismo nervioso de Duval suponen que la mencionada corriente obraría poniendo en tusgescencia el protoplasma de las células en contacto, y por consiguiente, ajustando la articulación entre bipolares y gangliónicas, con que las corrientes recolectadas por los conos pasarían fácilmente hacia los centros.

Foseta central de la retina. — El paraje de esta membrana correspondiente al extremo posterior del eje del globo ocular presenta un punto adelgazado, producido por una excavación de 1 a 2 mm. de diámetro, a cuyo nivel la capa ganglionar, la plexiforme interna y una buena parte de la de los granos internos, han desaparecido o disminuído notablemente de espesor (fig. 347, *C*). En cambio, la zona de los cuerpos de las células visuales alcanza un gran desarrollo, y las fibras descendentes de los conos marchan oblicuamente hacia los bordes de la foseta y en dirección radiada. En la capa de los conos y bastones no existen más que conos, los cuales son aquí mucho más finos que en el resto de la retina (fig. 347, *B*).

Nuestras observaciones en la retina de las aves y reptiles, donde la *fovea* se halla muy desarrollada, nos permiten afirmar un hecho de cierta importancia, a saber: que el pie terminal de los conos, al llegar a la zona plexiforme externa, no suministra ramillas, sino que forma una especie de grano abrazado inferiormente por un diminuto penacho, continuado con las bipolares de la zona subsiguiente (fig. 347, *A*). De este modo el movimiento recogido por un cono se propagaría sin comunicaciones laterales a una sola bipolar, y ésta lo transmitiría quizá a una sola célula ganglionar también, lo que explicaría la notable acuidad visual de la *fovea centralis*. Por lo demás, los penachos descendentes de las bipolares, las células ganglionares, etc., se disponen substancialmente como en el resto de la retina; solamente que, a consecuencia de la pérdida de subs-

tancia que representa la fovea, todos estos elementos están inclinados hacia afuera y muchos de los enlazados dinámicamente con los conos de la *fovea*, se ven obligados a residir en los bordes de ésta y hasta en zonas más lejanas.

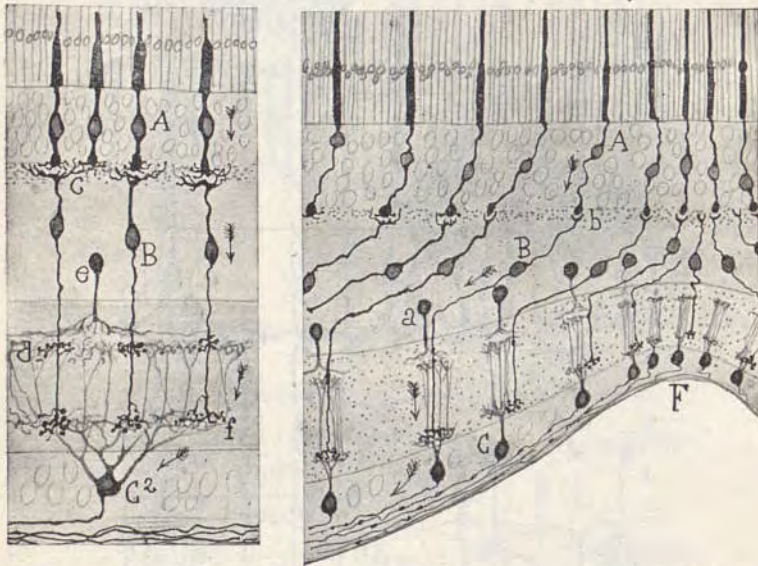


Fig. 347. — *Fovea centralis* de la retina de un pájaro. Nótese el contraste estructural existente entre la fovea misma (F) y las regiones retinianas algo alejadas de ella (figura de la izquierda). A, conos; B, bipolares; C, ganglionares; a, e, amacrinas.

Retina de los vertebrados inferiores. — Hemos hablado ya de las notables variantes morfológicas y estructurales que caracterizaban los conos y bastones de los vertebrados inferiores. Ahora vamos a añadir algunas noticias sobre la disposición de las demás zonas retinianas construídas en lo esencial, según el plan de las de los mamíferos.

En los *peces* la zona más variada es la de las células horizontales, en la cual habitan varias líneas de corpúsculos colosales, apretados y sumamente espesos, entre los que resaltan por singulares los más profundos, fusiformes y dotados de brazos robustos y larguísimos. Notables son también por lo vigorosas las bipolares de bastones, acabadas a favor de un pie recortado y grosero, sobre el cuerpo de los corpúsculos gangliónicos (figura 350).

En los *batracios* son de notar la existencia de dos clases de bastones

(con artículo interno delgado y con artículo interno grueso) (fig. 348, *a* y *b*) y la cortedad relativa de los conos (fig. 348, *c*). Las bipolares, asimismo de dos especies, suelen exhibir una fina expansión radial (maza de Landolt), terminada al nivel de la limitante externa (*f*). A veces el grano de la bipo-

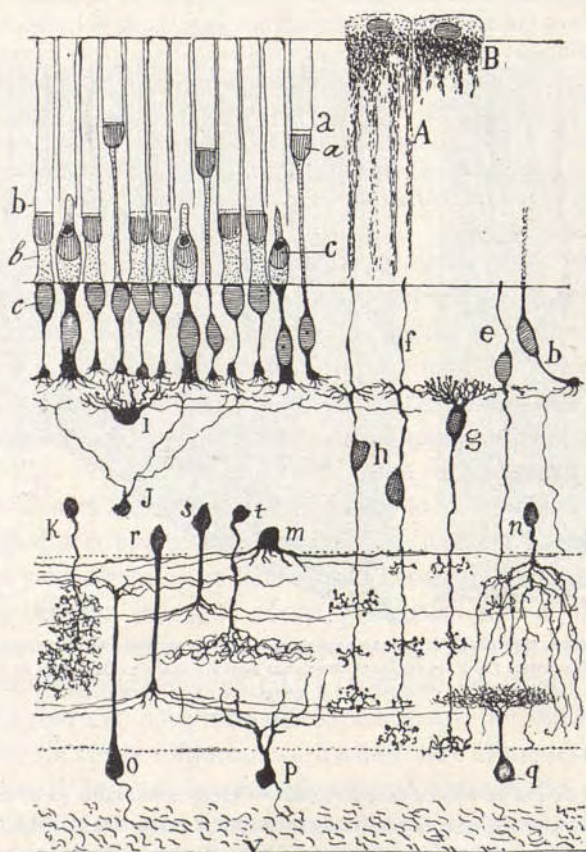


Fig. 348. — Retina de la rana (figura semiesquemática). *a*, bastón de maza; *b*, bastón ordinario; *c*, cono; *i*, célula horizontal; *e*, bipolar dislocada; *f*, maza de Landolt; *h*, bipolares; *r*, *n*, *m*, amacrinas; *o*, *p*, células gangliónicas.

lar reside al nivel de los cuerpos de los conos (*e*). Inferiormente ofrecen estos mismos corpúsculos penachos colaterales extendidos por los pisos de la plexiforme interna. Reparemos además en las amacrinas monopolares y monoestratificadas de finas y larguísimas radiaciones horizontales (figura 348, *r*, *s*).

En los reptiles (fig. 349, *a*) los conos, bastante prolongados, encierran también, como los de las aves, esferas coloreadas, y sus granos, prolongados verticalmente, se ordenan en dos o tres pisos. Vense conos gemelos, es decir, formados por dos cuerpos, de los que uno ofrece una cavidad

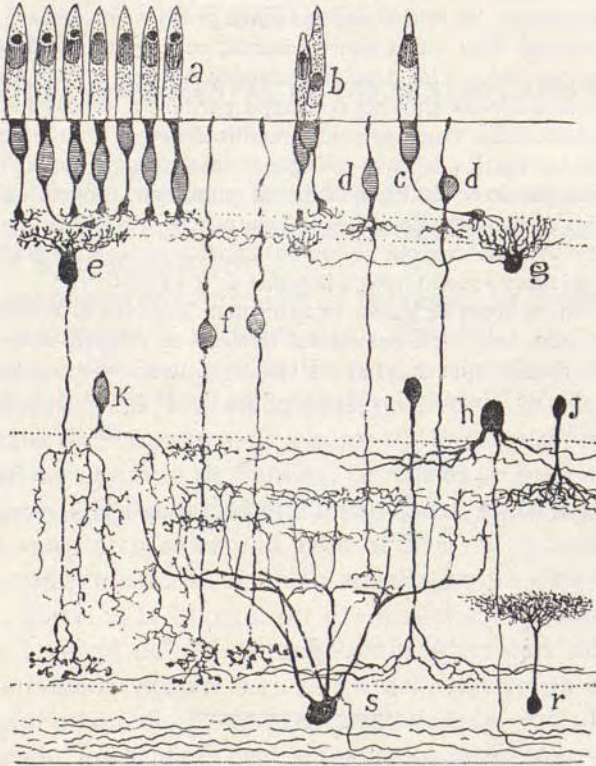


Fig. 349. — Retina de un reptil (figura semi-esquemática); *a*, conos; *b*, conos gemelos; *d*, bipolar dislocada; *e*, bipolar especial sin mazas de Landolt; *j*, *k*, *i*, amacrinas; *s*, células gangliónicas; *r*, amacrina dislocada; *h*, ganglionar dislocada.

para la recepción del otro y envía su gránulo inferior a plano distinto de la capa plexiforme que el compañero (*b*). Las células horizontales son pequeñas y están provistas de una fina brocha ascendente de dendritas (*g*). En fin, las amacrinas exhiben formas variadísimas y elegantes, a las que no van en zaga las gangliónicas pluriestratificadas, de cuya belleza y complicación damos idea en la figura 349, *s*. Añadamos aún la existencia de gangliónicas dislocadas (*h*) y residentes entre las amacrinas, la de bipolares

dislocadas (*d*), y por último, la de amacrinas finas, descendidas al piso de los elementos gangliónicos (*r*).

En las aves reconócese todas las particularidades de la retina de los reptiles, aumentando, si cabe, la riqueza, variedad y complicación de forma, de amacrinas y gangliónicas (fig. 347). Las bipolares están dotadas a menudo de mazas de Landolt (1) y sus fibras descendentes generan varios pisos horizontales. No faltan tampoco conos gemelos, amacrinas y gangliónicas dislocadas. Esta retina ofrece, además, un singular corpúsculo hasta hoy no sorprendido en los demás vertebrados, a saber: la amacrina de asociación ya mencionada, provista de cuerpo periforme, dendrita corta inferior y un larguísimo axon horizontal ramificado en la frontera de la zona plexiforme interna. Ya dejamos consignado más atrás que sobre dicho interesante corpúsculo se ramifican las fibras centrífugas, robustísimas y fáciles de teñir en las aves. En el buho, lechuza, etc., los conos son escasos, dominando los bastones, que se comportan en la zona de los granos externos casi del mismo modo que en la retina de los mamíferos.

También las fibras de Müller experimentan interesantes mutaciones en los vertebrados inferiores. Semejantes variantes se refieren, sobre todo, a la porción inferior, que en las aves y reptiles se descompone en un magnífico penacho, de hilos terminados por otros tantos conos en la capa limitante interna.

(1) Expansiones finas penetrantes en la zona de los granos externos (Figuras 354, *f*, y 353, *f*, *e*.)

CAPÍTULO XII

TEXTURA FUNDAMENTAL DE LOS CENTROS NERVIOSOS

Todo centro nervioso, la médula, el cerebro, cerebelo, etc., consta de dos tramas de composición diferente: la *substancia blanca* y la *substancia gris*.

La *substancia blanca* resulta de la reunión de las fibras nerviosas nacidas en la *substancia gris*, las cuales se continúan con la expansión funcional de los corpúsculos de cilindro-eje largo. Estas fibras son meduladas y carecen de núcleos, de membrana de Schwann y de cisuras de Lanterman, pero poseen estrangulaciones de Ranvier, las cuales se ponen de manifiesto por el método de Ehrlich (fig. 350, *e, d*). El azul de metilo tiñe muy intensamente el axon al nivel de las estrangulaciones, comprobándose también aquella ley más atrás enunciada, a saber: toda bifurcación o emergencia de colateral se verifica al nivel de una estrangulación. Asimismo cabe establecer en ésta la existencia en torno del axon de un cemento dispuesto, no en disco, sino en forma de tubo más o menos prolongado, mediante el cual se juntan los extremos de la mielina, que se hallan mucho más separados entre sí en los tubos centrales que en los periféricos. En ciertas fibras, la porción del axon rodeada del cemento aparece decolorada, con lo que la estrangulación resulta formada por dos bandas azules limitadas por una zona incolora o débilmente teñida (1). Entre ellas existe un plexo tupido, formado por el entrecruzamiento de las expansiones de las células neuróglícas.

(1) Cajal: El azul de metileno en los centros nerviosos. *Revista trimestral micrográfica*, núm. 4, 1896.

La *substancia gris* está constituida por las siguientes partes: 1.^a, células nerviosas de cilindro-eje largo; 2.^a, células nerviosas de cilindro-eje corto; 3.^a, fibras nerviosas terminales arriadas de otros centros; 4.^a, un plexo de finas ramitas colaterales emanadas, tanto de los tubos de la *substancia blanca* conti-

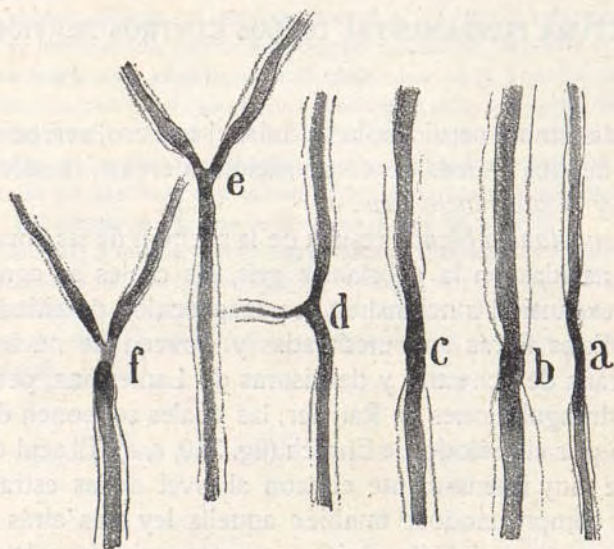


Fig. 350. — Detalles de las estrangulaciones de la *substancia blanca* del cerebro del gato. Método de Ehrlich; a, b, c, estrangulaciones; d, nacimiento de una rama colateral; e, f, bifurcaciones.

gua, como del trayecto *intragris* de los cilindro-ejes largos, cuyas células de origen habitan en la *substancia gris*. En algunas regiones de los centros, la *substancia gris* contiene también células de neuroglia.

Los centros de *substancia gris*, cuya disposición estructural ofrece caracteres especiales bastante conocidos, son: la médula espinal, el cerebelo, el cerebro, el bulbo olfatorio y los ganglios cerebroraquídeos y simpáticos.

MÉDULA ESPINAL

Cuando se examina al microscopio un corte de médula espinal, teñido por el carmín o por la hematoxilina, obsérvanse dos partes de aspecto diverso: una, periférica, constituida por tubos nerviosos longitudinales paralelos al eje de la médula y llamada *substancia blanca*; otra, central, formada por células nerviosas y un plexo de fibrillas o ramificaciones de cilindro-ejes (astas de *substancia gris*). En el eje de la *substancia central*



Fig. 351. — Corte transversal de la médula cervical del hombre. A la derecha representamos las fibras nerviosas meduladas; a la izquierda, los diversos manojos en que se divide la *substancia blanca*: A, asta anterior; B, asta posterior; R, *substancia de Rolando*; \bar{B} , cordón de Burdach; G, cordón de Goll; J, vía piramidal cruzada; I, vía piramidal directa; C, fascículo cerebeloso ascendente; D, fascículo de Gowers; F, porción fundamental del cordón anterolateral; M, manojos del asta posterior; H, manojos de fibras comisurales; L, zona marginal de Lissauer; N, porción fundamental del cordón posterior; a, raíz anterior; b, raíz posterior; c, haz reflejo-motor; d, comisura anterior; e, comisura posterior; f, fibras del asta anterior.

o gris yace un conducto fino prolongado con las cavidades del encéfalo (fig. 351, E).

Topografía de la sustancia blanca. — Considerando el conjunto de la sustancia blanca, se ve que está dividida en dos mitades laterales por dos surcos longitudinales medios, uno anterior y otro posterior (fig. 351). Un delicado surco anterolateral, poco aparente y correspondiente al arranque de las raíces anteriores (*a*), y otro posterolateral, más acusado y emplazado en la emergencia de las posteriores (*b*), subdividen cada mitad de su sustancia blanca en tres cordones: *anterior*, *lateral* y *posterior*. En la región cervical y parte de la dorsal, el cordón posterior todavía muestra una subdivisión en dos haces: el *interno* o *cordón* de Goll (fig. 351, G), y el *externo* o de Burdach (fig. 351, B).

Los estudios anatómicos de estos últimos lustros, así como los resultados obtenidos por el método embriológico de Flechsig y el de las degeneraciones secundarias de Gudden, Charcot, Turck, etc., han revelado en la sustancia blanca categorías o sistemas de fibras, caracterizados por tener un mismo origen e idéntica significación fisiológica. En la figura 351 reproducimos algunos sistemas de fibras, que son: 1.º, la *vía piramidal directa*, manojó descendente emplazado en el fondo de la cisura anterior, por dentro del cordón anterior (fig. 351, I); 2.º, la *vía piramidal cruzada*, manojó descendente mucho más robusto, situado en el espesor del cordón lateral, junto al posterior (fig. 351, J); 3.º, la *vía cerebelosa ascendente*, que yace superficial por fuera de la vía piramidal cruzada (fig. 351, C); 4.º, el *fascículo anterolateral ascendente* o de Gowers (figura 351, D), vía colocada por delante de la precedente y dirigida también al cerebelo (Lowenthal, Mott, etc.); 5.º, la *zona limitante del cordón lateral* (fig. 351, M) o *manojó del asta posterior* (Cajal), vía corta emplazada por dentro de la piramidal cruzada, tocando a la sustancia gris del asta posterior; 6.º, *zona marginal de Lissauer* (fig. 351, L), campo formado por fibras finísimas, situado detrás de la sustancia de Rolando, junto a la entrada de la raíz posterior; 7.º, *manojó de las fibras comisurales* (Cajal), área de forma irregular, situada en lo interno

del cordón anterior, por fuera y debajo de la vía piramidal directa (fig. 351, *H*), etc.

Topografía de la substancia gris. — La substancia gris está concentrada en un eje vertical, del cual proceden cuatro aletas o expansiones, llamadas *astas*: dos anteriores, anchas,

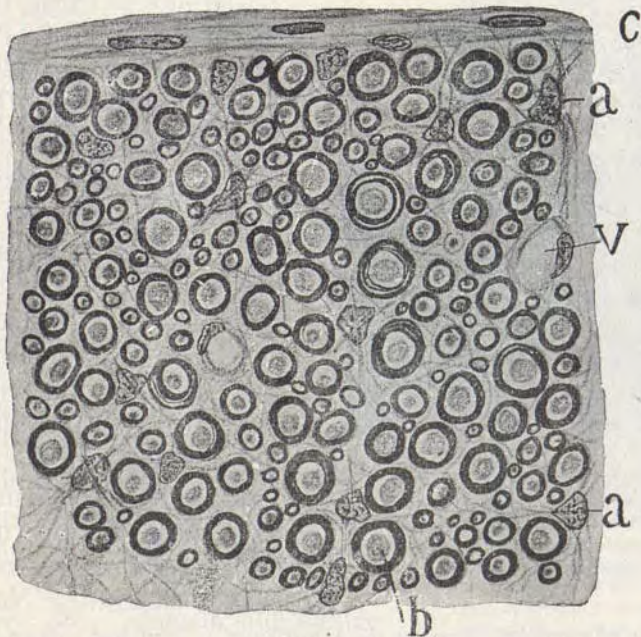


Fig. 352. — Trozo de corte transversal de la substancia blanca de la médula espinal del buey. Método del ácido ósmico; *a*, célula de neuroglia; *b*, axon de un tubo medulado; *v*, vaso capilar; *c*, cubierta conectiva de la médula espinal.

redondeadas, penetrantes en el espesor del cordón anterior (*A*); dos posteriores, más delgadas, que ingresan en el espesor del cordón posterior. El *asta posterior* comprende dos zonas de apariencia diversa, *asta posterior propiamente dicha*, constituida por células de mediana talla (fig. 351, *P*), y *substancia gelatinosa* de Rolando (fig. 351, *R*), especie de casquete que recubre el cabo posterior del asta y que consta de células pequeñísimas, separadas por plexos fibrilares apretados. En la región

lumbar y parte de la dorsal, la porción interna de la base del asta posterior encierra un acúmulo celular vertical, que se ha designado *columna vesiculosa* de Clarke. Finalmente, entre las dos astas anteriores, y por bajo del fondo del surco anterior, existe un plano de fibras medulares (*d*) que parece juntar ambas astas (*comisura blanca o anterior*), y entre las dos astas

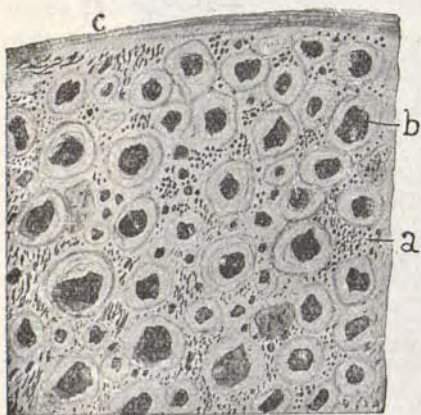


Fig. 353. — Trozo del cordón lateral de la médula del conejo. Método del nitrato de plata reducido; *b*, axon de fibra gruesa; *a*, fibras finas, probablemente ameduladas, invisibles en los preparados del ácido ósmico.

posteriores se hallan, como lazo de unión, dos o tres cordones transversales de fibras finas, en gran parte ameduladas, que han tomado el nombre de *comisura posterior o gris* (fig. 351, *e*).

Textura de la sustancia blanca. — Al microscopio aparece formada esta sustancia por una infinidad de tubos nerviosos verticales, paralelos, de calibres muy diversos y separados por una trama tupida de células de neuroglia. Cada tubo nervioso contiene: un cilindro-eje colorable

por el carmín, la vaina de Mauthner y algunas estrangulaciones prolongadas que se pueden distinguir en dos especies: estrangulaciones rectas exentas de colaterales, y estrangulaciones angulosas de las cuales brota una fibrilla colateral. En los tubos más espesos cabe sorprender también las cisuras de Lantermann.

Como dejamos dicho más atrás, el azul de metileno tiñe intensamente estas estrangulaciones, denunciando la existencia de un forro de cemento destinado a juntar los cabos de la mielina.

Cuando se examina, con ayuda del método de Golgi, la sustancia blanca medular de embriones de ave o de mamíferos, así como la de mamíferos recién nacidos, se advierte que

las fibras nerviosas que la forman no son otra cosa que cilindro-ejes de células de la sustancia gris, los cuales, después de marchar transversalmente hacia la periferia, se hacen verticales para reingresar, tras un curso más o menos largo, al espesor de las astas medulares. La mayoría de estas fibras poseen vaina medular, pero existen también fibras finas, situadas entre las gruesas, que carecen quizá de cubierta mielínica, según ponen de manifiesto los preparados neurofibrilares (figura 353, *a*).

La mayor parte de estos cilindro-ejes acaban mediante arborizaciones extensas, varicosas y libres en el interior de la sustancia gris, donde se ponen en íntimo contacto con corpúsculos nerviosos. Representan, pues, estos cilindro-ejes verdaderas comisuras arciformes longitudinales tendidas entre dos o más pisos de la sustancia gris, disposición adivinada ya por los anatómicos antiguos, pero sólo probada indiscutiblemente por las investigaciones de Golgi y las nuestras.

Todas las fibras de la sustancia blanca emiten de trecho en trecho finas ramitas colaterales, las cuales, penetrando horizontalmente en la sustancia gris, se terminan en torno de las células nerviosas y de sus apéndices protoplásmicos, a beneficio de un penacho de fibras suavemente varicosas, espesas y completamente libres (fig. 358, *a, b*). Estas colaterales constituyen, como ha hecho notar Kölliker, uno de los factores más importantes de la trama medular, y su disposición y conexiones va-

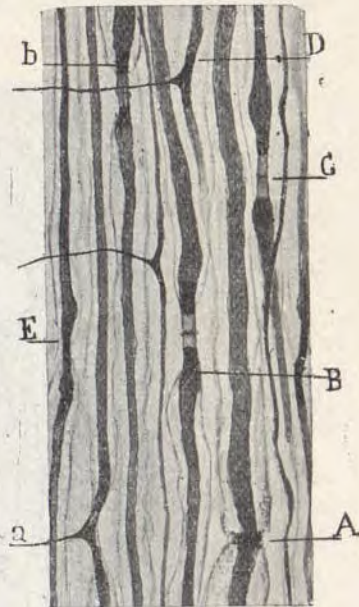


Fig. 354. — Tubos nerviosos de la sustancia blanca de la médula del gato de un mes. Coloración por el método de Ehrlich; A, estrangulación y disco de cemento; B, manguitos de Nageotte (hace tiempo descubierto en los centros por nosotros); C, E, estrangulaciones de tubos delgados; a, colateral brotada de una estrangulación.

rían en cada uno de los cordones. Hace años logramos confirmarlas también por los métodos de Ehrlich (1896) y el del nitrato de plata reducido (1903). Asimismo se coloran por el procedimiento de Simarro, según indicó este autor (1900).

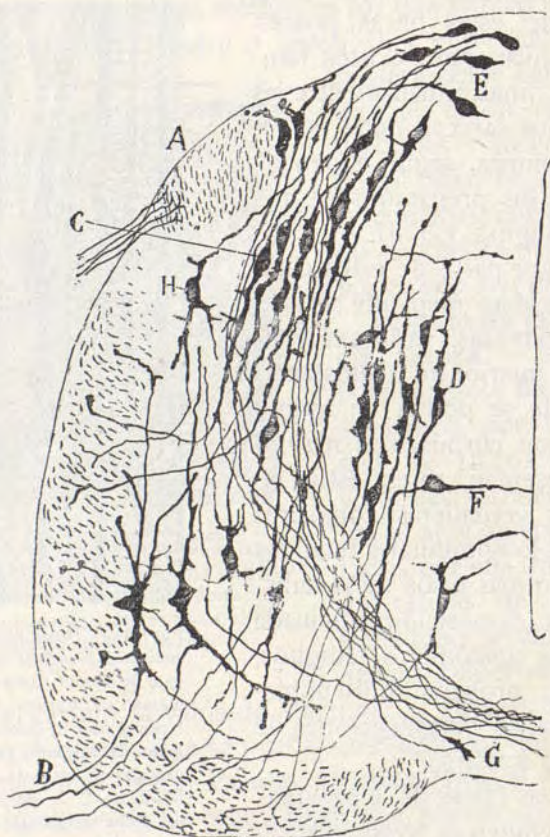


Fig. 355. — Corte de una mitad de la médula del embrión de pollo; A, rudimento del cordón posterior; B, raíz anterior formada por los axones de las células motrices; C, axones comisurales; D, células cuyo axon va al cordón anterior; H, célula cuyo axon iba al cordón lateral.

1.º *Colaterales del cordón anterior* (figs. 361, N, y 359, a).— Son las más voluminosas, nacen de los gruesos cilindro-ejes de este cordón, marchan hacia atrás agrupadas en haces irregulares y se ramifican en el espesor del asta anterior y más es-

pecialmente en torno de las células motrices. Una parte de estas colaterales gana la línea media y se ramifica en el asta anterior del otro lado, constituyendo la *comisura anterior de colaterales* (fig. 359, a).

2.º *Colaterales del cordón lateral*. — Se dirigen hacia aden-

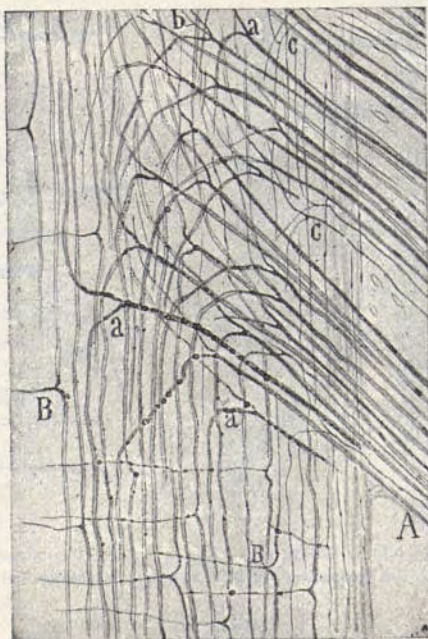


Fig. 356. — Entrada de las raíces posteriores en el cordón posterior de una médula espinal de gato. Método de Ehrlich; A, raíz posterior; a, bifurcación de ésta; B, colaterales sensitivas.

tro y se ramifican de preferencia en la región central de la sustancia gris. Una porción de estas colaterales gana la comisura gris, cruza por detrás del epéndimo y se ramifica en la sustancia gris del asta posterior (fig. 361, E).

3.º *Colaterales del cordón posterior*. — Nacen de la mayor parte del trayecto vertical de las ramas ascendente y descendente de las radicales sensitivas, así como de las fibras cortas constitutivas de la zona de Lissauer y porción anterior del cor-

dón de Burdach. Estas colaterales forman cuatro grupos, a saber: *a) colaterales sensitivo-motrices* o largas, las cuales, naciendo del cordón de Burdach, cerca de la entrada en éste de las radicales sensitivas, dirigense hacia adelante, ramificándose en torno de las células motrices (fig. 360, *A, B*); *b) cola-*

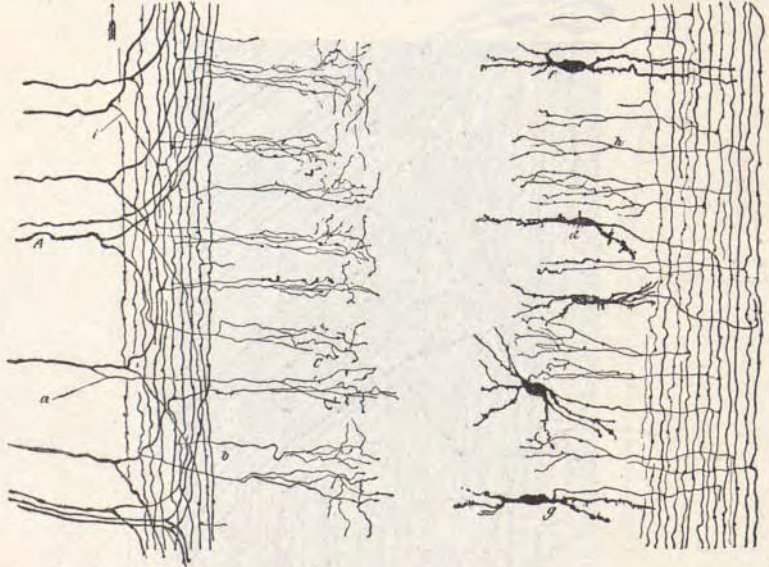


Fig. 357. — Corte longitudinal de la sustancia blanca del embrión del pollo, donde se ven las raíces posteriores (*A*), sus colaterales (*b*) y las células y colaterales del cordón lateral (*d, f*).

terales cortas destinadas a la sustancia de Rolando y asta posterior (fig. 361, *A, B*); *c) colaterales de la columna de Clarke*, las cuales brotan de la porción interna del cordón posterior y reunidas en haz posteroanterior, se arborizan en torno de las células de dicha columna (en la región cervical y dorsal estas colaterales se ramifican en un foco gris central en las inmediaciones del epéndimo; fig. 361, *M*); *d) colaterales para la comisura posterior*, las cuales, después de pasar por la porción más posterior del rafe (fig. 361, *D, E*), se arborizan en el asta posterior del otro lado. Se ve, por lo expuesto, que la comisura posterior está constituida por tres manojos de colaterales: anterior, nacido del cordón anterolateral; medio, brotado de la

porción más posterior del lateral; posterior, partido de la porción más interna del posterior: todas estas colaterales cruzadas se distribuyen en la substancia gris del otro lado principalmente en la base del asta posterior.

En la figura 361 mostramos el conjunto de las colaterales sensitivas o nacidas del cordón posterior. Nótese la enorme

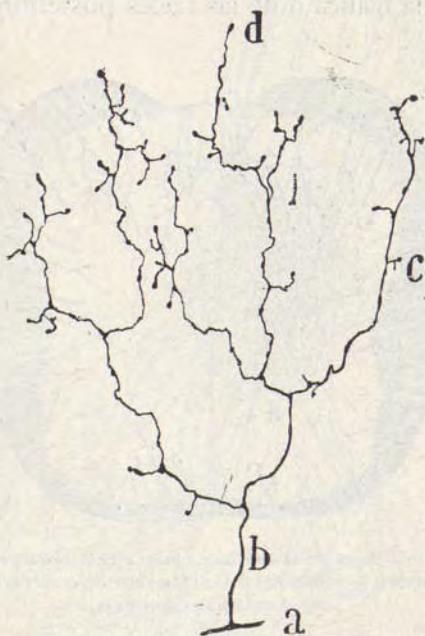


Fig. 358. — Detalles de la arborización terminal de una rama colateral de la sustancia blanca.

longitud y rica arborización terminal de las colaterales largas o sensitivo motrices, arborización en cuyos huecos residen los cuerpos de las neuromas motoras. En su camino (fig. 360, C), dichas colaterales emiten alguna ramilla para la sustancia gris central. Repárese también, en la citada figura 360, un grupo de colaterales destinadas a una pléyade gangliónica de la médula cervical, situada no lejos del rafe (A), mientras que la mayoría acaban rodeando la pléyade principal o extensa del foco motor (B).

Textura de la sustancia gris. — Prescindiendo de la neuroglia, la sustancia gris de la médula se compone: 1.º, de células nerviosas y sus expansiones protoplásmicas; 2.º, de los cilindro-ejes que estas células dirigen a la sustancia blanca; 3.º, de ramificaciones de colaterales llegadas de la sustancia blanca; 4.º, de arborizaciones finales de cilindro-ejes arribados de la sustancia blanca o de las raíces posteriores; 5.º, de co-

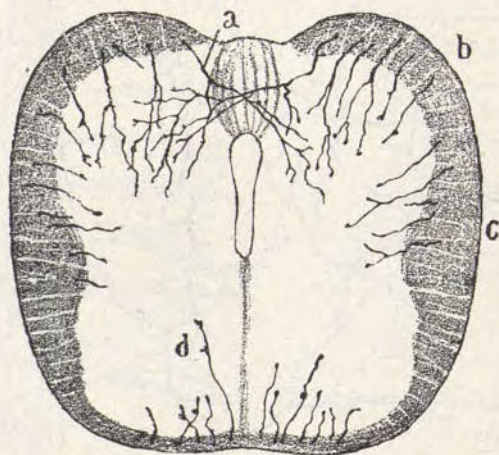


Fig. 359. — Algunas colaterales de la sustancia blanca de la médula embrionaria del pollo *a*, colaterales comisurales; *b*, colaterales del cordón anterior; *c*, colaterales del cordón lateral; *d*, colaterales sensitivas.

laterales emitidas a su paso por la sustancia gris, por algunos cilindro-ejes destinados a la blanca.

Las propiedades morfológicas de los corpúsculos nerviosos discrepan poco en ambas astas, excepción hecha de la sustancia de Rolando, donde habitan algunos elementos específicos; por lo cual la distinción que se establece en asta anterior y posterior tiene una significación más topográfica que estructural. La única distinción que cabe hacer entre las células estriba en el comportamiento de su cilindro-eje. Bajo este aspecto, nosotros separamos cinco especies ganglionares que aparecen representadas en las figuras 364, 365 y 366: 1.^a, *células radicu-*

lares; 2.^a, células comisurales; 3.^a, células de los cordones; 4.^a, células pluricordonaes; 5.^a, células de cilindro corto. Salvo la especie última, cuyo cilindro-eje se pierde en la sustancia

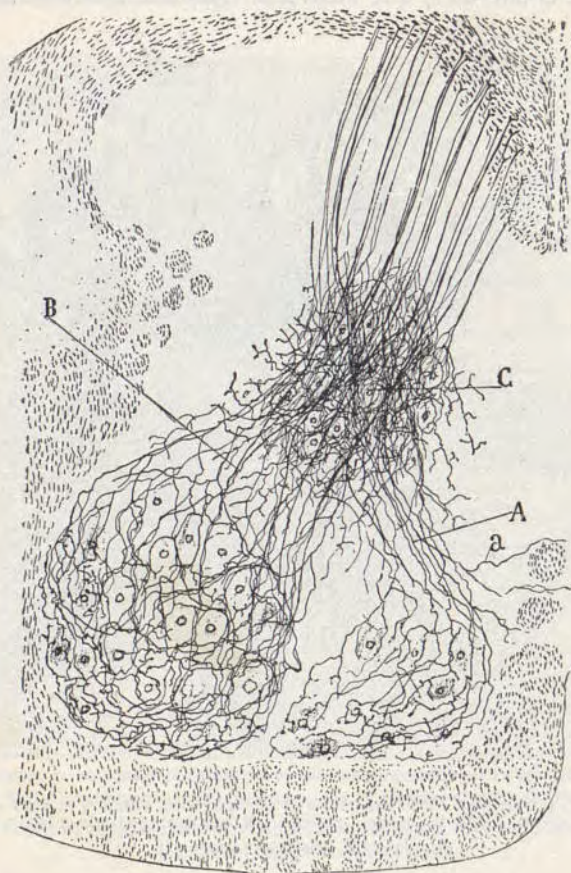


Fig. 360. — Corte de la médula espinal cervical del ratón recién nacido. Colaterales del cordón posterior; A, colaterales sensitivo-motrices destinadas al grupo interno de células motrices; B, colaterales destinadas al grupo externo; C, plexo terminal en la sustancia gris intermedia.

gris, las cuatro primeras envían esta expansión a la sustancia blanca, pudiendo calificarse de *células de cilindro-eje largo* (*motrices* de Golgi).

1.^a *Células radiculares*. — Son corpúsculos gigantes, los más grandes de la médula, habitantes en la parte anteroexterna del asta anterior. Poseen un cilindro-eje espeso, comúnmente exento de colaterales, que atraviesa radialmente el cordón an-

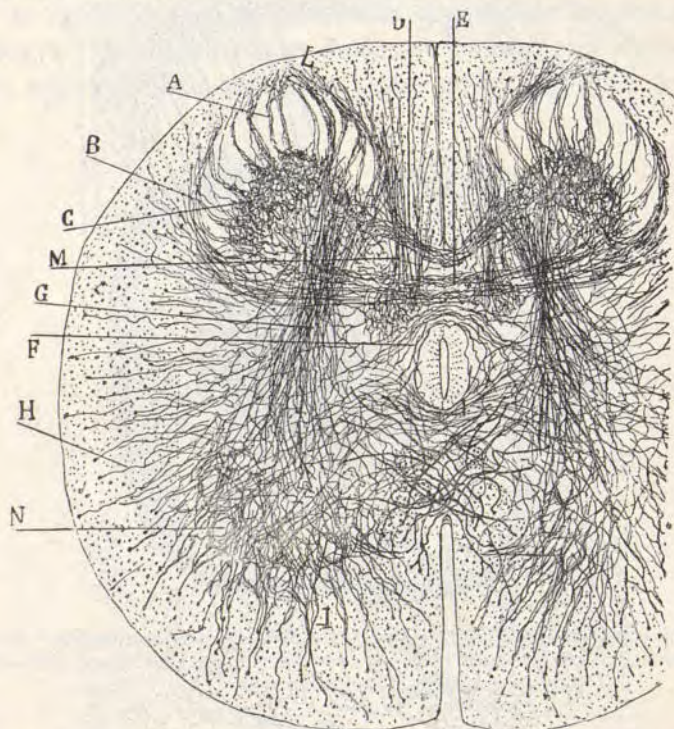


Fig. 361. — Conjunto de las colaterales nacidas de la sustancia blanca de un mamífero joven; *N*, plexos nerviosos del asta anterior; *C*, colaterales para el asta posterior; *D, E, F*, fascículos de colaterales de que consta la comisura posterior; *M*, colaterales para la columna vesiculosa de Clarke; *G*, colaterales largas, etc.

terolateral para ingresar en la raíz motriz del par raquídeo correspondiente (figuras 364, y 365, *a*). Las expansiones protoplásmicas son espesas y sumamente ramificadas, pudiéndose distinguir en *anteroexternas*, *posteriores* e *internas*. Las internas son las más interesantes, pues, dirigiéndose a la línea media, penetran en el asta anterior opuesta, después de entrecruzarse con las correspondientes del otro lado (nuestra *comisura pro-*

toplásmica, confirmada por van Gehuchten y Sala; fig. 365, *g*). Las expansiones anteroexternas terminan en los intersticios del cordón anterolateral, y las posteriores acaban en distintos pa-
rajes del asta anterior (fig. 365, *a*).



Fig. 362. — Bulbos y mazas terminales en torno de una célula motriz de la médula espinal; *a*, *b*, bulbos recios; *d*, *e*, bastones finos que semejan anillos; *m*, fibra nerviosa terminal. (Método del nitrato de plata reducido.)

Sobre las neurofibrillas de estas células hemos tratado ya en páginas de la parte general. Aquí mencionaremos solamente un detalle interesante de las conexiones de estos corpúsculos con las arborizaciones nerviosas. En los animales jóvenes, el plexo pericelular nervioso es rico en fibras y muy denso, acabando cada rama mediante una fina varicosidad apoyada sobre la membrana. Semejante varicosidad alcanza un gran espe-

sor en el adulto, adquiriendo las proporciones de una maza reticulada (fig. 362, *c, i*; *botones terminales* de Auerbach). De nuestras antiguas investigaciones, confirmadas por van Ge-

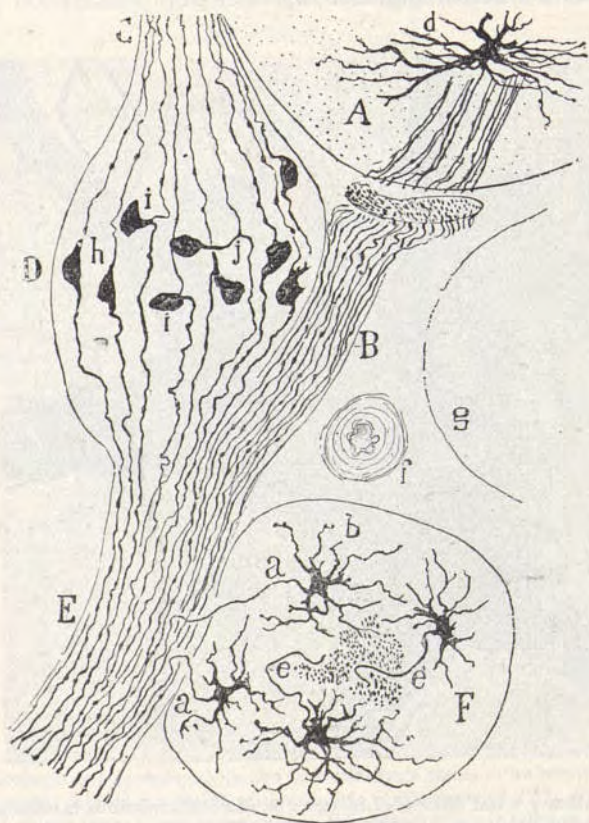


Fig. 363. — Corte de la médula, ganglios raquídeos y gran simpático; A, médula; C, raíces posteriores; B raíces anteriores; E, par raquídeo; F, ganglio del gran simpático; D, ganglio sensitivo; a, axones de las células simpáticas; d, células motrices.

huchten y Held, resulta que existen mazas o espesamientos nerviosos de trayecto (*a*) y de terminación (*c*).

2.^a *Células comisurales*. — De menor talla y más pobres en expansiones que las anteriores, ya demostró Golgi que yacen en todo el espesor de la substancia gris, y que su cilindro-eje,

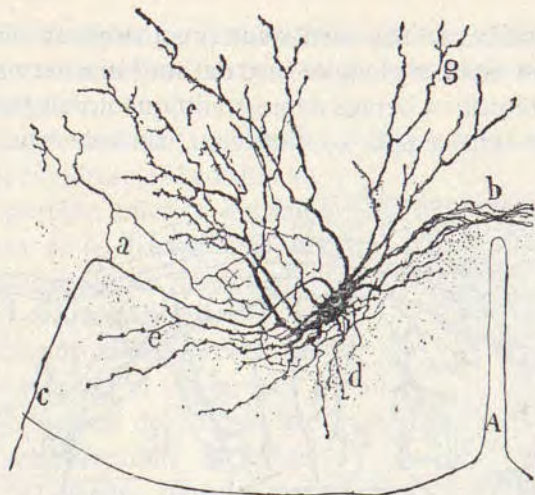


Fig. 364. — Célula radicular anterior o motriz del embrión de pollo; *a*, colateral recurrente nacida del axon; *e*, *d*, dendritas penetrantes en el cordón antero-lateral; *b*, comisura de dendritas; *g*, *f*, expansiones protoplásmicas posteriores; *c*, axon.

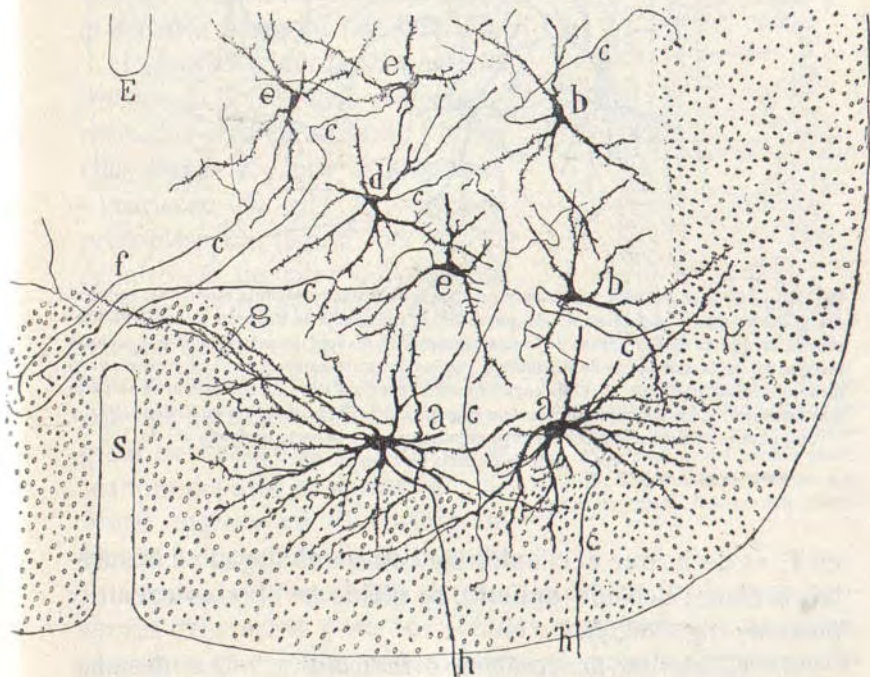


Fig. 365. — Células del asta anterior de la médula espinal del embrión de pollo; *a*, neuronas motrices; *b*, células del cordón antero-lateral; *c*, axon; *e*, células comisurales; *f*, comisura blanca; *s*, surco anterior de la médula; *E*, epéndimo; *h*, radicales motrices.

una vez cruzada la línea media anterior (comisura blanca), se continúa con una fibra longitudinal del cordón anterolateral del otro lado. Nosotros hemos demostrado que no se trata generalmente de una simple continuación, sino de una división



Fig. 366. — Células del asta posterior y substancia de Rolando. Médula espinal del embrión del pollo de diez y siete días; A, asta posterior; B, substancia de Rolando; C, cordón posterior; E, cordón de Goll; F, fibras de la raíz posterior; D, manejo del asta posterior; a, células marginales de la substancia de Rolando; b, células de esta substancia cuyo cilindro-eje va al manido del asta posterior; d, célula cuya expansión nerviosa va al cordón lateral en su parte más posterior; e, célula cuyo cilindro-eje engendra dos fibras: una para el cordón lateral y otra para el de Burdach; f, células cuyo cilindro-eje va a la parte profunda del de Goll.

Nota: La letra c señala los cilindro-eyes.

en T, es decir, que el cilindro-eje comisural, llegado a la substancia blanca del lado opuesto, se divide en fibra ascendente y descendente (fig. 365, f).

3.^a *Células de los cordones o funiculares.* — Así designamos las células, muy numerosas, de talla mediana, esparcidas

por todo el espesor de la substancia gris, cuyo cilindro-eje se continúa con una fibra vertical de la substancia blanca de su lado respectivo (366, *b*).

En el *asta anterior*, casi todos los corpúsculos de esta clase envían el cilindro-eje al cordón anterior y porción anterior del lateral, a esa zona extensa que los neurólogos designan *porción fundamental del cordón anterolateral*.

Las *células cordonales del asta posterior* remiten el cilindro-eje a un paraje especial del cordón lateral a la *zona limitante del cordón lateral* de ciertos autores, zona que, por contener exclusivamente cilindro-ejes del asta posterior, nosotros hemos calificado de *manejo del asta posterior* (fig. 366, *D*).

Las *células cordonales de la substancia de Rolando* son numerosísimas y se caracterizan por su talla diminuta y por lo enredado y varicoso de sus expansiones protoplásmicas (figura 366, *B*). El cilindro-eje de tales corpúsculos es extraordinariamente fino y marcha en diversidad de direcciones: en unas células se continúa con una fibra de la substancia marginal de Lisseauer; en otras va al manejo del asta posterior; en algunas ingresa en el cordón de Burdach. La substancia de Rolando está rodeada de una hilera de gruesas células fusiformes fronterizas del cordón posterior (*células marginales*), y cuyas expansiones funcionales se incorporan al *manejo del asta posterior* (fig. 366, *a*). Finalmente, en la región lumbar, una parte

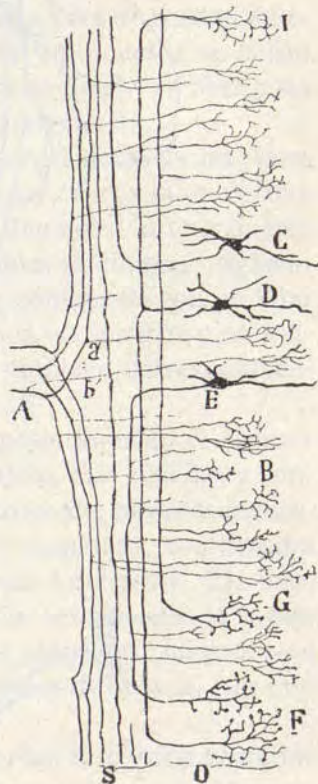


Fig. 367. - Corte longitudinal del cordón posterior de la médula espinal del embrión de pollo; A, raíces posteriores; B, colaterales del cordón posterior; D, E, neuronas destinadas a la parte inmediata del cordón lateral.

de las células de la columna de Clarke dirigen el axon hacia afuera y engendran la vía cerebelosa ascendente.

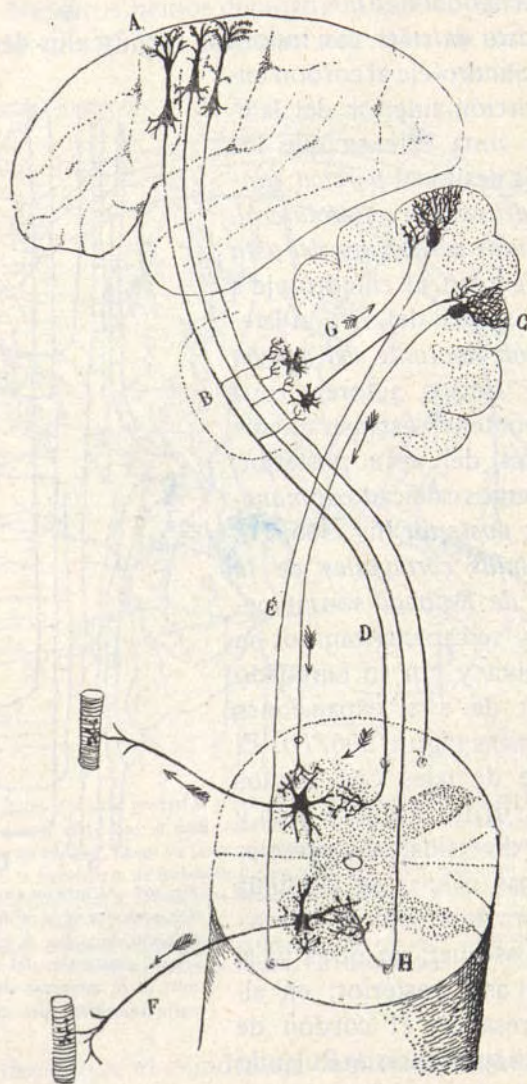


Fig. 368. — Conjunto de la vía motriz del cerebro y médula; A, zona motriz del cerebro; B, protuberancia de donde nacen colaterales enlazadas con una vía accesoria que pasa por el cerebelo; C, cerebelo con la vía motriz nacida en este órgano; D, vía motriz cerebro-espinal cruzada; F, raíces motrices; G, oliva cerebelosa de donde procede la vía motriz cerebro-espinal o motriz indirecta.

4.^a *Cédulas pluricordonaes*. — Así calificamos, para evitar perífrasis, ciertos elementos primeramente hallados por nosotros, cuyo cilindro-eje se divide en la substancia gris en dos o tres fibras constitutivas de otros tantos tubos de diferentes cordones. Así, por ejemplo, se ven elementos de esta especie cuya expansión funcional emite una fibra para el cordón anterior de su lado y otra para el anterior del opuesto; se hallan también otros cuya expansión nerviosa se divide en fibra para el cordón posterior y fibra para el lateral, etc.

Raíces posteriores. — Se sabe que las fibras de las raíces posteriores o sensitivas proceden de las células monopolares de los ganglios raquídeos. Ranvier demostró primeramente que la única expansión de dichas células se bifurca, originando: una rama dirigida hacia adentro y continuada con un tubo de la raíz posterior, y otra rama dirigida hacia afuera y prolongada con una fibra sensitiva del par raquídeo correspondiente (figuras 369, *G*, y 370).

El comportamiento de las raíces posteriores en el espesor de la médula ha sido uno de los asuntos más difíciles y controvertidos de la anatomía. Afortunadamente, nuestras investigaciones en los embriones de ave y mamífero, confirmadas por Kölliker, van Gehuchten, Retzius, Lenhossék, Cl. Sala, P. Ramón, K. Schaffer, etc., han resuelto definitivamente lo más esencial del problema, y los antiguos esquemas, fundados en observaciones incompletas o en prejuicios de escuela, han sido totalmente abandonados.

Las fibras de la raíz sensitiva abordan el cordón posterior y, llegadas oblicuamente a su interior, se bifurcan en Y, constituyendo una rama ascendente y otra descendente, ambas longitudinales y continuadas con fibras del cordón posterior. Estas ramas penetran probablemente en la substancia gris después de un trayecto de muchos centímetros a lo largo de la blanca, y acaban por arborizaciones libres situadas entre los elementos del asta posterior (figuras 369 y 367, *A*).

Tanto del tallo como de las ramas ascendente y descendente brotan en ángulo casi recto colaterales finas, las cuales, penetrando en la substancia gris, terminan por elegantes, varico-

sas y complicadas arborizaciones libres, en contacto con los cuerpos de las células del asta posterior y anterior (fig. 367, I, F).

Una buena parte de las colaterales de las raíces posteriores se reúne, como hemos dicho anteriormente, en un haz antero-posterior que, después de cruzar el asta posterior, se esparce en abanico por toda el asta anterior, formando arborizaciones que rodean las células motrices (fig. 360, A, B). Este haz, que nosotros hemos llamado *sensitivo motor (reflejo-motor* de Kölliker), representa un conductor de gran importancia, pues por su mediación se ponen en comunicación las raíces sensitivas con las motoras. La excitación sensitiva es recibida de las colaterales del haz mencionado por los cuerpos y ramas protoplásmicas de las células motrices, que las reflejan por las raíces anteriores hasta los músculos (fig. 369, a).

Las demás colaterales del cordón posterior proceden también en su mayor parte de las ramas ascendentes y descendentes de las radicales sensitivas, y su misión parece ser llevar el movimiento centrípeto a las células de los cordones, es decir, a las de la substancia de Rolando, asta posterior y substancia gris central o intermedia; y como las expansiones nerviosas de estos corpúsculos, después de formar parte de la substancia blanca, terminan probablemente en pisos distintos de la gris, resulta que, a favor de aquellas colaterales, la conmoción sensitiva podría difundirse sobre un extenso perímetro de la médula espinal. Sospéchase, aunque no se sabe de cierto, que las células de los cordones, así como las comisurales, llevan su influencia a los focos motores de la médula, representando, por tanto, una vía sensitiva de segundo orden, interpuesta entre cada raíz posterior y todos los focos motrices de la médula espinal.

Sistemas de fibras de la substancia blanca. — Como ya dijimos anteriormente, las fibras de la substancia blanca no tienen el mismo origen ni igual terminación.

Entre ellas hay que distinguir las *vías cortas* y las *vías largas*. Las *vías cortas* están constituídas por los cilindro-ejes de las células comisurales y de los cordones, y corresponden a la región fundamental del cordón anterolateral, al manojito comi-

sural del cordón anterior, al manojó del asta posterior, a la zona marginal de Lissauer, etc.

Las *vías largas* son: 1.º, la *vía piramidal* directa y cruzada, cuyas fibras proceden de las pirámides de la zona motriz del

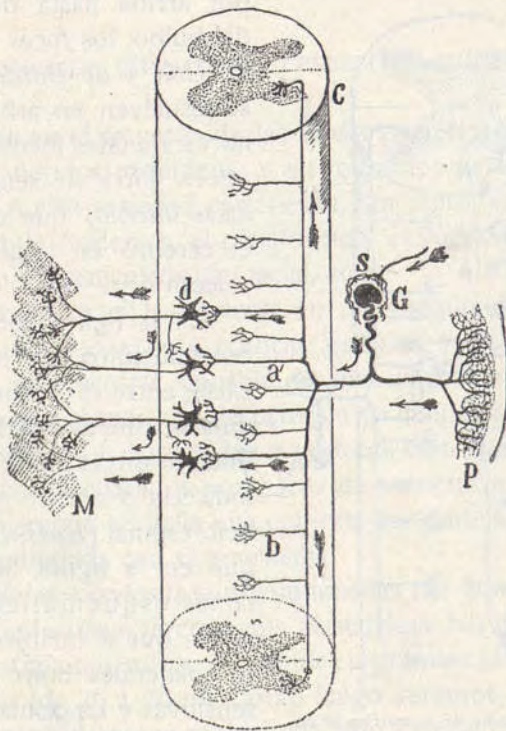


Fig. 369. — Marcha de las corrientes en los reflejos tendinosos. Figura esquemática; a, colaterales largas; P, piel; G, célula sensitiva o ganglionar; d, célula motriz; M músculos.

cerebro, bajan a lo largo del bulbo y médula y se terminan, a favor de arborizaciones libres, en todos los focos motores (figuras 368, A, B, D, H, y 351, J, I) del bulbo y médula espinal; 2.º, la *vía cerebelosa ascendente*, cuyas fibras parten de las células de la columna de Clarke, y de otros puntos de la sustancia gris, y suben hasta el vermis del cerebelo (fig. 351, C), donde no se sabe cómo terminan; 3.º, las *vías sensitivas de los manojos de Goll y de Burdach*, las cuales están constituidas

por las ramas ascendente y descendente de las radicales posteriores; estas ramas, después de un trayecto más o menos largo, ingresan en la substancia gris del asta posterior. Créese que las fibras ascendentes sensitivas más largas se prolongan

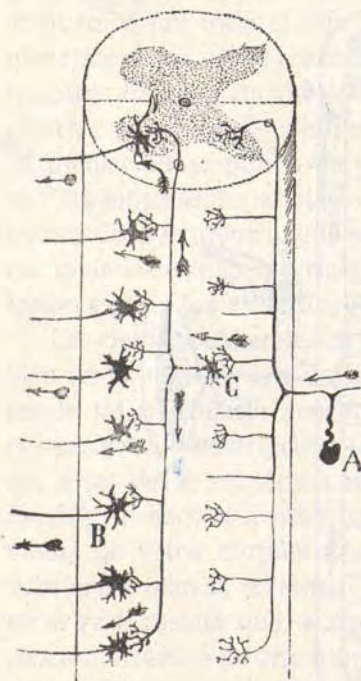


Fig. 370. — Esquema de la marcha de las corrientes en la médula espinal; A, célula sensitiva; B, neurona motriz; C, célula funicular en relación con las colaterales sensitivas cortas.

por arriba hasta dos núcleos del bulbo, los *focos del cordón de Goll y de Burdach*, donde se resuelven en arborizaciones libres: de tales focos surge una nueva corriente sensitiva (*lemnisco interno*) que desagua en el cerebro en toda la región psicomotriz.

En la figura 368, A, B, D reproducimos el enlace que existe entre el cerebro y la médula por medio de la vía piramidal o directa y la vía motriz indirecta o cortico-ponto-cerebelo-espinal (B, G, E); al paso que en la figura 369 presentamos esquemáticamente la unión que se establece mediante colaterales entre las raíces sensitivas y las células motrices.

Vías reflejas. — En las figuras 369 y 370 mostramos la marcha de las corrientes reflejas, a través de la médula, desde

la piel hasta los músculos. En la figura 369, a, aparece el itinerario de la corriente cuando ésta pasa directamente desde las colaterales largas de las raíces posteriores hasta las neuronas motrices. Nótese que en la propagación del impulso reflejo intervienen solamente dos neuronas.

En la figura 370 reproducimos la marcha de las corrientes, cuando interviene una tercera neurona intercalar, la célula de asociación o funicular homo u opositolateral. Mediante las co-

laterales cortas de las raíces sensitivas, el impulso aferente aborda las células funiculares (*C*), desde las cuales, y a favor de sus colaterales nerviosas, descarga al fin en *B*, o sea en las neuronas motrices.

GANGLIOS ESPINALES O CEREBRORRAQUÍDEOS

Hállanse en el trayecto de las raíces posteriores o sensitivas de los nervios raquídeos, y en todos los pares craneales sensitivos. A esta variedad pertenecen, por tanto, el ganglio de Gaserio, el de Andersch, el plexiforme y el yugular del pneumogástrico, el geniculado del facial, etc.

Cuando se practica un corte en un ganglio raquídeo, se advierten dos zonas: una cortical, grisácea y rica en células nerviosas; otra central, constituida esencialmente por tubos medulares. Esta zona, casi desprovista de células en los vertebrados inferiores, hállase en los mamíferos constituida por islotes neuronales, separados por haces de substancia blanca. En torno del ganglio se halla una cubierta conjuntiva, especie de cápsula continuada con el neurilema.

Las *células nerviosas* son voluminosas (de 20 a 50 milésimas), redondeadas o ligeramente poliédricas. No todas afectan igual espesor, pudiéndose distinguir en grandes (de 50 a 60 μ) y pequeñas (de 20 a 26 μ). Como luego veremos, estos diminutos elementos poseen morfología algo diversa que los grandes. En ellas se encuentra una cubierta o cápsula protectriz de naturaleza fibrosa, revestida interiormente por un endotelio; un protoplasma abundante fuertemente granuloso y manchado, en uno de sus lados, por un acúmulo de granos melánicos y un núcleo esferoidal, voluminoso, provisto de un nucleolo grueso y fácilmente colorable por el carmín y anilinas básicas (figura 373). El método de Nissl permite reconocer en el protoplasma un gran número de grumos basiófilos más finos y apretados que los correspondientes de las células motrices. El aspecto y finura de estos grumos varía en las diversas células gangliónicas (fig. 373).

Además de la cubierta fibrosa guarnecida de células endoteliales, existen en torno del protoplasma, en un espacio plasmático subcapsular, ciertos elementos primeramente señalados por nosotros con ayuda del método de Ehrlich y de Golgi y comprobados después por numerosos autores (Nageotte, Marinesco, Lenhossék, Dogiel, etc.). Tales corpúsculos, que desig-



Fig. 371. — Trozo de un ganglio sensitivo, coloreado por el azul de metileno; A, células sensitivas; B, haces de fibras nerviosas.

namos *células satélite*s, son pequeños, fusiformes o estrellados y provistos de expansiones, ya cortas y apenas ramificadas, ya largas y curvilíneas íntimamente aplicadas (fig. 372) al contorno de la célula sensitiva. En los corpúsculos ordinarios las células satélite)s son poco numerosas; mas, según veremos más adelante, en las neuronas fenestradas, desgarradas y en vías de regeneración, constituyen pléyades macizas en torno al protoplasma (figuras 378 y 379).

Las células sensitivas son monopolares, como reconocieron Ranvier, Lenhossék, Retzius, etc., y su expansión única y espesa, tras un curso variable dentro del ganglio, se bifurca, engendrando: una *rama fina* destinada a la médula espinal, en la cual penetra constituyendo la raíz posterior o sensitiva de los ner-

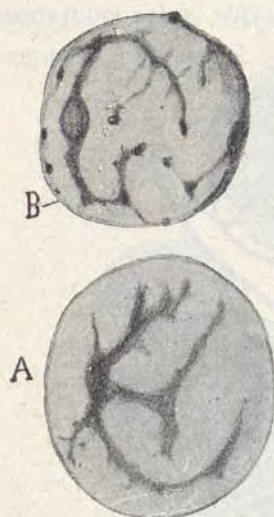


Fig. 372. — Corpúsculos satélites o endo-capsulares de los ganglios raquídeos del gato.

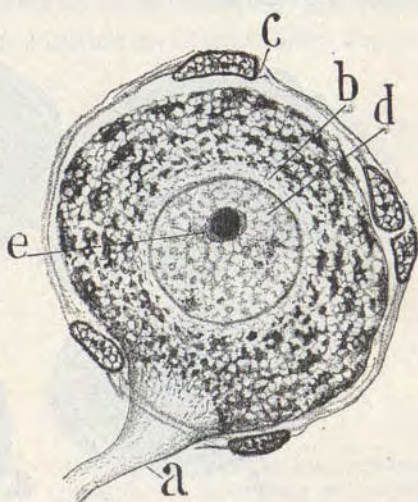


Fig. 373. — Célula sensitiva de un ganglio raquídeo humano; *a*, origen del axon; *b*, granos de Nissl; *e*, nucleolo; *C*, núcleo capsular.

vios raquídeos; otra *rama gruesa*, que se dirige a la periferia, ingresando en el par raquídeo correspondiente y ramificándose en la piel o acabando en un aparato sensitivo terminal (corpúsculos de Pacini, Meissner, etc.). Tanto el tallo de origen como las ramas de bifurcación están envueltos por una vaina de mielina. La división dicotómica se verifica al nivel de una estrangulación (figura 371).

Las investigaciones de Dogiel, confirmadas por nosotros y por Olóriz, prueban que la expansión única traza, a su salida de la célula y por debajo de la cápsula, un glomérulo u ovillo de vueltas complicadas que falta en los embriones y animales

recién nacidos. Este glomérulo, que carece de vaina medular, está destinado a ponerse en contacto con arborizaciones nerviosas (figuras 371 y 374). La complicación del glomérulo varía mucho dentro de un mismo ganglio y en las diversas especies animales. En el hombre consta unas veces de una simple asa o revuelta inicial (fig. 374, A); mientras que en ciertas células adopta la forma de un nido complicado, que rodea enteramen-

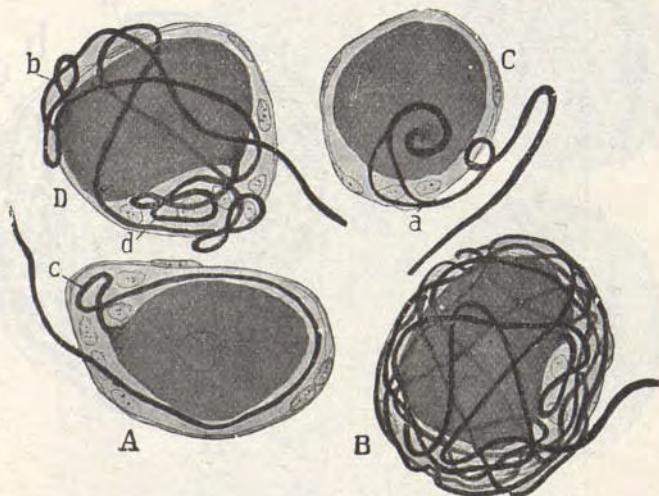


Fig. 374. — Células sensitivas del hombre. Método del nitrato de plata reducido. Diversos tipos de corpúsculos glomerulares.

te el soma por debajo de la cápsula (fig. 374, B). Cerca de la emergencia del axon, el protoplasma muestra una foseta o superficie plana en relación con células satélite (fig. 274, D).

Es difícil comprender la utilidad de la mencionada disposición monopolar de los corpúsculos ganglionares sensitivos. Si, como parece probable, suponemos que la corriente sensitiva aportada de la periferia por la expansión externa no necesita ir al cuerpo celular, sino que deriva inmediatamente por la otra prolongación para ingresar en la médula espinal, la disposición monopolar tendría por objeto establecer en el centro del ganglio un camino más directo para la expansión centripeta. Para

comprender esto hay que recordar que en los peces, en los cuales los corpúsculos sensitivos son bipolares, las dos expansiones trazan numerosas flexuosidades dentro del ganglio, a fin de acomodarse a las curvas de las células esféricas esparcidas por todo él. La huída del soma a la periferia y la creación de un largo pedículo a fin de permitir el establecimiento de las dos ramas en el centro del ganglio, es decir, en una región exenta de cuerpos celulares, suprime las flexuosidades del con-



Fig. 375. — Célula ganglionar humana, provista de apéndices protoplásmicos; a, axon.

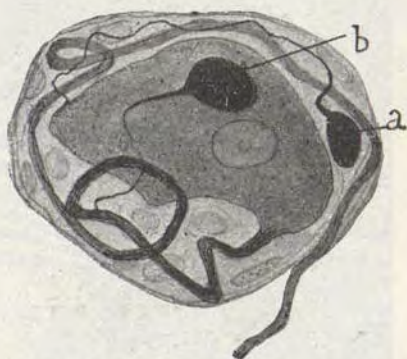


Fig. 376. — Célula con expansiones filiformes terminadas por bolas (mujer de veinticinco años). Ganglio del vago.

ductor sensitivo y acorta, por tanto, la distancia que en su propagación a la médula debe recorrer la onda sensitiva.

Como veremos más adelante, la disposición monopolar no es originaria, modelándose en las aves y mamíferos tardíamente. La forma primitiva es la bipolar (fig. 377, E), morfología que todavía se mantiene durante toda la vida en los invertebrados y en algunas especies de peces. En la figura 377 presentamos el ganglio de un embrión de pollo de catorce días, en el cual muchas neuronas sensitivas centrales afectan todavía configuración bipolar, mientras que algunas de las periféricas se hacen progresivamente monopolares por sucesiva emigración del punto de arranque de ambas expansiones polares (fig. 377, G, C).

Examinando la fina estructura de las células gangliónicas con los métodos de Nissl y del nitrato de plata, es posible discernir las siguientes partes: *a*), núcleo voluminoso, en cuyo interior aparece un grueso conglomerado de esférulas basiófilas (nucleolo principal) y algunos granos más pequeños diseminados (cuerpos accesorios y nucleolos secundarios); *b*), gra-

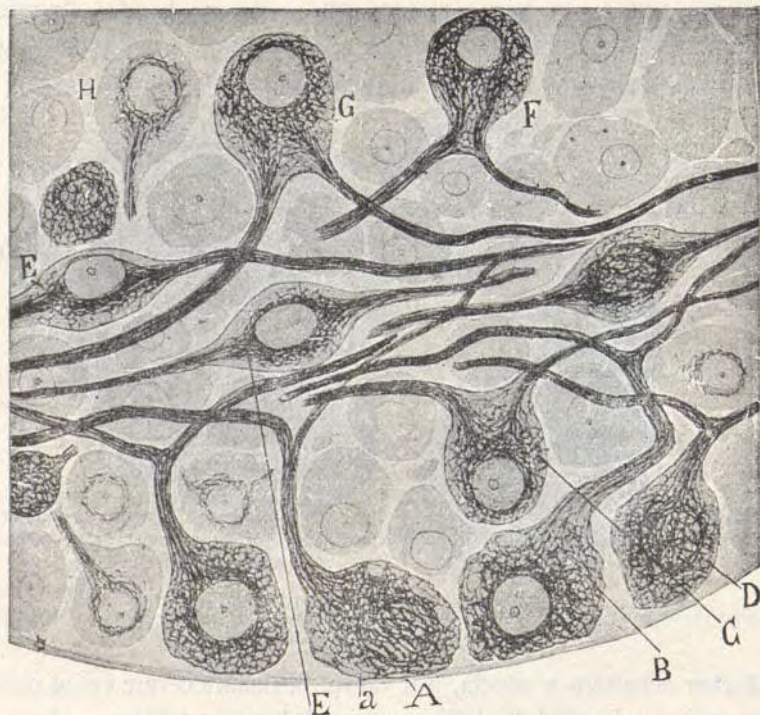


Fig. 377. — Corte de un ganglio del embrión de pollo de catorce días; A, B, células monopolares; E, células bipolares; C, tipo de transición.

nulaciones basiófilas de Nissl, finas, abundantes y diseminadas por todo el protoplasma salvo el arranque de la expansión, en donde suelen faltar; *c*), en fin, una red complejísima de neurofibrillas, descrita primeramente por Bethe, y confirmadas y mejor presentadas por Tello y nosotros, gracias a la superioridad del proceder de impregnación argéntica. Esta complicada red aparece en la figura 377, A. También Tello (1) la ha observado bien, estudiando las neurofibrillas de los ganglios raquídeos de un lagarto en in-

(1) F. Tello: Las neurofibrillas de los vertebrados inferiores. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, cuadernos 2.º y 3.º, tomo III, 1914.

vernación, durante cuyo estado las hebras protoplásmicas alcanzan desusado grosor.

El tipo gangliónico monopolar que acabamos de describir es el más abundante, pero hállanse otros tipos corpusculares que hace años logramos impregnar con el método del nitrato de plata reducido, tanto en el hombre como en el perro y caballo. Los principales son:

1.º Neuronas semejantes a las glomerulares en tamaño, pero desprovistas de glomérulo. Sus corpúsculos satélites son poco numerosos. El axon posee cubierta medular.

2.º Neuronas pequeñas; también desprovistas de glomérulo. Tales elementos, ya reconocidos hace tiempo en los preparados del azul de metileno, son más abundantes que los precedentes. Caracterízanse por la finura de su armazón neurofibrillar, delgadez de su cápsula y ausencia de células satélites. El axon, desprovisto de mielina, se bifurca también en rama interna y externa.

3.º Corpúsculos multipolares, que recuerdan los descritos por Disse, Pirlas, Lenhossék y nosotros, es decir, provistos de dendritas cortas y recias, ensanchadas en su punta y acabadas por debajo de la cápsula; poseen, además, tales elementos un axon glomerulado común. Estas células singulares, raras en los ganglios raquídeos, abundan algo en los craneales, singularmente en el ganglio plexiforme del nervio vago, y deben considerarse como la primera fase de los tipos provistos de largas dendritas acabadas en maza (fig. 375, *b*).

4.º Corpúsculo multipolar provisto de finísimas dendritas, nacidas ya del contorno del soma, ya de la porción inicial del axon, y las cuales, espe-

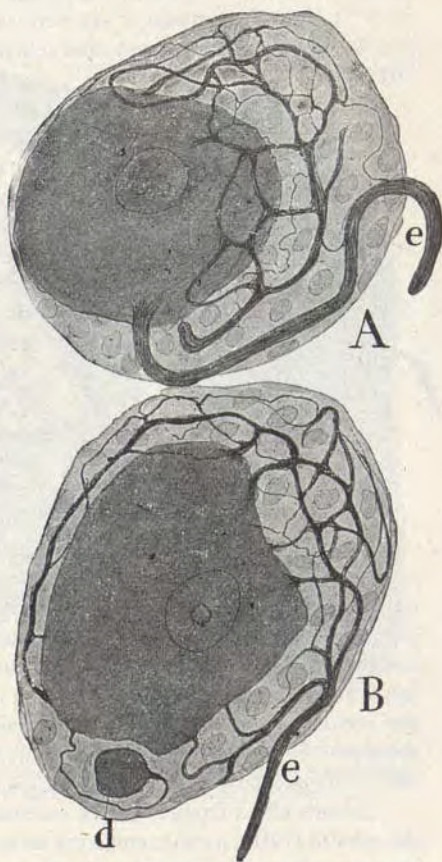


Fig. 378. — Células de los ganglios raquídeos del carnero, las cuales presentan un sistema fenestrado; e, axon.

sándose sucesivamente, acaban a favor de colosales esferas rodeadas de un sistema concéntrico de cápsulas nucleadas. A veces dichos apéndices se bifurcan, generando dos o más globos finales (fig. 276), y no es raro ver fibras terminadas en un rosario de esferas o abultamientos sumamente próximos.

5.º Células fenestradas, o sea perforadas en la región de origen del axon por dos, tres o más ventanas, que rellenan elementos satélites intracapsulares (fig. 378).

Estas interesantes células, señaladas hace tiempo por H. Daae en los ganglios del caballo, olvidadas durante muchos años, han sido redescubiertas por nosotros (1905) en numerosos vertebrados, gracias al método del nitrato de plata reducido, que las colora espléndidamente. El aspecto de los fenestramientos varía mucho en las diversas especies animales. Así, en el carnero, el protoplasma fenestrado afecta la disposición de una delicada malla, cuyos huecos aparecen llenos de células satélites. Existen cordones de gran finura y algunos que parecen contruídos por una sola neurofibrilla. Este sistema fenestrado yace unas veces en la región de origen

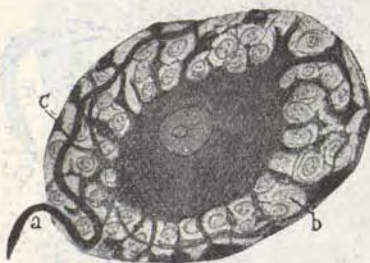


Fig. 379. - Célula sensitiva de un anciano. La porción periférica del protoplasma ha sido invadida por las células satélites; a, axon; b, células satélites; c, apéndices celulares.

del axon, con que éste parece resultar de la convergencia de varias arcadas o cordones protoplásmicos; mas en muchas ocasiones los fenestramientos residen en regiones corticales de la célula, que son completamente extrañas al axon (fig. 378, A). En el perro los fenestramientos son sobrios, como son recios y cortos los cordones de unión. Todavía más sencillos suelen mostrarse en el hombre, donde afectan la forma de amplios ojales o de una sola ventana encuadrada por una arcada ósea de gran longitud (fig. 379, C).

Citemos aún a Dogiel, que en extensa monografía acerca de los ganglios del caballo (1910), no sólo confirma las modalidades descritas por nosotros, sino que añade algunas variedades más. Entre ellas merece citarse un tipo neuronal, cuyo axon, después de resolverse en sistema de asas anastomóticas (axon fenestrado), vuelve a reconstruirse, recobrando su individualidad. Sin alcanzar un desarrollo tan grande, aparece también, de vez en cuando esta disposición en el carnero y otros animales.

6.º En el hombre anciano, y en ciertos estados patológicos, habita otra categoría celular, que hemos designado *célula desgarrada*, por exhibir un contorno desgarrado y festoneado, y lleno de hoyos y expansiones cortas insinuadas entre los corpúsculos capsulares (fig. 379). El axon parece normal. Este tipo celular se halla alguna vez en estado normal.

Recientemente Castro (1) (1922) ha distinguido entre las células desgarradas un tipo que llama *irritadas* con el soma de tamaño normal, sin hoyos, y numerosos brotes de prolongaciones intracapsulares, existentes en sujetos normales muertos por accidente y en los niños. La célula A de la figura 380, muestra la iniciación de este tipo celular.

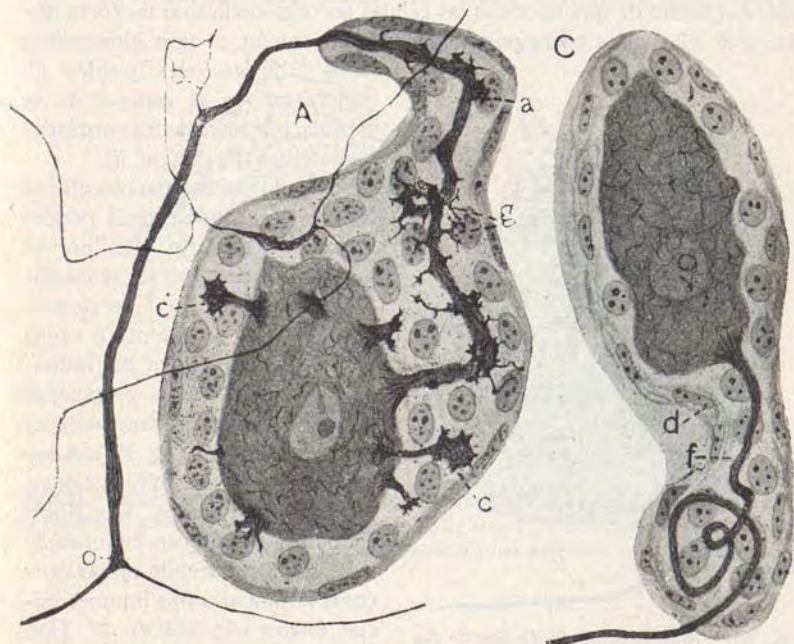


Fig. 380. — Células del ganglio de Gasser de una mujer con osteomalacia muy avanzada. A, corpúsculo irritado; brotan numerosos apéndices del soma *c* y de la porción intracapsular del axon *g*; *b*, colateral ramificada de tipo regenerativo. (Tomada de Castro.)

Arborizaciones nerviosas pericelulares. — Por debajo de la cápsula endotelial y conectiva existen, a veces, íntimamente aplicadas al protoplasma, unas ramificaciones nerviosas varicosas, finas, dispuestas en cesta pericelular, las cuales fueron señaladas primeramente por Ehrlich en la rana, por nosotros

(1) J. Castro: «Estudio sobre los ganglios sensitivos del hombre en estado normal y patológico». *Trab. del Lab. de Inves. biol.*, tomo XIX.

en la rata, y posteriormente por Dogiel en el gato (figuras 381 y 382).

Las cestas pericelulares han sido observadas por nosotros en ganglios sensitivos humanos, donde son particularmente abundantes, sobre todo en los de los nervios sensitivos craneales. Llamamos la atención, desde luego, sobre el hecho de que no todas las células las contienen, sino un corto número de elementos correspondientes, por lo común, al tipo glomerular.

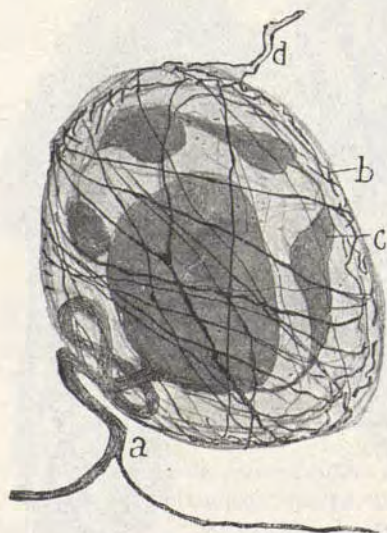


Fig. 381. — Nido nervioso pericelular de una célula sensitiva del plexo ganglionar del vago en el hombre; *a*, axon y su bifurcación; *d*, fibras nerviosas aferentes; *b*, nido nervioso; *c*, dendritas de forma arrosariada.

Estas arborizaciones residen de preferencia en el espesor de la cápsula, por fuera de los corpúsculos satélites (fig. 380, *d*, *b*).

Cuando se comparan entre sí las citadas arborizaciones pericelulares, se advierte que, por la manera de disponerse, se clasifican en tres tipos: 1.º Tipo de ovillo pericelular en que una o varias fibras, que conservan su individualidad, dan vueltas y revueltas en torno del soma, generando un ovillo complicado (fig. 381). A veces se observan bifurcaciones. 2.º Tipo arborizado. Las fibras aferentes se ramifican en torno de la célula, produciendo ramas varicosas terminadas por intumescencias finales (fig. 382, *d*). 3.º Tipo periglomerular. Las fibras aferentes, después de rodear el axon en espiral, continúan trazando vueltas y revueltas en torno del glomérulo, produciendo un plexo espe-

pecial en contacto con esta porción del axon. En muchos casos, después de este ovillo periglomerular, las fibras avanzan hacia el soma y forman una ramificación perisomática. Esta última modalidad de nido nervioso se le reconoce con el nombre de *tipo mixto* (fig. 382, *C*).

La significación de estos diversos nidos nerviosos no está bien dilucidada. Nageotte, en vista de su frecuencia en los casos patológicos, expone la idea de que representan disposiciones aberrantes de fibras en vías de crecimiento. Que su presentación obedece a menudo a condiciones patológicas lo persuaden, entre otros hechos, los siguientes: 1.º, como Nageotte, Marinesco, Rossi, Dustin, nosotros, etc., hemos observado, los citados nidos pericelulares son abundantísimos en los ganglios injertados o trasplan-

tados; 2.º, los estudios experimentales de Marinesco, nosotros y otros autores, enseñan que basta oprimir mecánicamente un ganglio raquídeo, distender el par nervioso correspondiente o causar en ambos la menor herida, para que inmediatamente sea el ganglio inundado por retoños que, nacidos en los axones lesionados o en las mismas neuronas, marchan hacia los cuerpos de las células sensitivas, trazando revueltas complicadas en torno o por fuera de la cápsula; 3.º, Legendre y Minot (1912) y Marinesco (1913),

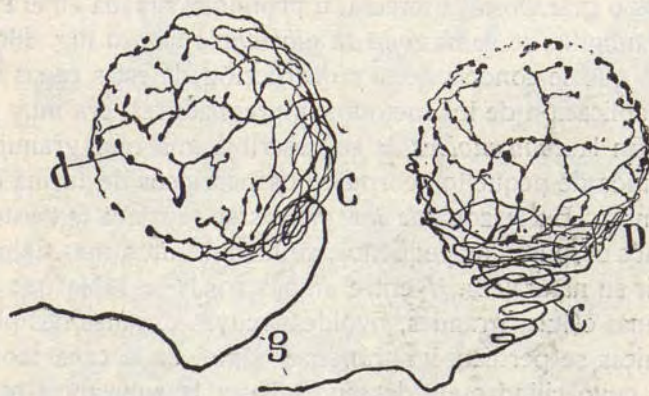


Fig. 382. — Arborizaciones nerviosas pericelulares de las células sensitivas del gato. Método de Ehrlich; C, arborización casi exclusivamente pericelular; D, arborización pericelular y periglomerular; g, fibra aferente; d, rama terminal.

han provocado la creación de nidos en ganglios cultivados *in vitro*; 4.º, en fin, Marinesco, Schäfer, Levi, O. Rossi, Bielschowsky, Pacheco, Achúcarro Castro, etc., hacen notar que los pelotones pericelulares preséntanse en gran cantidad, no sólo en la tabes, como descubrió Nageotte, sino en gran número de trastornos de los centros nerviosos del hombre.

En suma: todo conspira hacia la idea de que los mencionados nidos constituyen producto morboso, fácilmente reproductible por la vía experimental. Falta, empero, esclarecer por qué tan curiosa disposición encuéntrase, de cuando en cuando y en proporciones variables, en los ganglios de animales evidentemente normales.

CORTEZA CEREBELOSA

Cuando se corta transversalmente y se examina una laminilla cerebelosa, aparecen tres capas superpuestas: la primera, o superficial, es de substancia grisácea y se llama *capa molecular*; la segunda, gris, amarillenta o rojiza, se denomina *de los granos* o granulosa; la tercera, o profunda, situada en el eje de cada laminilla, se llama *zona de substancia blanca* (fig. 386).

Lo que se conocía de la construcción de estas capas antes de la aplicación de los métodos impregnadores, era muy poca cosa. En la *zona molecular* se describía una capa granujienta sembrada de pequeños corpúsculos nerviosos de forma indeterminada. En la *zona de los granos* se señalaba la existencia de unos corpúsculos pequeños, abundantísimos, mas sin poder definir su naturaleza. Y entre ambas zonas se sabía que existían unas células grandes, ovoideas, cuyas expansiones protoplásmicas se perdían, ignorándose cómo, en la capa molecular, y cuyo cilindro-eje descendía hasta la substancia blanca. Golgi añadió importantes datos con su valioso método, aunque sin resolver el problema de las conexiones intercelulares ni el de la marcha y terminación de muchas fibras nerviosas. En tal estado publicamos nosotros nuestros trabajos (1888 a 1890), de los cuales vamos a extractar lo más interesante.

Zona molecular. — Contiene dos especies celulares: las *células de Purkinje* y las *pequeñas estrelladas*.

Células de Purkinje. — Aparecen en las buenas preparaciones como Golgi las ha descrito (fig. 384). El soma es alargado, abundante en protoplasma y está provisto de finos grumos de Nissl (fig. 383, C) y de un aparato endocelular de Golgi primeramente descrito por este autor, confirmado por nosotros y bien estudiado por M. Sánchez y Sánchez (1919). Este retículo es espeso, exhibe trabéculas varicosas, da la vuelta al núcleo y se prolonga más o menos a lo largo de la expansión radial. Añadamos la existencia de un diplosoma, señalado por Río Hortega, diplosoma, que, en ciertos animales avejentados, toma formas insólitas (alargamiento). De lo alto del cuerpo

parten uno o varios tallos que, penetrando en la zona molecular, se dilatan en una riquísima arborización aplanada, prolongada hasta la misma superficie del cerebelo. Todas las ramillas de este ramaje terminan libremente y en su curso presentan,

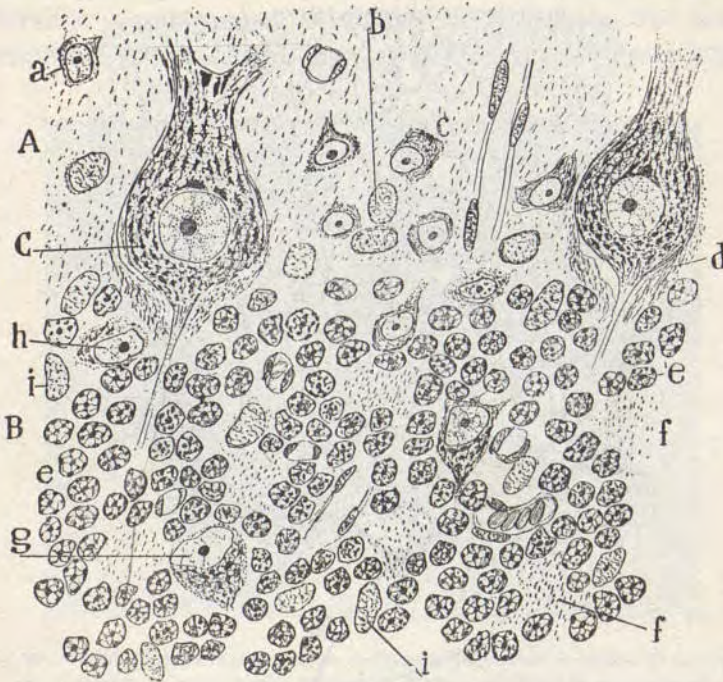


Fig. 383. — Trozo de un corte de la corteza cerebelosa del hombre adulto. Método de Nissl objetivo 1,30 apocromático Zeiss; A, porción inferior de la capa plexiforme; B, capa de los granos; C, cuerpo de las células de Purkinje; a, célula estrellada de la capa plexiforme; b, núcleos de las células epiteliales; c, otra célula nerviosa estrellada con cromatina marginal; d, masa fibrilar que corresponde a las cestas de Purkinje; e, núcleos de los granos; f, islotes granuloso o cerebeloso; g, h, células de Golgi de la capa de los granos; i, núcleos de las células de neuroglia.

perpendicularmente insertas, infinidad de espinas colaterales. Lo más interesante de la disposición de las arborizaciones de estos corpúsculos es el aplanamiento y su perfecta orientación transversal; por manera que si la laminilla cerebelosa es seccionada a lo largo, todas las células de Purkinje se presentan

de perfil. Por lo demás, semejante aplanamiento transversal fué ya indicado por Henle y Obersteiner (fig. 389).

El cilindro-eje de las células de Purkinje adquiere luego vaina de mielina y desciende hasta la sustancia blanca en su

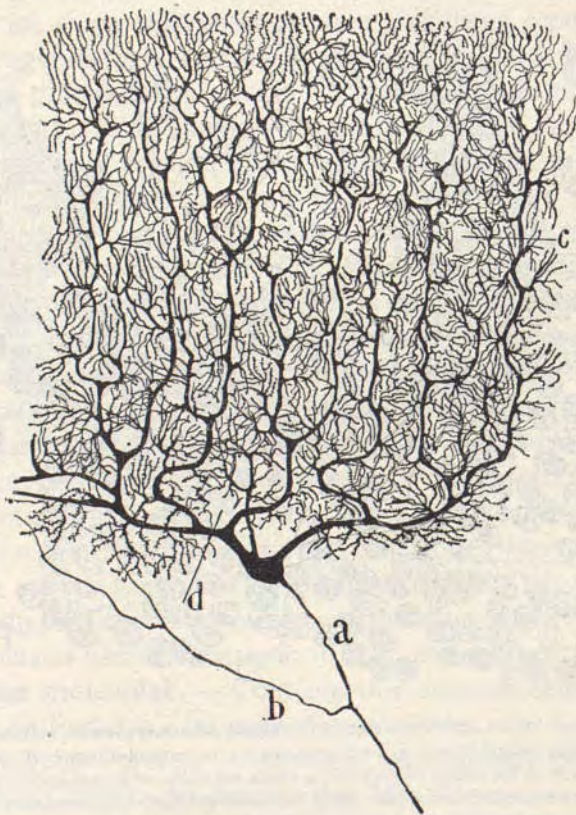


Fig. 384. — Células de Purkinje de cerebelo humano. Método de Golgi; *a*, cilindro-eje; *b*, colateral de éste,

trayecto y al nivel de las dos o tres estrangulaciones primeras, emite algunas colaterales ascendentes que, ramificándose en la parte inferior de la capa molecular, constituyen una arborización en gran parte longitudinal (fig. 384, *b*). Los estudios que acerca de la terminación de estas colaterales recurrentes he-

mos emprendido (1907) con ayuda del nitrato de plata reducido, nos han conducido a descubrir que, después de un curso longitudinal más o menos extenso por el cuarto inferior de la capa molecular, dichas fibras cambian de dirección, aplícanse a los gruesos tallos protoplásmicos de las células de Purkinje y se terminan sobre ellos a través de un fino botón terminal. Dentro de este botón, según aparece en la figura 385, *a*,

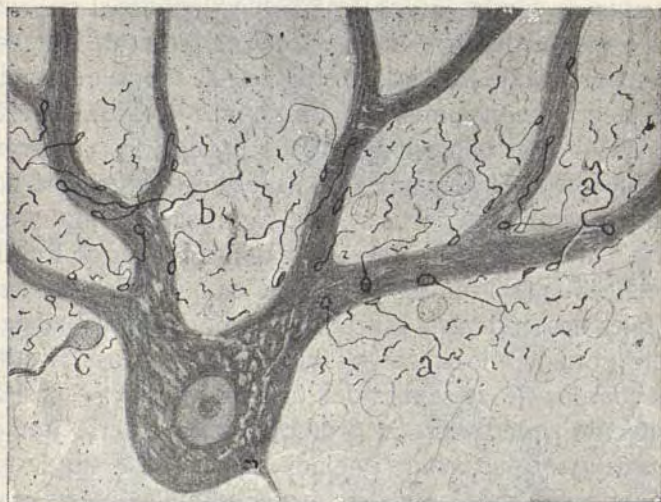


Fig. 385. — Célula de Purkinje del cerebelo del perro; *a* y *b*, botones terminales de las últimas ramificaciones de las colaterales recurrentes. (Método del nitrato de plata reducido.)

se contiene un anillo neurofibrillar. Mediante estas colaterales recurrentes, el impulso recibido por una célula de Purkinje puede propagarse a otros elementos congéneres yacentes a más o menos distancia dentro de la misma laminilla.

Células estrelladas pequeñas. — Son corpúsculos estrellados, transversalmente aplanados, de pequeño volumen, cuya naturaleza nerviosa fué ya reconocida por Golgi, pues logró descubrir el cilindro-eje, así como determinar su curso horizontal y sus colaterales ascendentes y descendentes. Mas la terminación de estas expansiones nerviosas no pudo ser de-

mostrada por Golgi, que admitía, a fin de explicarse la comunicación entre las células, la existencia de una red nerviosa intersticial.

Nuestras reiteradas pesquisas, primero en el cerebelo de las aves (1888), después en el de los mamíferos, nos proporcionaron el placer de resolver este punto, cuya importancia se echará de ver si consideramos *que se trataba del primer hecho bien establecido de una terminación de cilindro-ejes en los centros nerviosos*. Hasta entonces se había seguido el trayecto, a mayor o menor distancia, de las fibras nerviosas de la sustancia gris, pero nadie había sido testigo de su modo de terminar. Desde luego, reconocimos que los cilindro-ejes de las células estrelladas medias e inferiores poseen un cilindro-eje larguísimo, arciforme, no sólo paralelo a la superficie cerebelosa, como habían descrito Golgi y Fusari, sino rigurosamente transversal, es decir, paralelo al plano del ramaje de las células de Purkinje. Pero el hecho más importante consiste en que todas las ramitas colaterales descendentes, así como la arborización final de semejante fibra nerviosa, constituyen, ramificándose alrededor de los cuerpos de las células de Purkinje, un plexo espesísimo, íntimamente superpuesto al protoplasma; de suerte que cada cuerpo celular está forrado por una especie de cesto de ramificaciones nerviosas terminales, excesivamente espesas y varicosas (figuras 388, *B*, y 386, *d*). De ahí el nombre de *Endkörben* (*cestos terminales*) dado por Kölliker, en su trabajo de confirmación, a tan singulares arborizaciones. El conjunto de todas las fibras que rodean el cuerpo de una célula de Purkinje se condensa por abajo, constituyendo a modo de punta de pincel que costea el primer trozo del cilindro-eje de dicha célula, precisamente en el punto en que éste carece todavía de mielina (fig. 388).

La forma de la cesta terminal varía algo, según los vertebrados explorados. En el hombre, por ejemplo, las ramas descendentes, después de aplicarse al cuerpo de la célula de Purkinje, forman un pequeño manojo o pincel terminal. En cambio en las aves, singularmente en los pájaros, este pincel es enorme y contiene infinidad de ramas nerviosas terminales.

De notar es que en este pincel colaboran también ramas recurrentes, es decir, ramillas que, después de formar parte de la cesta, retroceden para acabar sobre el cuerpo celular de Purkinje. No es raro tampoco sorprender fibras que van desde un pincel al vecino, constituyendo arcos extensos horizon-

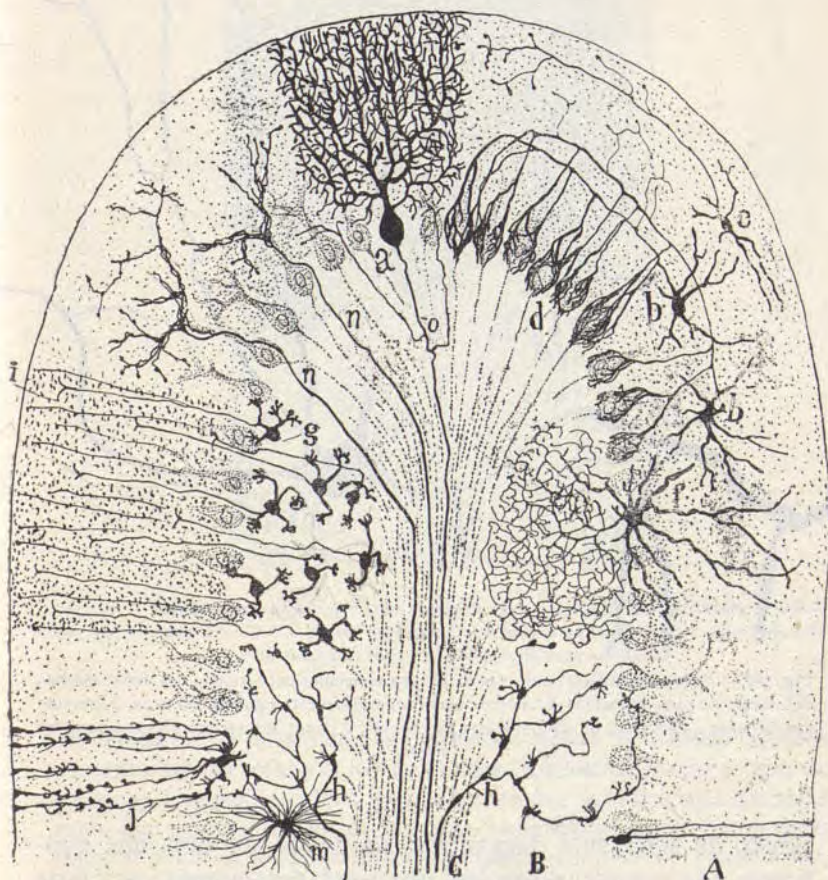


Fig. 386. — Corte transversal semiesquemático de una circunvolución cerebelosa de mamífero; A, zona molecular; B, zona de los granos; C, zona de sustancia blanca; a, célula de Purkinje vista de plano; b, células estrelladas pequeñas de la zona molecular; d, arborizaciones finales descendentes que rodean la células de Purkinje; e, células estrelladas superficiales; g, granos con sus cilindro-ejes ascendentes bifurcados en i; h, fibras musgosas; j, célula neuróglia de penacho; n, fibras trepadoras; m, célula neuróglia de la zona de los granos; f, células estrelladas grandes de la zona de los granos.

tales. En el gato el pincel es pobre de fibras, existiendo apenas punta descendente y presentándose muy típicamente la figura de cesta.

Por esta descripción rápida y por los dibujos que están a la vista (figuras 388, *B*, y 386, *d*), se comprende bien que el

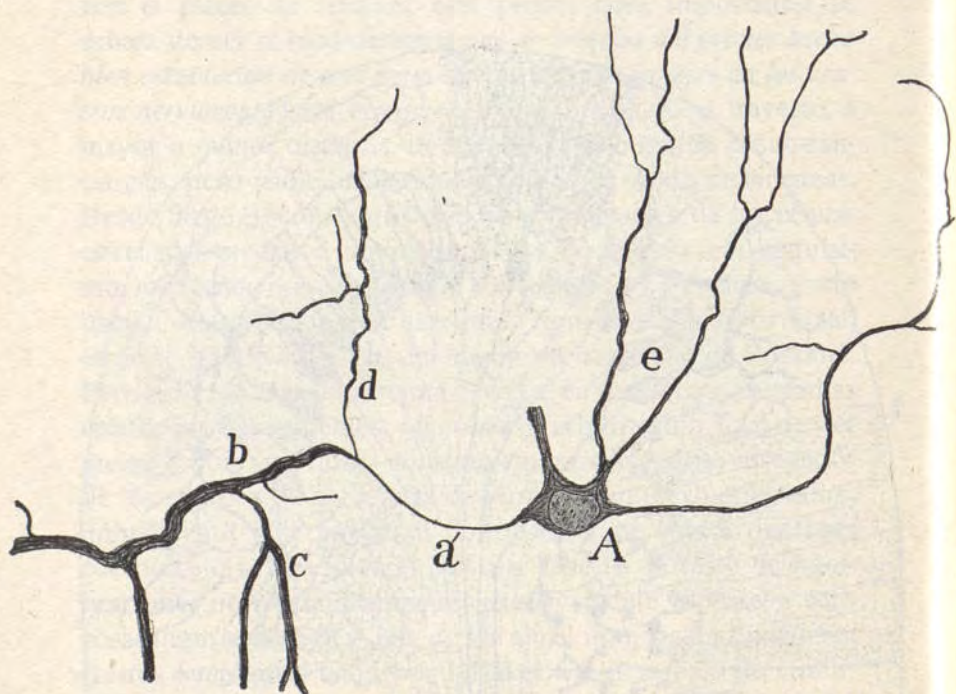


Fig. 387. — Célula estrellada o de cesta de la capa molecular del cerebelo del perro. Método del nitrato de plata reducido; *A*, cuerpo celular; *a*, porción estrangulada del axon; *b*, porción ensanchada; *e*, dendritas; *d*, rama nerviosa ascendente; *c*, ramas descendentes destinadas a las cestas.

objeto de semejante disposición no puede ser otro que establecer una relación dinámica, una verdadera comunicación de corriente entre los elementos estrellados susodichos y las células de Purkinje.

Las cestas mencionadas se impregnan admirablemente en color rojo café transparente por el método del nitrato de plata reducido, que revela las neurofibrillas de que constan y el pincel libre terminal. Las anastomo-

sis hace algunos años descritas por Held y Bethe, quienes se valieron de métodos imperfectos, son una ilusión. También Bielschowsky y Wolff han colorado las susodichas cestas. En fin, mencionemos los trabajos recientes, también confirmatorios, de Ph. Stöhr (1923) y C. Estable (1), efectuados con métodos neurofibrilares.

En la figura 387 presentamos una célula estrellada del cerebelo del pe-

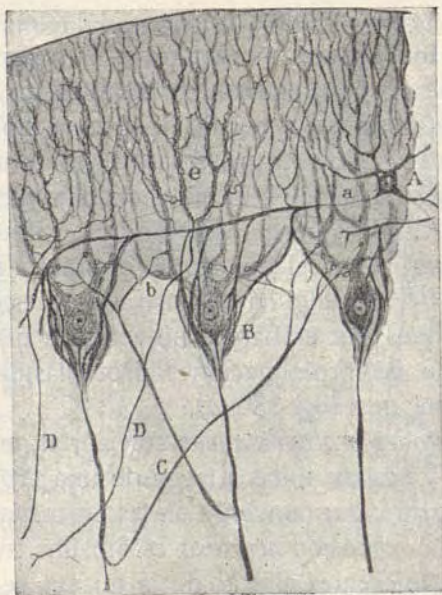


Fig. 388. — Copia semiesquemática de una célula de cesta con los plexos pericelulares formados por el axon; B, nidos o plexos en torno de las células de Purkinje; a, c, colaterales del axon de éstas; A, célula estrellada de la capa molecular.

rrero teñida por el nitrato de plata reducido. Nótese el delicado armazón neurofibrillar del soma y el haz de fibrillas elementales de que el axon se compone. Una particularidad interesante consiste en la delgadez inicial del axon, que parece formado de una sola neurofibrilla (a) y su progresiva transformación en recio haz fibrilar. Semejante multiplicación neurofibrilar, que se acentúa todavía en las ramas nerviosas descendentes (c), habla en contra de la conductibilidad exclusiva de las neurofibrillas, defendida por diversos autores.

Las células *estrelladas pequeñas* yacentes en el tercio externo de la zona

(1) Cl. Estable: «Notes sur la structure comparative de l'écorce cérébelleuse, &.» *Trabajos del Lab. de Invest. biol.*, tomo XXI, 1923.

plexiforme poseen también axon horizontal, de ordinario flexuoso; pero sus ramillas colaterales y terminales se reparten en la mencionada capa sin descender hasta las células de Purkinje ni engendrar, por tanto, nidos terminales (fig. 386).

En fin, las células de cesta poseen un legítimo retículo de Golgi, pobre en cordones en los corpúsculos superficiales, más rico en los profundos, casi siempre concentrado del lado del arranque de la más robusta dendrita.

Capa de los granos. — *Granos.* — Son corpúsculos pequeñísimos (de 4 a 6 μ), escasos en protoplasma, que forman una masa apretadísima por debajo de la zona molecular. En el lado somático más rico en protoplasma reside un minúsculo aparato de Golgi, reducido a un fino cordón replegado a veces en herradura (Cajal) u horquilla. Es muy posible que en esta región somática resida el diplosoma diminuto señalado por Río-Hortega (1917). Golgi ha demostrado en estos elementos varias expansiones; sin embargo, no acertó a precisar bien la terminación de las prolongaciones protoplásmicas ni logró perseguir la funcional (fig. 389, a).

Las *expansiones protoplásmicas* son cortas, en número de tres o cuatro, y acaban todas a favor de una arborización reducida, digitiforme, que converge en las emanadas de los granos vecinos. La *expansión nerviosa* es finísima, sube a la zona molecular y, a diferentes alturas de la misma, se divide en T, constituyendo una fibra longitudinal, es decir, paralela a la dirección de la laminilla cerebelosa, y, en consecuencia, perpendicular al ramaje de las células de Purkinje. Esta fibra, llamada también *paralela*, no emite rama ninguna en su trayecto, y se prolonga hasta el confín de la laminilla cerebelosa, donde acaba tocando casi en la substancia blanca, a beneficio de un engrosamiento varicoso y libre. De lo que se deduce que la fibra paralela producida por la bifurcación del cilindro-eje de los granos, representa una arborización nerviosa terminal reducida a su mayor simplicidad (fig. 389, A, b). Claro está que, dada la enorme longitud de una laminilla del cerebelo en los mamíferos adultos, no es posible la completa persecución de una fibra paralela; mas, afortunadamente, en los vertebrados inferiores (reptiles y batracios), y aun en los fetos de peque-

ños mamíferos, dicha persecución es relativamente fácil. Digamos de pasada que la disposición de los granos y sus fibras, así como la de las células de Purkinje y tubos de la sustancia blanca, es esencialmente idéntica en todos los vertebrados, según han demostrado las indagaciones de mi hermano (P. Ramón).

Si consideramos ahora que el infinito número de las fibri-

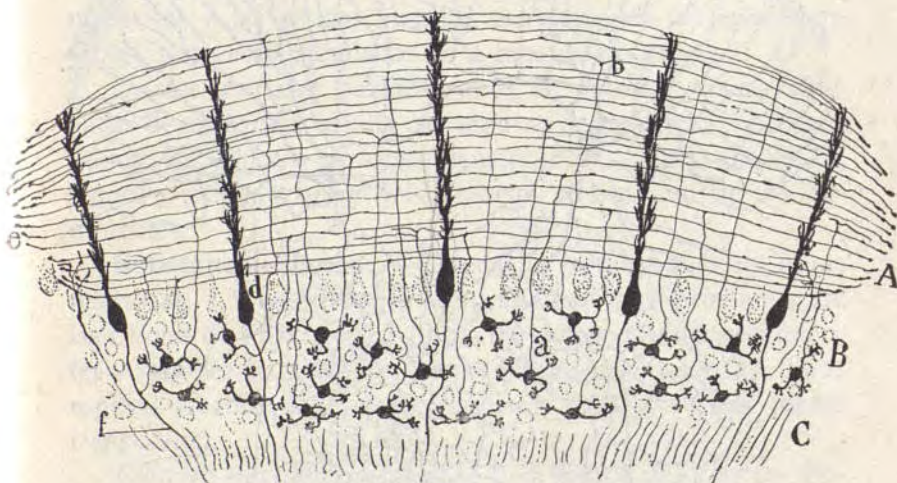


Fig. 389. — Corte longitudinal de una laminilla cerebelosa. Figura semiesquemática; A, capa molecular; B, capa de los granos; C, sustancia blanca; a, axon del grano; b, su bifurcación en la capa molecular; e, su terminación en los cabos de cada laminilla cerebelosa; d, célula de Purkinje vista de canto.

llas paralelas descansa sobre las espinas y asperezas que lateralmente ofrecen las ramas protoplásmicas de las células de Purkinje; si recordamos que no existen en la zona molecular otros elementos con los cuales puedan (al menos de tan directa y eficaz manera) establecer conexión, vendremos, naturalmente, a la conjetura que las tales fibrillas representan un medio de unión por contacto entre los granos y las células de Purkinje.

Células estrelladas grandes. — En la zona de los granos habitan también unas grandes células, pocas en número y bien

descri tas por Golgi. Contienen protoplasma abundante, salpicado de finos grumos de Nissl y un aparato de Golgi bien desarrollado. Su ramaje protoplasmático diverge en todas di-

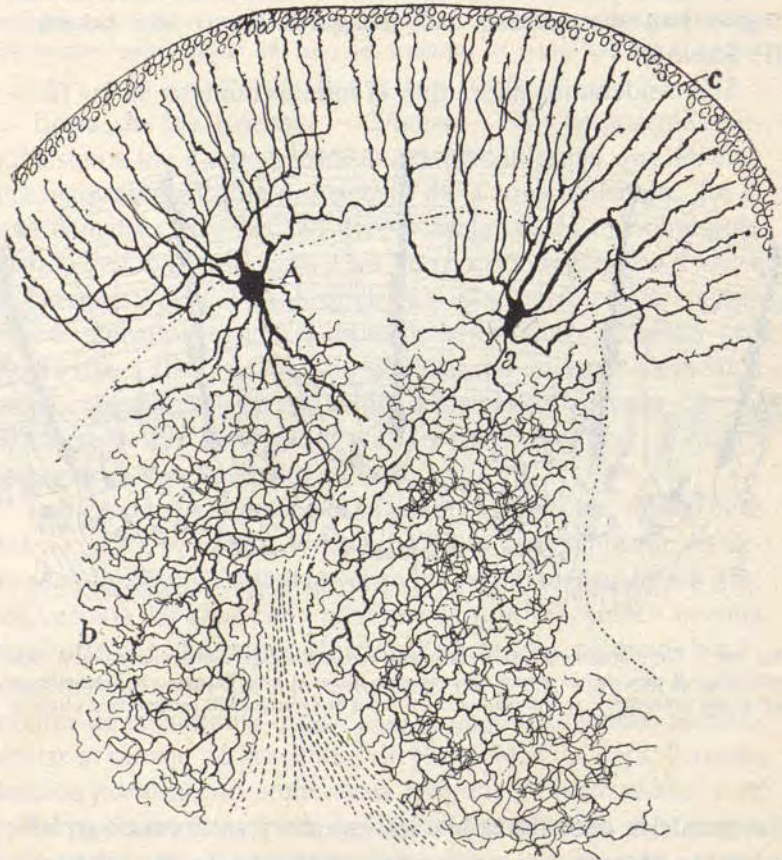


Fig. 390. — Dos células estrelladas grandes de la capa de los granos. Gato de algunas semanas; A, cuerpo de la célula; a, axon; b, plexos nerviosos terminales.

recciones, invadiendo a veces una gran parte de la zona molecular; su cilindro-eje flexuoso se consume luego en una infinidad de ramificaciones que se pierden entre los granos. Golgi pensó que esta arborización nerviosa desembocaba en una red compleja, donde se encontrarían casi todas las fibras nerviosas

del cerebelo; pero, en mi sentir, su terminación tiene lugar libremente mediante extremos varicosos, arciformes y superpuestos al cuerpo y, sobre todo, a las dendritas de los granos (fig. 390, *a, b*). El paraje donde especialmente convergen estas ramillas no es otro que los *glomérulos cerebelosos*, territorios de la capa de los granos exentos de núcleos, y donde concurren y entran en contacto los factores siguientes: el penacho digitiforme de los granos, las eflorescencias de las fibras musgosas y las citadas ramillas nerviosas de las células de Golgi, o gruesas estrelladas de la capa de los granos.

De mis recientes trabajos sobre las grandes células estrelladas de esta zona, resulta que algunas pertenecen al tipo ganglionar del *cilindro-eje largo*, penetrando éste en la substancia blanca y saliendo quizá del cerebelo, con alguno de los pedúnculos.

Substancia blanca. — Consta de tres especies de fibras nerviosas: 1.^a, cilindro-ejes descendentes, que provienen de las células de Purkinje; 2.^a, fibras nerviosas espesas, ascendentes y ramificadas entre los granos (fibras *musgosas*); 3.^a, fibras espesas ascendentes, ramificadas en la capa molecular (fibras *trepadoras*).

Cilindro-ejes descendentes. — Los hemos descrito ya. Pocos en número, bajan de las células de Purkinje, convergiendo en abanico hasta la substancia blanca para terminarse fuera del cerebelo, en otros centros nerviosos, quizá en la oliva cerebelosa.

Fibras musgosas. — Gruesas, y muy ramificadas, les dimos este nombre por la singularidad que tienen de presentar, de trecho en trecho, ciertos espesamientos nudosos, erizados de cortas expansiones divergentes a manera de rosáceas, y semejantes al musgo que cubre los árboles (figuras 391, *d*, y 392, *b, c*).

No pasan estas fibras y sus ramificaciones de la capa de los granos, y se terminan, ya por nudosidades libres, ya a beneficio de rosáceas ascendentes análogas a las citadas. Mediante estas ramitas, dichas fibras parecen ponerse en relación con las ramificaciones protoplásmicas de los granos, a los que conducen corrientes de otros centros nerviosos actualmente indeter-

minados. Los parajes en que ocurren estos contactos se llaman *placas o glomérulos cerebelosos* (fig. 391, *d*). Quizás algunas ramificaciones terminales, a veces bastante extensas, de las fibras musgosas, se hallen destinadas a relacionarse con las dendritas de las células de Golgi o con elementos de axon largo de la capa de los granos.



Fig. 391. — Glomérulos cerebelosos de la capa de los granos. Perro adulto. Método del nitrato de plata reducido; A, grano; B, células de Golgi; a, ramificación dendrítica del grano en el glomérulo; c, fibra musgosa; d, rosáceas terminales de ésta dentro de un glomérulo; e anillos terminales.

El método del nitrato de plata reducido revela, al nivel de las excrecencias musgosas, deshilachamiento o apartamiento de las neurofibrillas. En los cabos terminales adviértense asas neurofibrilares y redes intraprotoplásmicas complicadas (1903). Estos interesantes detalles, que han sido confirmados por Bielschowsky (1904) y Wolff (1906), aparecen en la figura 391, *e, d*, donde se demuestra que los *glomérulos cerebelosos* represen-

tan, según dejamos consignado, el punto de encuentro de las dendritas de los granos y de las ramas de las fibras musgosas. En la citada figura las ramas finales de las fibras musgosas, así como las dendritas de los granos, se muestran muy delgadas a causa de que los métodos neurofibrillares no impregnan sino



Fig. 392. — Fibras musgosas del cerebelo; *a*, arborización terminal de una fibra musgosa; *b*, arborización colateral; *c*, pequeña intumescencia de trayecto.

el eje fibrilar central, dejando sin teñir la recia capa de neuroplasma de las arborizaciones terminales.

Fibras trepadoras. — Son unas fibras espesas, meduladas, poco o nada ramificadas a su paso por los granos, las cuales, una vez arribadas a la zona molecular, se aplican al tallo ascendente de las células de Purkinje, remontando por él como las lianas a lo largo de las ramas de un árbol tropical. Su terminación tiene lugar mediante una arborización varicosa y plexiforme, aplicada a las gruesas ramas primarias y secundarias de los corpúsculos de Purkinje; por cuyo motivo, cuando se impregna sólo dicha arborización, muestran sus ramos una orientación que traduce fielmente la de las expansiones protoplásmicas de aquellos elementos. Semejante disposición constituye otro caso

elocuentísimo de enlace nervioso por contacto, donde, como en la placa de Rouget de los músculos, un cilindro-eje se arboriza sobre una célula gigantesca, a la que lleva una excitación originada en otros centros (fig. 393, *a*). La arborización termi-

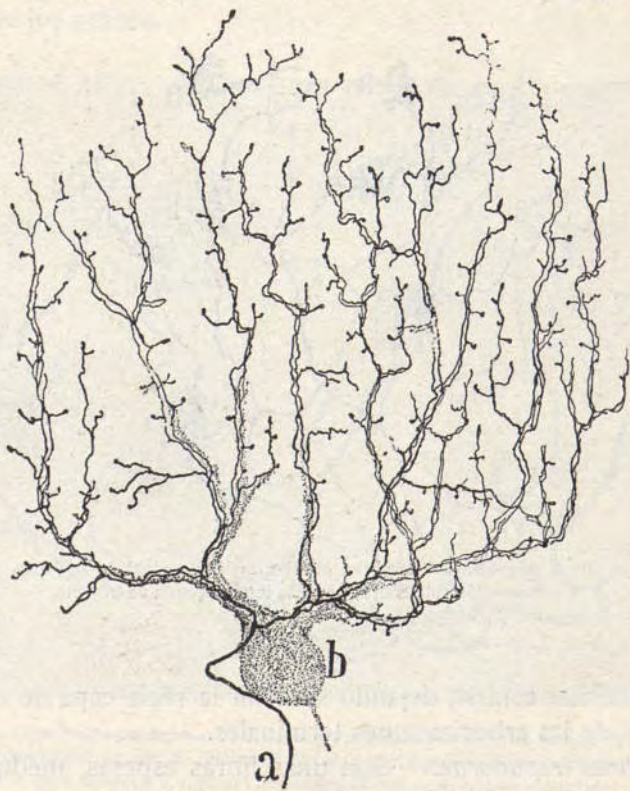


Fig. 393.—Fibra trepadora del cerebelo del hombre adulto (*a*); *b*, cuerpo de la célula de Purkinje.

nal de las fibras trepadoras ofrece en el cerebelo humano un gran desarrollo (fig. 393). Por lo demás, nuestro encuentro de las fibras *trepadoras*, así como el de las *musgosas*, ha sido confirmado por numerosos autores (Kölliker, Retzius, van Gehuchten, P. Ramón, Athias, Lugaro, Bielschowsky, Wolff, Illera, Stöhr, Estable, Lorente, etc.).

Cuando se estudia un corte de laminilla cerebelosa teñida por el método de Weigert-Pal, se advierte entre los granos un plexo de fibras meduladas, que disminuye progresivamente en riqueza hacia la capa molecular, en la cual sólo se ven, junto a las células de Purkinje, algunas pocas fibras longitudinales.

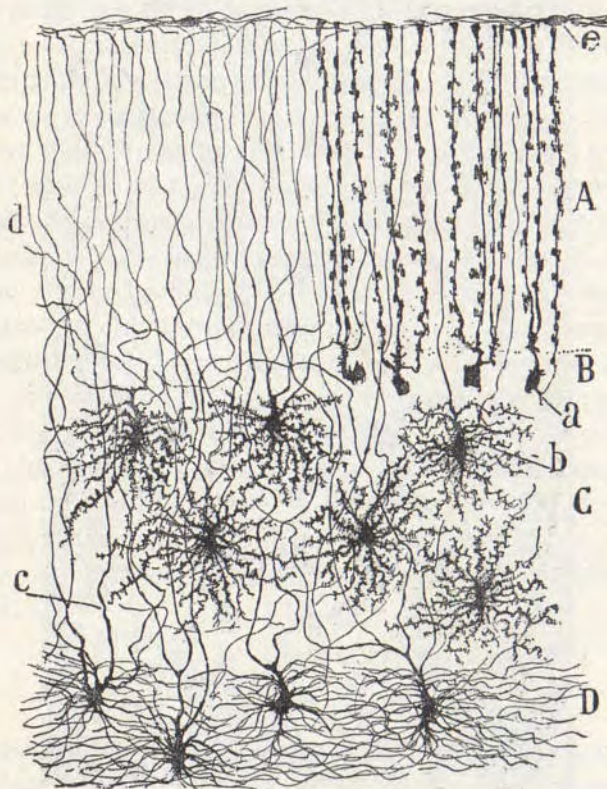


Fig. 394. — Neuroglia del cerebelo (según Terrazas); A, B, células epitelicas o radiadas; C, zona de los granos con elementos neuróglícos de cortas radiaciones, provistos además de hebras radiales; D, neuroglia de la sustancia blanca o de finas y largas radiaciones.

La comparación de estas preparaciones con las obtenidas por el método de Golgi, enseña que las fibrillas paralelas de la capa molecular, las arborizaciones trepadoras, los pinceles descendentes o cestas terminales, carecen de mielina; pero que po-

seen esta envoltura los cilindro-ejes de las células de Purkinje y el trayecto de las fibras musgosas y trepadoras.

Las fibras trepadoras se colorean muy bien por el nitrato de plata reducido, el cual revela que las últimas ramillas cons-

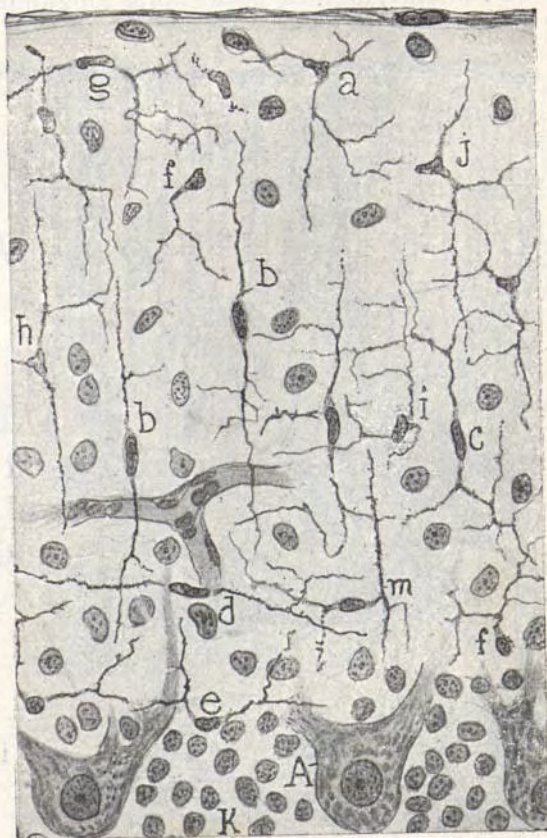


Fig. 395. — Microglia del cerebelo humano de un viejo; A, célula de Purkinje; K, granos; a, e, g, f, microglia común de forma triangular o piriforme; b, c, microglia bacilar. (Método de Bielschowsky modificado.)

tan de una neurofibrilla. Es verosímil que las ramas ascendentes de los axones de Purkinje contribuyan también a complicar el plexo trepador de los tallos de la célula de este mismo nombre.

Neuroglia del cerebelo (fig. 394). — Posee el cerebelo cuatro especies de células neuróglicas: 1.^a, los corpúsculos de forma de horquilla, cuyo cuerpo reside en la zona de las células de Purkinje y cuyas ramas, en número de dos o más, ascienden por la capa molecular y se terminan, mediante ensanchamiento, en la superficie cerebelosa (*a*); 2.^a, las células estrelladas (*b*) de la capa de los granos, notables por presentar en sus apéndices excrescencias laminares y alcanzar algunas de sus más largas expansiones la zona molecular; 3.^a, los corpúsculos estrellados de la sustancia blanca, provistos de largas y lisas expansiones separatorias de los tubos nerviosos (*D*); 4.^a, y en fin, diversos tipos de *mesoglia* o neuroglia enana, habitantes tanto en la sustancia blanca como en la zona molecular, y de que reproducimos algunas formas en la figura 394, *a*, *b*, *c*. Acerca de estos elementos descubiertos en el asta de Ammon por Achúcarro y mejor estudiados por Del Río y nosotros, daremos detalles más adelante. De todas estas células sólo el tipo tercero es coloreable por el método especial de Weigert (1). Tello (1914) y Fañanás (1918), usando el método del sublimado-oro, han señalado en el espesor de la capa molecular la existencia de células neuróglicas de cortas radiaciones, es decir, recias, fusiformes, con apéndices laterales rizados y varicosos y que parecen células epiteliales de tipo de horquilla dislocadas.

CORTEZA CEREBRAL FUNDAMENTAL

La sustancia gris de las circunvoluciones exhibe una textura fundamentalmente idéntica en los mamíferos y en cualquier región cerebral que se estudie. Esta textura general o esencial se refiere a la constitución de *la corteza típica*, o de *la corteza general*. Importa, empero, advertir que, dentro del plan

(1) Véase el trabajo de Terázas: La neuroglia del cerebelo, etc. *Revista trimestral micrográfica*, tomo II, núm. 2, 1897; el de Fañanás. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XIV, 1918, y el nuestro: Algunas consideraciones sobre la mesoglia, etc., *Trab. del Lab. de Investigaciones biol.*, tomo XIX, 1921, donde aparece descrita la microglia del cerebelo poco después analizada por Río-Hortega independientemente de nosotros.

cardinal aludido, cada región del cerebro exhibe algunas disposiciones específicas constitutivas de lo que se llama *corteza regional*. En general, el cerebro del hombre es muy superior al de los animales; mas sus perfeccionamientos no afectan ni a la morfología ni al enlace de las células, sino al número de éstas y a la mayor longitud y ramificación de las expansiones protoplásmicas y colaterales nerviosas.

La corteza cerebral fundamental consta, de fuera a dentro, de las siguientes capas: 1.^a, *zona molecular*; 2.^a, *zona de las pequeñas pirámides*; 3.^a, *de las grandes*, y 4.^a, *de los corpúsculos polimorfos*. La 1.^a y 4.^a se distinguen bien de sus limitrofes; pero no así la 2.^a y 3.^a, que se confunden por suaves transiciones (fig. 396). En esta enumeración nos referimos, sobre todo, al cerebro de los pequeños mamíferos. En el hombre hay que añadir, entre la zona 3.^a y 4.^a, otra zona designada *capa de los granos*. La zona 4.^a subdivídenla algunos autores en tres estratos: *a*, capa de las pirámides grandes profundas; *b*, capa de las células piramidales y triangulares medianas, y *c*, capa de los corpúsculos fusiformes. En suma: la mayor parte de la corteza cerebral humana muestra, según hicieron notar hace tiempo Meynert, Hammarberg y modernamente Edinger, nosotros, O. Vogt, Schaper, Brodmann, etc., siete capas concéntricas, sin contar la *zona de las medianas pirámides*, que algunos autores señalan entre la 2.^a y la 3.^a

Zona molecular. — Cuando esta capa se examina en cortes de cerebro simplemente teñidos con carmín, o con las anilinas, exhibe una apariencia finamente granulosa o reticulada. Acá y allá se muestran unos núcleos pequeños, correspondientes a células de neuroglia, especialmente abundantes junto a la piamáter, y otros núcleos mayores, sumamente escasos, rodeados de un cuerpo protoplásmico triangular o fusiforme, que corresponden probablemente a células nerviosas. En la porción más superficial de la zona molecular, Kölliker descubrió una porción de fibras horizontales con mielina, que más tarde confirmaron Exner, con su método al ácido ósmico y amoníaco, y Edinger, Oberstein, Todt, Martinotti, etc., con el procedimiento más valioso de Weigert-Pal (fig. 396, *a*).

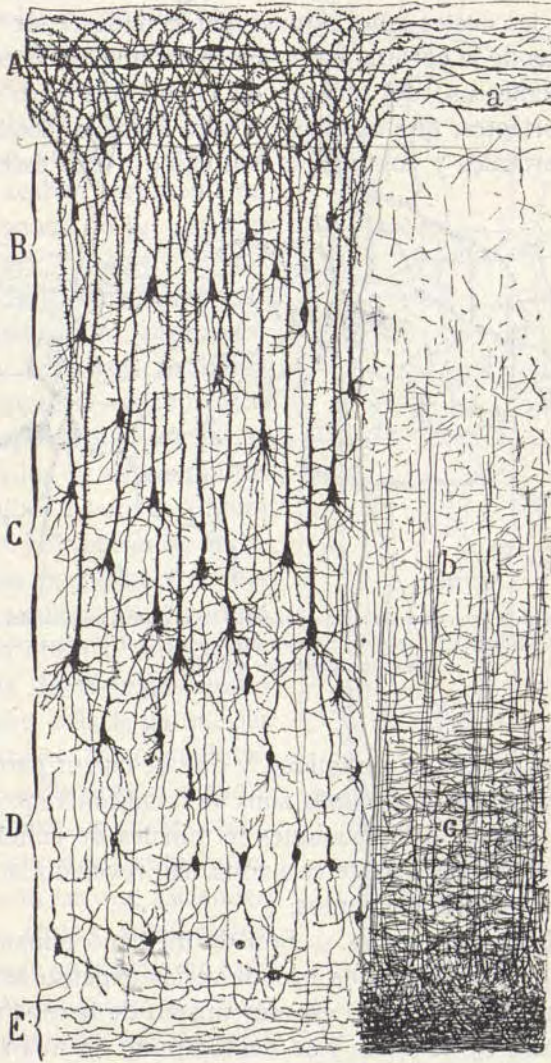


Fig. 396. — Corte de la corteza cerebral del conejo de ocho días. La porción derecha de la figura representa las fibras nerviosas meduladas, reveladas por el procedimiento de Weigert; la porción izquierda muestra las células nerviosas, tales como aparecen por el método de Golgi; A, capa molecular; B, capa de pequeñas pirámides, C, capa de pirámides grandes; D, capa de células polimorfas; E, substancia blanca; a, fibras meduladas de la capa molecular; b, haces de cilindro-ejes; c, plexos de colaterales.

Poco o nada se sabía tocante al origen de estas fibras nerviosas, de las cuales sólo algunas parecen descender a capas más hondas de la corteza, hasta que hace muchos años Martinotti, haciendo uso del método de Golgi, demostró dos hechos importantes: que algunas de tales fibras se acodan para hacerse verticales y continuarse con cilindro-ejes ascendentes

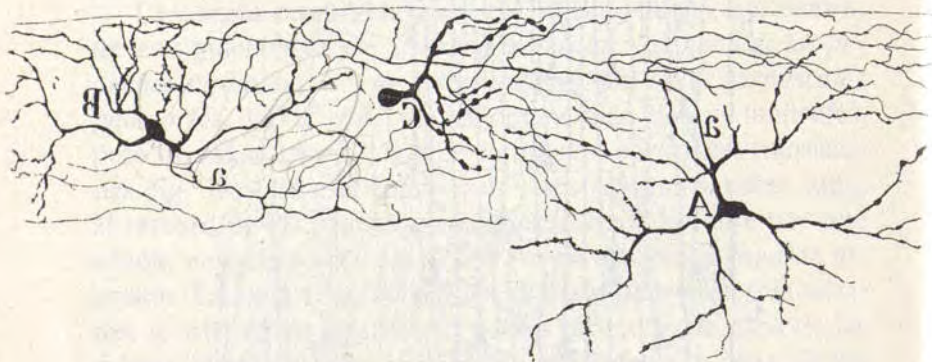


Fig. 397. — Células de axon corto de la capa molecular de la corteza cerebral del gato; A, célula de tamaño mediano y de axon descendente bastante largo; B, C, corpúsculos pequeños de axon rápidamente arborizado.

procedentes de ciertas pirámides, y que la mayor parte de las fibras horizontales de la citada zona se ramifican repetidamente como si fuesen arborizaciones terminales de cilindro-ejes.

Nuestros estudios sobre esta zona han revelado la existencia de los siguientes elementos:

1.º *Células poligonales*. — Son de mediano tamaño (figura 397, A), y de sus ángulos brotan varias expansiones protoplásmicas ramificadas en el espesor mismo de la capa molecular; el cilindro-eje es corto y se descompone en una ramificación extensa relacionada, al parecer, con los penachos terminales de las pirámides.

2.º *Células especiales de la corteza (Cajal'sche Zellen de Retzius)*. — Son células, ya fusiformes, ya triangulares, ya estrelladas, tendidas horizontalmente en el espesor de la capa molecular y caracterizadas por poseer expansiones larguísimas

parecidas a cilindro-ejes y ramificadas en ángulo recto. Las más finas de estas ramificaciones no pueden distinguirse de las ramillas nerviosas que circulan por esta zona y acaban libremente en ella, después de un trayecto horizontal variable. La ausencia de diferenciación entre expansiones protoplásmicas y nerviosas aproxima éstos singulares corpúsculos a los espongioblastos de la retina o los llamados granos del bulbo olfatorio (figura 398, A). No obstante, indagaciones posteriores de Verratti y nuestras en la corteza humana nos han convencido que una de las expansiones es mucho más larga que las otras, posee forro medular, y debe estimarse por axón. La reunión de todas estas fibras nerviosas autóctonas, junto con las que ascienden de las zonas subyacentes, constituye en la primera capa cerebral un plexo apretadísimo, por entre cuyas mallas pasan las ramas terminales de los penachos ascendentes de las pirámides (fig. 398). Es imposible no considerar esta singular disposición, que por cierto se halla con los



Fig. 398. — Algunas células especiales de la capa molecular del cerebro de un niño de un mes; A, célula marginal o piriforme; B, célula fusiforme; C, célula triangular; D, axón de una célula no impregnada; b, dendritas tangenciales largas; c, dendritas cortas; d, e, ramas nerviosas.

mismos caracteres en todos los vertebrados, como un importante ejemplo de transmisión nerviosa por contacto, comparable a la que se verifica en el cerebelo entre las fibrillas paralelas y las arborizaciones prótoplásmicas de las células de Purkinje (fig. 402, *F*). Este contacto íntimo sería transversal u oblicuo, para lo cual las ramas terminales de las pirámides

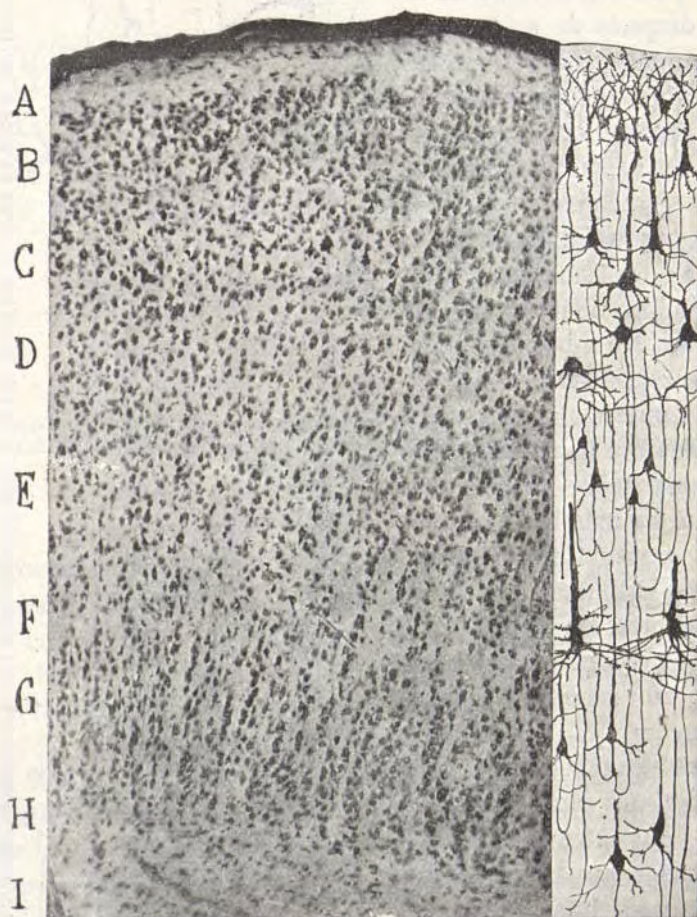


Fig. 399. — Corte de la corteza visual del gato. A la izquierda una microfotografía de un corte del método de Nissl. A la derecha, la morfología de las neuronas correspondientes a cada capa; A, capa plexiforme; B, de las pequeñas pirámides; C, de las medianas pirámides; D y E, de los corpúsculos estrellados; F, de las grandes pirámides solitarias; G, de los corpúsculos de axon arciforme.

poseen unas espinas colaterales cortas, en cuyos intervalos parecen ser cogidas estrechamente las más finas fibrillas nerviosas exentas de mielina. En la figura 398 mostramos los tipos morfológicos más comunes residentes en la capa molecular humana. Nótese que, atendiendo a la forma, podrían clasificarse en *piriformes* o *marginales* (A), *fusiformes* (B) y *triangulares* o *estrellados* (C). Repárese que el axón (*a*) es una relativamente recia expansión, que es preciso no confundir con las largas dendritas marginales o tangenciales (*b*), propias de tales elementos.

Zona segunda o de las pirámides pequeñas. — Consta de muchos elementos poliédricos o piramidales, de pequeña o mediana talla (de 10 a 12 μ).

Toda célula piramidal, ya pertenezca a ésta o a las demás capas cerebrales, posee caracteres morfológicos generales, que conviene reseñar antes de proceder al examen particular de cada capa. El cuerpo es cónico o piramidal, con una base inferior, de la que parte siempre el cilindro-eje. Las expansiones protoplásmicas son muy numerosas, y deben distinguirse, por su origen, en: *tallo ascendente* o *expansión primordial*; *colaterales*, *del tallo* y *expansiones basilares* o *procedentes del cuerpo celular* (figuras 400, B, E, y 401). *El tallo* es espeso, y dirígese a lo alto del cerebro, paralelamente al de las demás pirámides, y en cuanto llega a la zona molecular, se descompone en un elegante penacho de ramas protoplásmicas, terminadas libremente entre las fibrillas nerviosas de dicha zona. La reunión de todos los penachos periféricos da origen a un plexo protoplásmico tupidísimo, al cual se debe el aspecto finamente reticulado que muestra esta parte de la corteza en las preparaciones ordinarias al carmín. *Las expansiones laterales del tallo* proceden, en ángulo recto o agudo, al nivel de un ensanchamiento, dirígense a los lados y acaban libremente tras algunas dicotomías (fig. 401, l). *Las expansiones basilares* proceden del cuerpo y se dirigen, ya hacia los lados, ya hacia abajo, ramificándose sucesivamente y perdiéndose en las inmediaciones (fig. 401, a).

Si se examina una pirámide con buenos objetivos de in-

mención, se advierte que, a excepción del cuerpo y región inicial del tallo, todas las expansiones dendríticas están erizadas

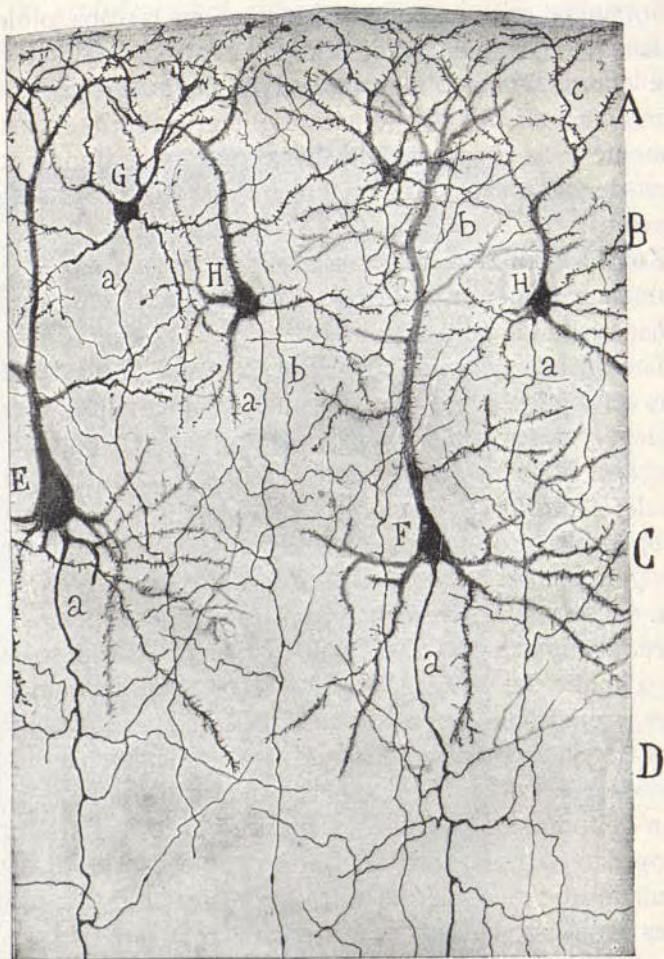


Fig. 400. — Detalles de la 1.ª, 2.ª y 3.ª capa de la región visual del cerebro del gato. Diversos tipos de pirámides; a, axon; b, colaterales de éste. (Método de Golgi.)

de espinas, perpendicularmente implantadas y terminadas por una varicosidad.

Las expansiones protoplásmicas delgadas exhiben, además,

coloreadas por el método de Ehrlich, un aspecto sumamente varicoso, tomado como disposición normal por Dogiel, Renault y otros. Tales varicosidades, que atraen vivamente el azul y se hallan a menudo ahuecadas por una vacuola clara, deben estimarse como alteraciones provocadas por la acción del aire (al cual hay que exponer mucho rato las células en fresco para lograr el teñido), pues no aparecen en las preparaciones de Golgi, en las cuales la coloración va precedida de la acción de un fijador enérgico, ni se ven las primeras fases del teñido de Ehrlich, cuando la acción perturbadora del aire es poco acentuada.

El *cilindro-eje* de las pirámides procede, como hemos dicho, de la base de las mismas o del origen de una expansión

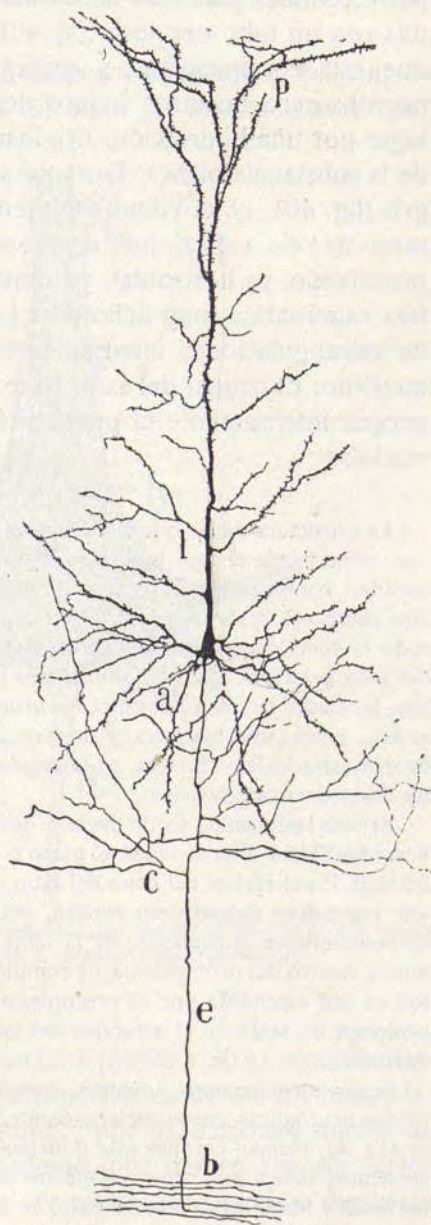


Fig. 401. — Célula piramidal del cerebro del conejo. Tipo celular de cilindro-eje largo; *a*, expansiones protoplasmáticas basales; *b*, tallo y sus ramas; *c*, colaterales del cilindro-eje; *e*, cilindro-eje largo; *d*, sustancia blanca.

protoplásmica basilar, dirígese hacia abajo, cruza todas las capas cerebrales y aborda la substancia blanca, donde se continúa con un tubo nervioso (fig. 401, *e*). Créiase por los aureros que esta continuación se verificaba siempre por un acodamiento; pero nosotros hemos demostrado que a veces tiene lugar por una bifurcación, originándose, por tanto, dos tubos de la substancia blanca. Durante su trayecto por la substancia gris (fig. 401, *c*), el cilindro-eje emite colaterales finas en número de seis a diez, que, desprendiéndose en ángulo recto y marchando, ya horizontal, ya oblicuamente, acaban por dos o tres ramúsculos muy delicados. Las colaterales nacen al nivel de estrangulaciones intensamente coloreables con el azul de metileno. El origen del axon atrae poco el color; pero éste impregna intensamente el punto próximo al origen de la vaina medular.

La estructura de las células nerviosas piramidales del cerebro responde casi enteramente al tipo motor de la médula. Poseen: núcleo esferoidal u ovoideo, compuesto de un grupo de esférulas cromáticas y de uno o varios cuerpos accesorios; grumos de Nissl finos (fig. 402, *b*), esparcidos por todo el soma y especialmente acumulados encima del núcleo y arranque del tallo principal, y, en fin, numerosos hacecillos de finísimas neurofibrillas, las cuales circulan por entre los grumos de Nissl, y pasan, de un lado, al axon y dendritas basilares, y de otro, a la recia expansión radial. Como ha demostrado Río-Hortega, en la región cortical de las pirámides existe un diplosoma característico.

Existen asimismo, según hemos demostrado nosotros, dos regiones neurofibrillares diferenciadas: el plexo o red perinuclear y el plexo laxo o cortical. En el vértice del cono del axon condénsanse tanto dichas hebras, que engendran delgadísimo cordón, notablemente ampliado en el paraje correspondiente al comienzo de la vaina medular. Añadamos aún la existencia, dentro del protoplasma, de complicados aparatos de Golgi, dispuestos en red extendida por el protoplasma próximo al núcleo; esta red se prolonga un tanto en el arranque del tallo radial, pero no penetra en las dendritas.

Según mencionamos nosotros, en torno de muchas pirámides residen células neuróglícas, cuyos núcleos, según demuestra el método del oro (figura 412, *A*), forman coronas más o menos completas. Verosímilmente, tales elementos tienen por principal misión impedir el contacto entre el soma nervioso y fibras nerviosas de paso, es decir, destinadas a entrar en relación con otras neuronas. Recuérdese, sin embargo, que los más menudos de

estos elementos pericelulares pertenecen, como dejamos expuesto en otro capítulo, al tipo *adendrítico* o exento de expansiones (figuras 402, *d*, y 408, *A*).

Capa tercera o de las grandes pirámides (*capa ammónica* de Meynert). — Sólo se distingue de la zona anterior por

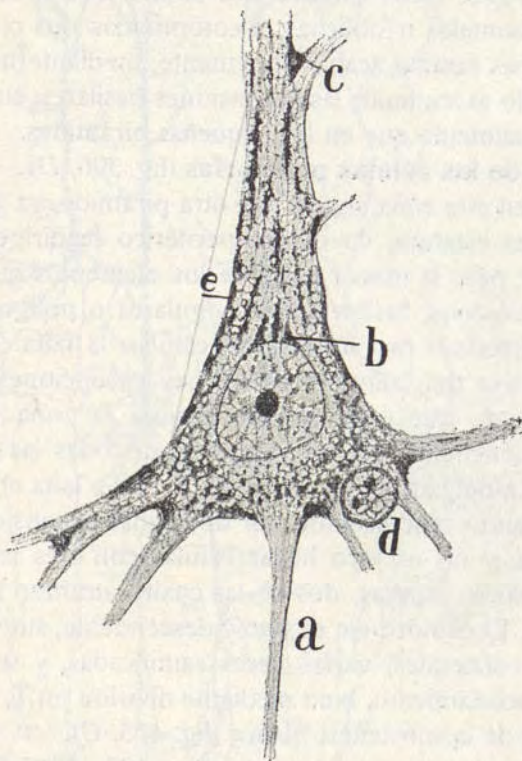


Fig. 402. — Gruesa célula piramidal del cerebro humano. Método de Nissl; *a*, axon; *b*, cuerpo celular; *c*, dendritas del tallo; *d*, corpúsculo enano adendrítico.

el gran tamaño de sus corpúsculos (de 20 a 30 μ) y por la mayor longitud y espesor del tallo periférico de los mismos. Hacia afuera, esta capa se confunde, por gradaciones suaves de tamaño celular, con la precedente; por dentro aparece mejor limitada, aunque no es raro ver pirámides grandes, dispersas en plena zona de los elementos polimorfos (fig. 396, *C*).

El cilindro-eje es muy espeso; desciende casi rectilíneamente, y al llegar a la substancia blanca se continúa, generalmente, con una fibra de proyección. En ocasiones, se bifurca o suministra una gruesa colateral, que parece destinada a formar el cuerpo calloso o comisura. Durante el trayecto por la substancia gris, estos cilindro-ejes emiten seis u ocho colaterales horizontales u oblicuas, dicotomizadas dos o tres veces; las más finas ramitas acaban libremente, mediante una nudosidad. El tallo ascendente, las expansiones basilares, etc., se comportan igualmente que en las pequeñas pirámides.

Capa de las células polimorfas (fig. 396, *D*). — Se hallan incluídas en esta zona alguna que otra pirámide, ya gigante, ya de mediana estatura, cuyo tallo periférico se dirige a la zona molecular; pero la mayor parte de los elementos que aquí yacen son ovoideos, fusiformes, triangulares o poligonales. Dos notas caracterizan casi todas estas células: la falta de orientación rigurosa del tallo periférico (hay excepciones) y la circunstancia de que éste, cuando alcanza la zona molecular, punto de encuentro de los penachos de todas las pirámides, se reduce a delgada rama terminal. A veces falta el tallo periférico, estando representado por dos o más expansiones cortas y oblicuas; y no es raro hallar células con tres expansiones protoplásmicas espesas, dos de las cuales alcanzan la substancia blanca. El cilindro-eje es fino y descendente, suministra tres o cuatro colaterales, varias veces ramificadas, y se continúa, bien por acodamiento, bien mediante división en T, con uno o dos tubos de la substancia blanca (fig. 403, *C*).

Células de cilindro-eje corto (fig. 403, *E*). — Mezcladas, aunque en pequeño número, con los elementos de las tres últimas capas de la corteza, se hallan dos especies celulares, caracterizadas por la particularidad de que su cilindro-eje termina arborizándose en el mismo espesor de la substancia gris. Estas dos especies son: los *corpúsculos sensitivos de Golgi* y las *células de cilindro ascendente de Martinotti*.

Los primeros (fig. 403, *E*) suelen ser robustos, poligonales, y envían expansiones protoplásmicas en todos sentidos. El cilindro-eje, procedente ya de la parte superior, ya de la infe-

rior, bien de la lateral del cuerpo, marcha en dirección variable y se descompone a poco trecho en una arborización libre,

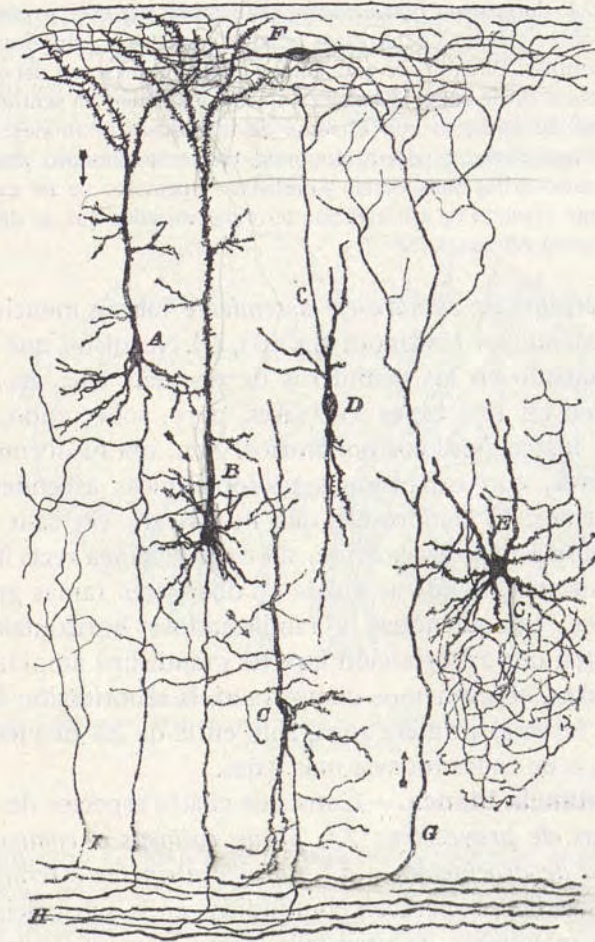


Fig. 403. — Diversos elementos constitutivos de la sustancia gris cortical; A, pirámide mediana; B, pirámide grande; C, célula de la capa de elementos polimorfos; E, célula de cilindro-eje corto; D, célula de Martinotti o de cilindro-eje ascendente; F, célula especial de la primera capa o plexiforme; G, fibra nerviosa terminal; H, sustancia blanca; I, colateral de la sustancia blanca.

varicosa, cuyas ramitas envuelven los cuerpos de los corpúsculos vecinos.

En el hombre las células de axon corto son sumamente numerosas y afectan formas y tamaños muy variables. Además del tipo grueso poligonal antes referido, descubierto hace tiempo por Golgi, encuéntrase estos dos tipos: *A. Corpúsculo bipenachado*, así llamado por exhibir cuerpo pequeño ovoideo y brazos dendríticos polares resueltos en pinceles radiales de finas ramillas. El axon, de gran finura, descompónese en arborizaciones pericelulares de suma delicadeza, que se extienden en sentido radial y se ponen en contacto con el soma de numerosas pirámides. *B. Corpúsculo aracniforme*, es decir, diminuto elemento nervioso dotado de abundantes dendritas finas, cortas y radiadas, y provisto de un axon sutil bruscamente resuelto en arborización terminal varicosa que se dilata por área muy poco extensa.

Las células de cilindro-eje ascendente fueron mencionadas primeramente por Martinotti (fig. 403, *D*). Nosotros, que las hemos estudiado en los mamíferos de pequeña talla, las hemos hallado en las tres capas inferiores, pero, sobre todo, en la zona de los corpúsculos polimorfos. Son, ora fusiformes, ora triangulares, con expansiones protoplásmicas ascendentes y descendentes. El cilindro-eje, que no es raro ver salir de un tallo protoplásmico ascendente, sube casi en línea recta hasta la zona molecular, donde se divide en dos o tres ramas gruesas, las cuales, extendiéndose y ramificándose horizontalmente, constituyen una arborización final de grandísima amplitud. Algunas veces, como hemos demostrado, la arborización final se termina, no en la primera zona, sino en la de las pequeñas pirámides, o en capas todavía más bajas.

Substancia blanca. — Consta de cuatro especies de fibras: 1.^a, *fibras de proyección*; 2.^a, *fibras callosas o comisurales*; 3.^a, *fibras de asociación*, y 4.^a, *fibras centripetas o terminales*. Todas estas fibras aparecen confundidas en la substancia blanca de los mamíferos de gran talla (perro, carnero, vaca, hombre, etc.), siendo absolutamente imposible determinar, por la observación directa, ni su origen ni su terminación. Afortunadamente, en los pequeños mamíferos las dificultades analíticas amenguan, resultando hacedera la persecución, durante un trecho bastante considerable, de muchas de estas fibras.

Fibras de proyección. — Estas fibras nerviosas proceden de todas las regiones de la corteza, convergiendo a través del

cuerpo estriado para ingresar en los pedúnculos cerebrales. En los pequeños mamíferos, en cuanto llegan a la altura del cuerpo calloso, emiten a veces una colateral gruesa para este cuerpo; luego descienden en manojitos separados a través del cuerpo estriado (fig. 404, C, H).

¿De qué célula provienen las fibras de proyección? Ciertos autores, Monakow entre otros, suponen que dichas fibras son

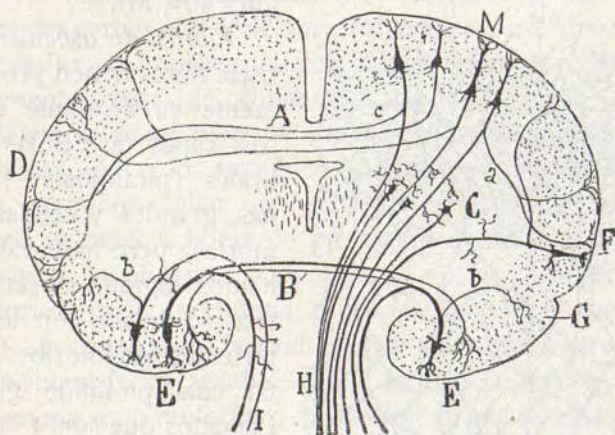


Fig. 404. -- Corte frontal esquemático del cerebro de un mamífero; M, región motriz de la corteza de donde salen fibras de proyección (H); A, fibras callosas; B, comisura anterior; C, cuerpo estriado.

continuación exclusiva de las pirámides gigantes, mientras que las fibras de asociación y callosas tendrían su origen en pirámides pequeñas. Las observaciones que nosotros hemos realizado tocante a este punto, aunque distan mucho de ser completas, nos parecen establecer de manera indudable que las fibras de proyección dimanaban tanto de pirámides grandes como de pirámides pequeñas, sin excluir siquiera algunos corpúsculos polimorfos; y esta procedencia de células de dimensión variable podría servir para explicar por qué los haces de fibras de proyección que descienden por el cuerpo estriado contienen mezclados cilindro-ejes gruesos y delgados. En

cuanto a la terminación inferior de estas fibras, nada puede decirnos la observación directa por los métodos anatómicos. Pero la anatomía patológica y el método de Flechsig nos enseñan que una buena parte de ellas constituye (por lo menos las nacidas en la *región motriz* de la corteza cerebral) la llamada *vía piramidal*, camino

descendente de las incitaciones motrices voluntarias (figura 404, *M*).

Fibras de asociación. —

Estas fibras tienen probablemente su arranque en las tres capas de células cerebrales (piramidales pequeñas, grandes y células polimorfas); pero hasta hoy sólo hemos logrado observar *de visu* su enlace con los corpúsculos polimorfos y con tal cual pirámide gigante. Llegados que son a la sustancia blanca, tales axones marchan más o menos horizontalmente por encima del cuerpo calloso, y después de un trayecto variable penetran en la corteza gris de una circunvolución vecina, o en la de un lóbulo diferente, pero siempre del hemisferio del mismo lado. La terminación se efectúa a favor de

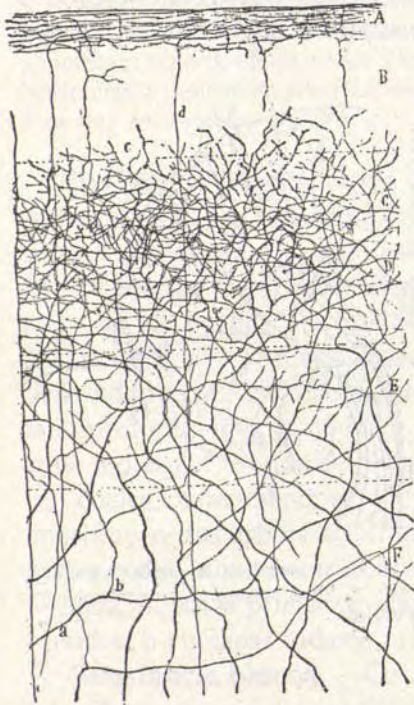


Fig. 405. — Fibras sensitivas arborizadas en la corteza cerebral motriz del gato; A, capa molecular; B, pequeñas pirámides; C, D, capa de medianas pirámides; E, capa de pirámides gigantes; F, capa de corpúsculos polimorfos; a, fibra centripeta; b, bifurcación; d, fibra ascendente de Martinotti.

arborizaciones libres, que se extienden preferentemente por la zona molecular. Algunas fibras de asociación se bifurcan en su camino por la sustancia blanca, pudiéndose distribuir por dos o más regiones apartadas del cerebro. En el conejo y ratón casi todas y acaso todas las fibras de asociación representan

ramas de bifurcación y colaterales largas de las fibras de proyección (fig. 404, *a, b*).

Las fibras de asociación aumentan en número proporcionalmente a la cantidad de sustancia gris; por eso en el hombre y grandes mamíferos, donde ésta aparece replegada en circunvoluciones, las fibras de asociación forman, por su abundancia, la masa principal de la sustancia blanca. Aparte de otras condiciones, cabe afirmar que la inteligencia está en razón directa del número y complicación de las fibras de asociación. Los grandes cerebros del elefante, ballena, etc., así como el del buey, caballo, etc., poseen muchas células de proyección, pero relativamente escasas de células de asociación.

Colaterales de las fibras de asociación. — La aplicación del método de Golgi a los mamíferos pequeños y recién nacidos nos ha permitido hallar un hecho de cierta importancia: la existencia en muchas fibras de asociación de ramitas colaterales finísimas, ascendentes y ramificadas en las diversas capas de la corteza gris superpuesta. Eligiendo para el conveniente examen ciertas regiones favorables, por ejemplo, la cara interna de los hemisferios, se advierte que algunas colaterales alcanzan la misma zona molecular, donde acaban por extensas arborizaciones libres, disposición que aparece también de un modo evidente en la corteza cerebral de los reptiles.

Fibras callosas. — Yacen debajo de las de asociación, y en los pequeños mamíferos constituyen un plano transversal bien limitado que sirve de cubierta a los ventrículos laterales. Llama desde luego la atención, en las buenas impregnaciones del cuerpo calloso, la extrema delicadeza de sus fibras: diríase que son meras colaterales de cilindro-ejes. En las preparaciones ejecutadas con el método de Weigert-Pal, ofrecen también una vaina de mielina singularmente delgada. Proceden las fibras callosas de todos los parajes de la corteza de un lado y se terminan en todos los del otro, salvo la región esfenoidal de los hemisferios, donde las fibras comisurales marchan aparte, constituyendo la comisura anterior (fig. 404, *B*).

El origen y terminación de las fibras callosas son problemas por resolver. De algunas de ellas podemos asegurar que repre-

sentan colaterales de fibras de proyección o de fibras de asociación (fig. 404, A). Otras quizá sean la continuación de cilindroejos directos, nacidos en pirámides corticales del otro lado.

Neuroglia de la corteza cerebral. — Al describir la glía en general (pág. 504 y siguientes), hemos señalado ya las modalidades neuróglicas más comunes del cerebro, que son: 1.^a, los *astrocitos de cortas radiaciones*, peculiares de la subs-

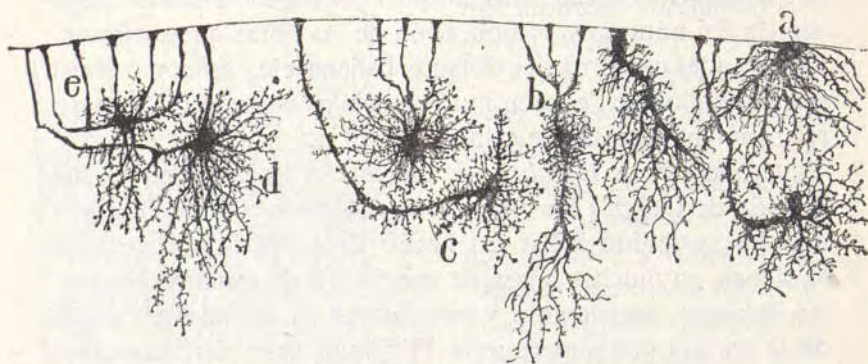


Fig. 406. — Células neuróglicas de la capa molecular del cerebro. Niño de pocos meses. Método de Golgi; a, superficie cerebral; b, d, c, diversos tipos de células cometarias; e, pies terminados bajo la pia.

tancia gris (fig. 282); 2.^a, los *astrocitos de largas radiaciones*, característicos de la sustancia blanca (fig. 281); 3.^a, las *células neuróglicas satélite*, que rodean el cuerpo de las pirámides centrales (fig. 407, A), costeando a menudo, ya sus lados, ya su base; 4.^a, en fin, los *corpúsculos adendríticos*, de talla reducida, sin expansiones o dotados de recias y cortas excrescencias (figura 285, B) y habitantes tanto en la sustancia gris como en la blanca. Esta última variedad se concentra especialmente en torno de las neuronas grandes, constituyendo una especie satélite enana, esferoidal, que repugna todas las materias colorantes y se muestra refractaria a las fórmulas de impregnación argéntica y áurica (figuras 407, a, y 408, A, a).

Además de las variedades citadas, comunes a otros centros nerviosos, la corteza cerebral encierra otras dos: 5.^a, el *tipo cometario y arciforme* de la *zona molecular*, bien descrito hace

tiempo por Retzius, y del cual damos una imagen en la figura 406, y 6.^a, la *glía de células diminutas* (*microglía* de Río-Hortega), caracterizada por la pequeñez del soma, figura lobulada, triangular o fusiforme del núcleo, y por la presencia de

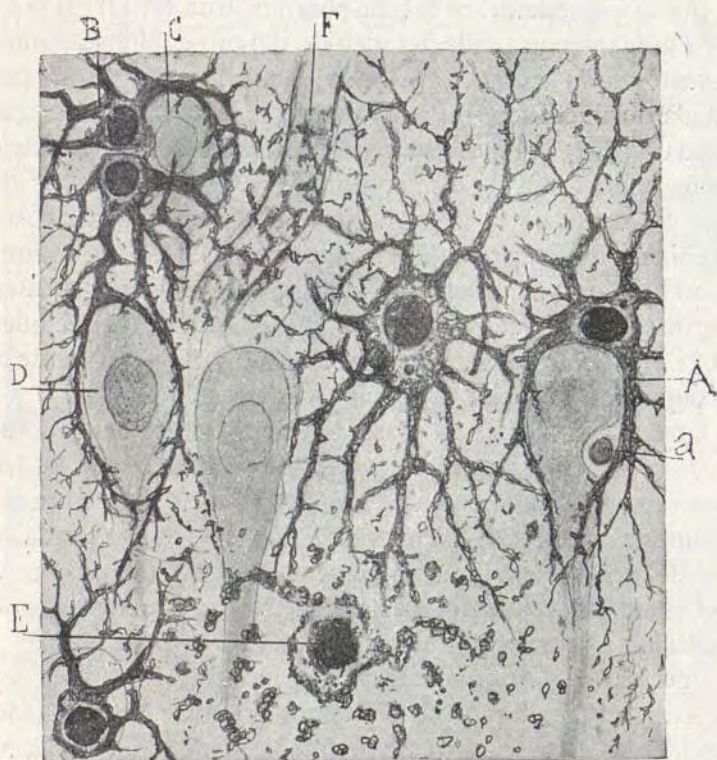


Fig. 407. — Células neuróglicas de la sustancia gris del asta de Ammon; A, corpúsculo satélite; C, D, neuronas abrazadas por macroglía satélite.

dos o más expansiones protoplásmicas finas, espinosas, repetidamente divididas y terminadas a no mucha distancia en el espesor del plexo intersticial. En este tipo mesoglial, bien estudiado recientemente (1920) por Del Río, cabe diferenciar tres modalidades morfológicas: *a*, la *célula bacilar* (*Stäbchenzellen*, de Nissl), cuidadosamente analizada por Achúcarro en diversos procesos patológicos (fig. 408, E); *b*, la *célula triangular* o es-

trellada, comunísima en la substancia gris del cerebro (figura 408, F), y que, de vez en cuando, se la encuentra junto a las pirámides (fig. 408, D, C), y c), la *microglía de la substancia blanca*, algo más gruesa y provista de más granulosos apéndices que la precedente. Señalada por nosotros (1913) en el cerebro humano con ayuda del método del oro-sublimado (nuestra *neuroglía heterotípica*), ha sido detalladamente (1920) presentada por Del Río (1). Por lo demás, la *microglía o mesoglia* abunda también en el cerebelo (Cajal), bulbo olfatorio (Castro), médula espinal (Cajal), etc., como que constituye un factor general constante de la organización de los centros nerviosos. En opinión de Robertson (2), Achúcarro y Del Río, en contraste con la *macroglía*, o sean los astrocitos grandes de la substancia gris y blanca que proceden, como es sabido, del ectodermo, la *microglía* derivaría del mesodermo y verosímilmente de la sangre. Río-Hortega ha seguido sus fases evolutivas.

CORTEZA REGIONAL. — Hasta aquí nos hemos ocupado del estudio de la corteza cerebral en abstracto, es decir, de los factores esenciales constructivos de la substancia gris cortical y comunes al hombre y mamíferos. Pero, en realidad, cada región del cerebro, aunque coincidente con las demás en sus rasgos anatómicos esenciales, posee textura propia, como adaptación a la especial función que le está encomendada.

Porque, lejos de constituir un órgano único y homogéneo, la corteza cerebral representa, según prueban los resultados coincidentes de la fisiología experimental y de la anatomía patológica, una pluralidad de esferas o centros de actividades y conexiones específicas (3).

(1) Véase Del Río-Hortega: «Estudios sobre la neuroglía, etc.», *Trab. del Lab. de Investigaciones biol.*, tomo XVIII, fascículo 1.º, 1920; y Cajal: «Consideraciones sobre la mesoglia de Robertson y Del Río, etc.», *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, 1912.

(2) Según Del Río, la mesoglia de Robertson correspondería a un tipo especial de glía provista de finas y escasas radiaciones, 1922 (*óligo dendroglía*). El examen de los dibujos de Robertson no convence, a la verdad, de que haya observado bien la microglía.

(3) Quien desee detalles acerca de la arquitectura de estos centros, cuyo estudio fuera aquí inoportuno, consulte nuestro libro *Histologie du système nerveux*, tomo II, 1911; la *Revista trimestral micográfica*, tomos IV y V; los tomos I y II de los *Trab. del Lab. de Investigaciones biol.*, así como las Memorias de Brodmann, Cécile y Oscar Vogt, y, en general, todas las investigaciones dadas a luz por el *Instituto neurobiológico*, de Berlín. (*Journal für Psychologie und Neurologie*, 1903 a 1920). Leipzig, Barth.



Fig. 408. — Microglia de la corteza cerebral del hombre normal; A, satélites enanas globulosas; a, b, o, r, s, otros tipos semejantes incolorables por la plata; E, microglia bacilar; G, D, microglia satélite; F, P, H, G, m, variedades microgliales, triangulares o de otras formas; n, microglia perivascular. (Método de Bielschowsky con mordiente al acetato de cobre.)

Tales centros o regiones dinámicamente diferenciados distribúyense en dos grupos: 1.º, *centros perceptivos* (*centros de proyección* de Flechsig), destinados a recibir las impresiones de los sentidos para transformarlas en percepciones; y 2.º, *centros conmemorativos*, llamados también de *asociación* por Flechsig, desprovistos de relaciones directas con los órganos sensoriales, pero cuyas fibras aferentes proceden, quizá, de los *centros perceptivos*.

Los *centros cerebrales perceptivos*, bien conocidos hoy, son: el *visual*, situado en la cara interna del lóbulo occipital, en los labios y fondo de la *fisura calcarina* e inmediaciones; el *sensitivo-motor*, localizado en la circunvolución frontal ascendente y regiones vecinas del lóbulo frontal; el *acústico*, emplazado en la primera circunvolución esfenoidal y hueco de la cisura de Silvio, y el *olfativo*, situado en la circunvolución del hipocampo (lóbulo piriforme de los pequeños mamíferos).

Los *centros de asociación o conmemorativas* ocupan las regiones intermediarias a los centros perceptivos, abarcando en el hombre la mayor parte de la corteza. Su número y especificación fisiológica distan mucho de haberse puntualizado. A juzgar por lo que sabemos de los pocos focos de este género hoy bien localizados (centro motor del lenguaje, centro visual de las palabras, centro de las imágenes auditivas de éstas, etc.), los focos asociativos se distinguen entre sí, en lo fisiológico, por la calidad sensorial de las imágenes en ellas registradas (hay focos asociativos o conmemorativos visuales, acústicos, etc.), y en lo anatómico, por recibir quizá vías aferentes del centro perceptivo de que dependen.

Los centros perceptivos, como los conmemorativos, poseen, según dejamos apuntado, textura especial perceptible hasta en los preparados del carmín y de Nissl, según adivinó ya hace tiempo Meynert y han demostrado recientemente Hammarberg, nosotros, Schaper, Vogt, Brodmann, etc. Tales diferencias estructurales acentúanse notablemente en los preparados de Golgi y neurofibrillares, y se corroboran, además, apelando a los métodos *mielogenético* de Flechsig y *mielo-arquitectónico* usado modernamente por diversos autores.

El carácter elemental de esta obra nos veda entrar en detalles relativos a la organización de las cortezas regionales.

GANGLIOS SIMPÁTICOS

Llámanse *ganglios simpáticos* a las masas grises yacentes en los puntos nodales de los dos grandes nervios simpáticos,

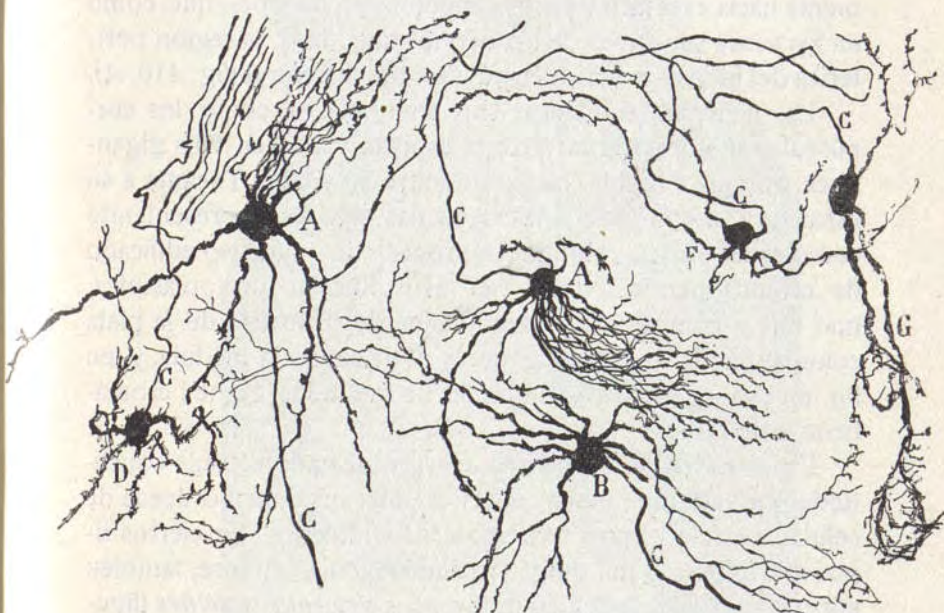


Fig. 409. — Células simpáticas del ganglio cervical superior del perro adulto; A, B, tipo de largas dendritas; C, axon; D, tipo de dendritas cortas; G, células cuyas dendritas forman nidos pericelulares.

nervios extendidos en forma de cadena a lo largo del raquis y por delante y los lados de los cuerpos de las vértebras. Como focos simpáticos se consideran también todas las intumescencias grises, mostradas por los plexos viscerales (*plexo solar hipogástrico*, etc.), y por las ramas y trayecto periférico de ciertos nervios craneales. Por ejemplo, pertenecen al tipo estructural simpático el *ganglio oftálmico*, el *esfeno palatino*,

el *ótico* los *ganglios cardíacos*, los de Auerbach del intestino, etcétera.

En cada ganglio simpático hay que distinguir tres factores: las *células nerviosas*, los *nervios eferentes o fibras de Remak* y, las *fibras aferentes o de origen central*.

Células nerviosas. — Hállanse esparcidas irregularmente por todo el ganglio, constituyendo conglomerados separados por plexos de fibras nerviosas. Éstas se concentran especialmente hacia el centro y cabos ganglionares, de modo que, como en los focos sensitivos de los nervios raquídeos, la región periférica del foco es más rica en células que la central (fig. 410, A).

Las neuronas simpáticas son multipolares, como los corpúsculos motores de la médula espinal, y poseen talla gigantesca, aunque variable, oscilando entre 50 y 80 μ . Tocante a su estructura, aseméjense a las neuronas sensitivas, presentando como éstas: núcleo voluminoso provisto de un núcleo edificado de cromosomas esféricos; red neurofibrillar protoplásmica, más fina y complicada y menos afine de ordinario de la plata coloidal que la de sus congéneres motrices de la médula, y, en fin, un espongioplasma sembrado de menudos granos cromáticos o de Nissl.

En torno del protoplasma aparece delgada cápsula constituida por sutil membrana conectiva, interiormente bordeada de células capsulares que recuerdan los endotelios. En ciertos tipos morfológicos del simpático humano encuéntrase, también entre la cápsula y la célula, numerosos *elementos satélites* (figura 413, B).

Las expansiones celulares son numerosas, oscilando, por lo común, entre 4 y 10. Cuando no se había aplicado al estudio de las células simpáticas otro método que la disociación, creíase que todas las prolongaciones tenían carácter de nerviosas y se continuaban con fibras de Remak. La aplicación del proceder de Golgi (impregnación doble) a los ganglios simpáticos del perro y a los de embriones de ave, nos ha permitido refutar esta opinión, conduciéndonos a identificar en lo morfológico las células simpáticas con las del eje cerebro-raquídeo. Después de algunas vacilaciones, logramos demostrar que toda

célula simpática posee dos clases de expansiones: *protoplásicas* o cortas, ramificadas repetidamente y terminadas libremente en el espesor del ganglio y una *expansión nerviosa*, gruesa, lisa, que sale del ganglio simpático, continuándose con



Fig. 410. — Células del ganglio cervical superior del gato. Método de Ehrlich; A, B, C, células nerviosas simpáticas; a, axones; b bifurcaciones de fibras motrices aferentes (motrices de primer orden); D, cordones comunicantes.

una fibra de Remak. Durante su trayecto intraganglionar esta prolongación no se ramifica, y al emerger del ganglio, sigue uno de estos dos caminos: o se incorpora al par cerebro-raquídeo correspondiente, para constituir los nervios llamados *rami comunicantes*, o se dirige a su ganglio simpático vecino, for-

mando los cordones anastomóticos de la cadena simpática (figuras 410, *c*, y 411, *a*).

Tal es, en general, la morfología de las neuronas, de la cadena simpática de los mamíferos (ratón, conejo, gato, etc.). En el hombre, este mismo tipo multipolar predomina (figuras 411 y 412, *D*), tanto en la cadena del gran simpático prevertebral como en los gruesos ganglios viscerales. Pero

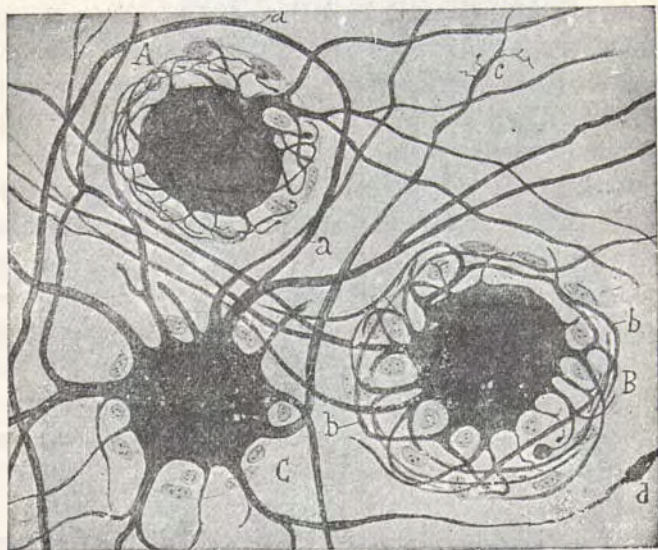


Fig. 411. — Células simpáticas del ganglio cervical superior del hombre adulto. Método del nitrato de plata reducido; *A*, tipo con dendritas cortas dispuestas en corona; *B*, tipo cuyas dendritas subcapsulares se disponen en nido; *C*, tipo estrellado común.

nuestras investigaciones, efectuadas con el método del nitrato de plata reducido, enseñan que, además del tipo dominante, los focos simpáticos humanos, y muy especialmente el *ganglio cervical superior* (especie de cerebro del sistema simpático), encierran estos tres tipos:

a) Célula en forma de corona y provista casi exclusivamente de dendritas cortas intracapsulares. — La cápsula aparece muy ampliada y apartada del contorno protoplásmico, y el espacio intermedio, lleno de plasmas y de corpúsculos satélites, es recorrido por una infinidad de apéndices cortos, ramificados, divergentes, como dientes de rueda, y terminados por debajo de la membrana capsular. Los hay delgados y gruesos, cortos y largos, pudiendo estos últimos doblarse por debajo de la cápsula y engendrar

en torno de la célula de que se originan ovillos complicados. El axon atraviesa la cápsula y se comporta como de ordinario (fig. 411, B).

b) *Célula en forma de cometa.* — Se asemeja al tipo precedente o de dendritas subcapsulares, del que difiere por ofrecer la cápsula una prolongación en forma de zurrón, de cuya punta suele emerger el axon, y en ocasiones alguna dendrita larga. El espacio pericelular se muestra surcado de



Fig. 412. — Corte de un ganglio lumbar. Hombre de treinta y ocho años; *f*, nido dendrítico pericelular; *d*, expansión protoplásmica larga que remata entre las dendritas accesorias de otra célula; *b*, *g*, matorrales de dendritas accesorias; *a*, fibra aferente ramificada, en parte, por el matorral dendrítico, *g*. (Tomada de Castro.)

apéndices finos radiados, mientras que en el zurrón o cola cometaria concurren, disponiéndose en plexo complicado, otros apéndices protoplasmáticos, más recios y largos y repetidamente ramificados. El tupido plexo subcapsular de recias dendritas así construido, toma el nombre de *glomérulo simpático* (fig. 413, B).

c) *Célula estrellada provista de apéndices largos y cortos.* — Semillante al tipo multipolar dominante, difiere de él en que, además de las expansiones dendríticas largas, posee otras breves, finas y divergentes, que acaban libremente bajo la cápsula. En cuanto al axon, compórtase como en los demás tipos simpáticos (figura 411, A).

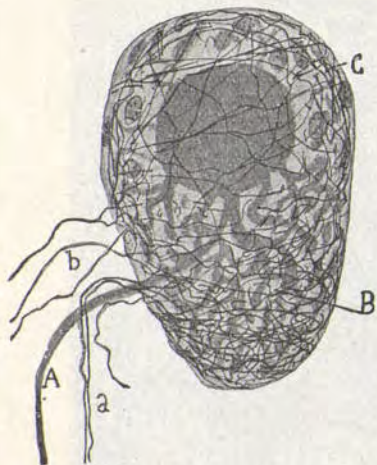


Fig. 413. — Célula en forma de cometa; A, axon; B, glomérulo; a, fibras nerviosas aferentes; C, plexo nervioso subescapular.

Fibras eferentes. — Según dejamos consignado, los axones de las células simpáticas se cubren de una membrana nucleada para constituir las *fibras de Remak*; circulan después, reunidas en manojos, por entre las neuronas del ganglio, y emergen, por fin, de éste, convertidos en nervios del gran simpático. El trayecto seguido por tales fibras es variable, y ha motivado la distinción en

estas tres categorías: 1.^a, *rami comunicantes*, compuestas por aquellas fibras simpáticas que, después de emerger del ganglio, se incorporan al par nervioso raquídeo inmediato, se dirigen con él a la periferia (fig. 415, e, d) y se distribuyen, en fin, en el sistema vascular (túnica media de las arterias y venas, músculos *arrectores pili*, etc.); 2.^a, *nervios viscerales*, es decir, cordones nerviosos brotados del ganglio y destinados a la vísceras torácicoabdominales y sus plexos nerviosos (plexo cardíaco, solar, hipogástrico, etc.); 3.^a, *cordones anastomóticos o de unión*, formados principal, aunque no exclusivamente, por axones simpáticos que, nacidos en un ganglio, marchan en sentido longitudinal a lo largo y por el eje de los focos vecinos, para emerger, por fin, incorporados a los *rami comu-*

nicantes o a nervios viscerales, a distancia más o menos considerable del ganglio de origen, después de haber suministrado



Fig. 414. — Células de un ganglio cervical simpático del embrión de pollo; A, raíz motriz de la médula que cruza el ganglio; a, b, c, células simpáticas; g, h, ramificaciones terminales de fibras de paso, probablemente llegadas de la médula espinal (motrices de primer orden); B, cordón longitudinal que junta entre sí los focos simpáticos.

algunas colaterales durante su tránsito por los focos atravesados (fig. 414, j, i).

Todos estos nervios tienen como principal campo de dis-

tribución los músculos de fibra lisa del árbol sanguíneo, los de los conductos excretorios de las glándulas y, en fin, los de las recias tónicas del intestino. Acaso tales fibras nerviosas se ponen también en relación directa con las células glandulares, aunque bien podría suceder que entren en contacto con las neuronas de los ganglios viscerales de que procederían los nervios propiamente glandulares (fig. 418, *e, f*).

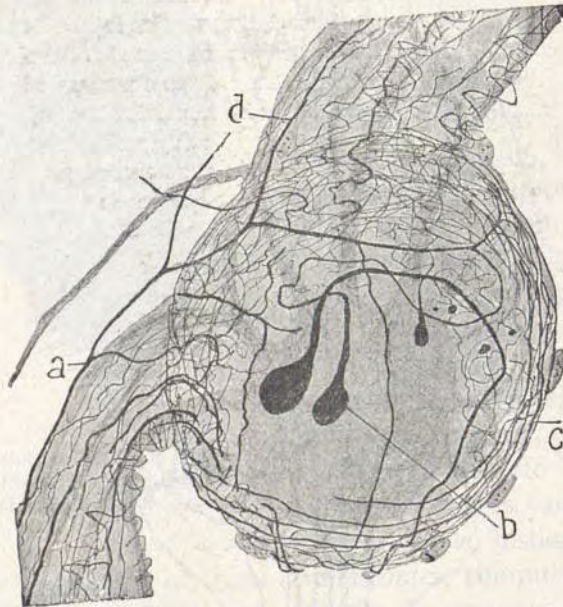


Fig. 415. — Célula nerviosa simpática rodeada de fibrillas nerviosas tomadas del ganglio cervical del hombre. *a*, fibras aferentes. *c*, nido pericelular; *b*, masas terminales.

Fibras nerviosas aferentes o de origen medular. — Entre las células simpáticas de los ganglios existe un plexo nervioso complejo, descubierto por nosotros y mejor descrito por Fusari y van Gehuchten, en donde colaboran tres categorías de fibras: *a*), colaterales emanadas de axones longitudinales de paso y amedulados, cuyas células de origen yacen en ganglios inmediatos; *b*), ramas colaterales y terminales brotadas de fibras meduladas de paso, pero llegadas de la médula espinal

con los *rami-comunicantes* destinados a ganglios vecinos, y *c*), ramas colaterales y terminales suministradas por fibras meduladas directas, es decir, procedentes de la médula espinal y llegadas con los *rami-comunicantes* más próximos.

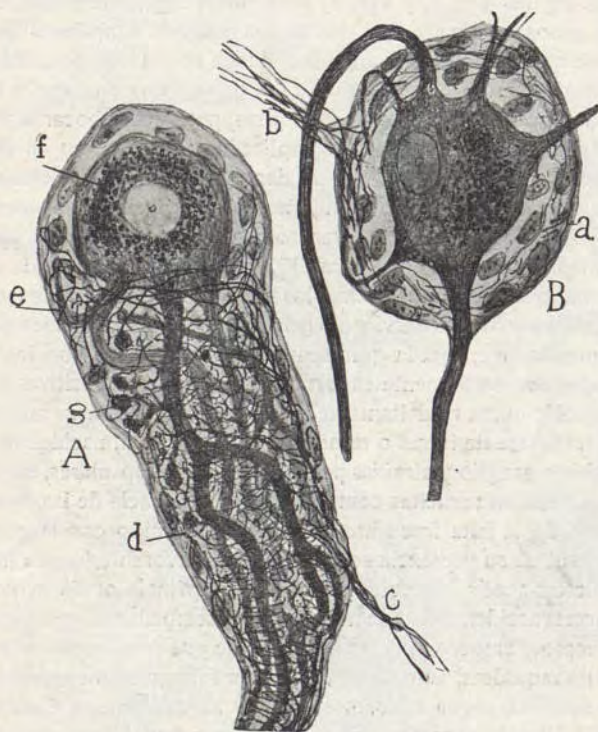


Fig. 416. — Dos células provistas de nidos nerviosos, tomadas del gran simpático del caballo. A, tipo celular cometa; B, tipo estrellado; a y d, hebras nerviosas.

Todas estas fibras meduladas tienen sus células de origen en el asta anterior de la médula espinal y en focos no bien conocidos aún del bulbo raquídeo. Su terminación en los ganglios simpáticos efectúase a favor de plexos difusos en contacto con las dendritas, a lo largo de las cuales corren las ramas nerviosas más finas. Menos frecuentemente se disponen en nidos nerviosos situados en torno de las células.

Nuestras investigaciones en los ganglios simpáticos humanos, teñidos con el proceder del nitrato de plata reducido, han revelado, no sólo los plexos nerviosos intersticiales antes indicados, sino ciertos ovillos perineuronales complicados, cuyas fibras acaban a menudo en bolas o mazas libres, enteramente semejantes a los abultamientos finales de las fibras nerviosas en vías de regeneración.

En las figuras 415, *c*, y 416, *a*, mostramos algunas especies de estos singulares nidos terminales tomados de los ganglios simpáticos del hombre. Nótese que las dendritas son desde luego abordadas por fibras finas despojadas, después de muchas divisiones, de su vaina medular, y las cuales marchan hacia el soma trazando espiras, para desembocar al fin en el nido nervioso, donde se ramifican complicadamente y entran en contacto, tanto con el soma como con las cortas dendritas. En los tipos cometarios o de zurrón glomerular, además del nido nervioso pericelular, se observa otro tupido plexo intraglomerular de gran complicación. Cada célula puede recibir, según mostramos en la figura 415, *a*, *b*, fibras nerviosas de diversas procedencias, que abordan el soma o los glomérulos, según radios variados.

Los referidos ovillos nerviosos, ¿son disposiciones normales o patológicas? Teniendo en cuenta la gran semejanza que ofrecen con los pelotones formados accidentalmente en torno de las neuronas sensitivas trasplantadas, Nageotte opina resueltamente en favor de su naturaleza morbosa. En su sentir, trataríase de fibras o retoños de regeneración, nacidos en neuronas del mismo ganglio y atraídas por los elementos capsulares, en torno de los que describirían revueltas complicadas. La presencia de las bolas finales (fig. 415, *b*), la falta frecuente de contacto del nido con la célula y la accidentalidad de su presencia son hechos muy favorables a esta hipótesis.

En nuestro sentir, Nageotte tiene razón en principio: los ovillos constituyen formas accidentales, que no parecen desempeñar ningún papel fisiológico; creemos, empero, que las neuronas de que provienen no son simpáticas, sino raquídeas, aunque algunas estén formadas por expansiones de la misma neurona, según señalamos (1914) y ha confirmado Castro (1923) (figura 417). El nido representaría quizá una producción anormal y exuberante del plexo nervioso terminal fisiológico (fibras motrices llegadas con las raíces anteriores), vegetación atípica que obedecería a estímulos hoy por hoy indeterminados (¿toxinas intestinales, aumento en el poder secretor y atraente de la cápsula pericelular?).

Resulta de lo expuesto que el gran simpático no es un centro absolutamente autónomo, puesto que, según acabamos de ver, se halla subordinado a los impulsos recibidos de la médula espinal. Estas fibras de origen *cerebrorraquídeo*, y que deben estimarse como las *raíces del gran simpático*, han sido designadas por Kölliker *fibras motrices de primer orden*, a fin

de diferenciarlas de las fibras de Remak o conductores nacidos en los mismos focos simpáticos, los cuales se denominan *fibras motrices de segundo orden*.

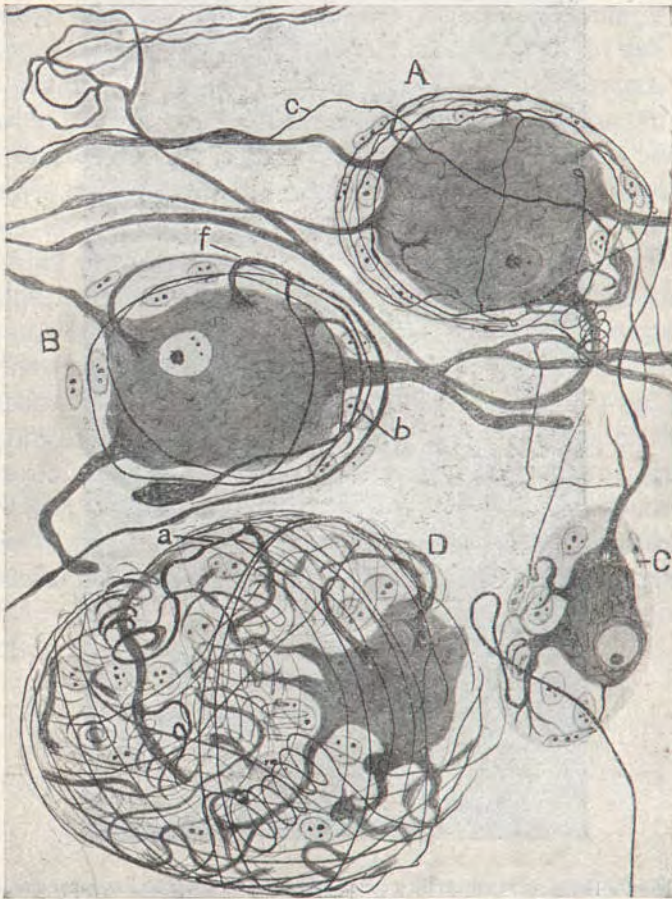


Fig. 417. — Células del ganglio cervical superior. Hombre de cincuenta años; B y D, células con falsos nidos pericelulares; A, célula del tipo mixto, con la ramificación de una fibra aferente pregangliónica (c). (Tomada de Castro.)

En la figura 418 mostramos el conjunto de las conexiones de varios ganglios simpáticos con sus raíces en la médula espinal (a, b) y sus ramas viscerales (e, d). En esta figura demostra-

mos cómo, tanto las fibras venidas de la médula como las nacidas en los ganglios, pueden, antes de formar su arborización

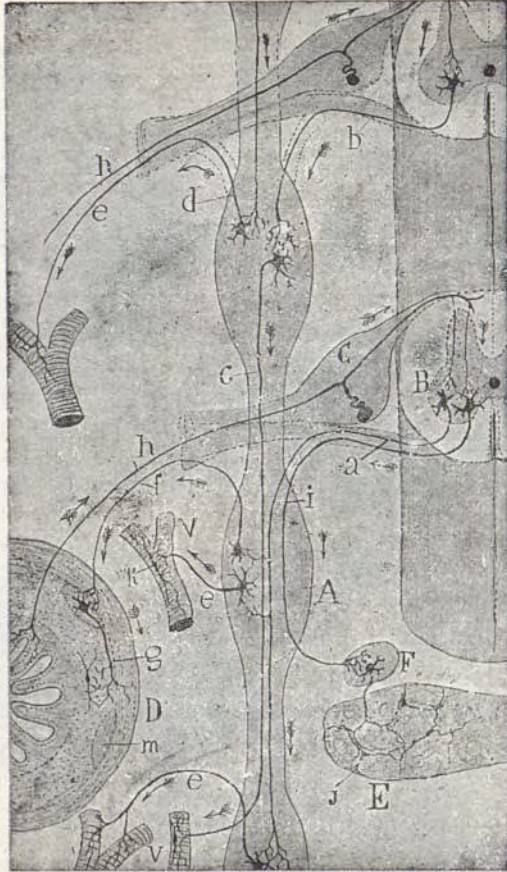


Fig. 418. — Esquema de la estructura y conexiones del gran simpático. A, ganglio simpático; B, asta anterior de la médula espinal; C, ganglio sensitivo; D, intestino; E, una glándula; a, fibra motriz de primer orden terminada en varios ganglios; b, otra terminada en un ganglio; c, fibra de segundo orden, constitutiva de la comisura longitudinal; d, fibra de la misma clase incorporada a los rami-comunicantes; e, fibras destinadas a las arterias, etc.

terminal, marchar longitudinalmente a través de uno o más focos nerviosos, entrando en conexión con numerosas neuronas (a, c).

Ganglios simpáticos viscerales. — Textura análoga poseen los ganglios simpáticos yacentes cerca de las vísceras, dentro de los complicados plexos de las cavidades torácica y abdominal, tales como: los *focos semilunares del plexo solar*, los *ganglios del plexo hipogástrico*, los *focos cardíacos y glandulares*, etc. En todos ellos domina la célula multipolar típica, sin que falte la modalidad en rueda dentada y la en forma de cometa, y se reparten fibras medulares. Los nidos pericelulares son también complicados y ricos. En estos últimos años (1908), las investigaciones de Michailoff han probado que en los ganglios cardíacos, en los vesicales, etc., existen, además del tipo multipolar, otras categorías neuronales, que recuerdan algunos elementos provistos de cortas dendritas, descritos por nosotros en el gran simpático humano. Entre otros, habitaría un corpúsculo, cuyos apéndices, verrugosos y anchos, darían a la neurona el aspecto de una rueda de paletas. De los plexos y ganglios intestinales trataremos más adelante. En fin, células en forma de *rueda dentada* han sido observadas también por Müller, G. Sala (1910), Biondi (1913) en los ganglios simpáticos craneales, Castro, etc. Parecen residir hasta en el simpático de vertebrados inferiores, donde Pitzorno (1910) ha sorprendido también (quelonios y selacios) el tipo *cometario* señalado por nosotros en el simpático humano.

CAPÍTULO XIII

CARACTERES QUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL TEJIDO NERVIOSO. NEUROGÉNESIS.

CARACTERES QUÍMICOS DEL TEJIDO NERVIOSO. — El análisis de la médula y encéfalo dan una composición inmediata de gran complicación. Figuran en la sustancia gris y blanca la *albúmina*, la *lecitina*, el *protagón*, la *colesterina*, la *cerebrina*, la *neurina*, el *ácido glicero fosfórico* y numerosos compuestos inorgánicos, como el *fosfato de potasa*, el de *sosa*, el de *hierro* y el de *magnesio*, el *cloruro de sodio*, el *sulfato potásico* y el *ácido fosfórico libre*. La *cerebrina* y *colesterina* abundan especialmente en la sustancia blanca, y la *lecitina*, en la gris. Ewald y Kühne han hallado además un nuevo producto llamado *neurokeratina*, caracterizado por resistir a la digestión artificial y parecerse notablemente a la keratina de los epitelios.

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS DEL TEJIDO NERVIOSO. — La propiedad específica del tejido nervioso es la capacidad de transmitir, bajo una forma todavía desconocida, los cambios dinámicos ocurridos, ora en los órganos de los sentidos, ya en los centros nerviosos. Desde el punto de vista del origen del movimiento cabe distinguir tres sistemas nerviosos: el *sensorial* o *sensitivo-sensorial*, por virtud del cual toda mutación ocurrida en la periferia de nuestro organismo o en el interior de nuestros músculos es propagada al sensorio; el *motor* o *centrifugo*, representado por los nervios motores y glandulares, cuya misión es conducir a los órganos subordinados (músculos, glándulas) las excitaciones generadas en los centros; y el *sistema intermediario* o de asociación, representado por una gran parte de las células del encéfalo y médula (exceptuadas las vías sensitivas y motrices directas), y cuyo oficio parece ser poner

en relación las fibras aportadoras de excitaciones sensitivo-sensoriales con determinados focos provistos de conductores centrífugos o motores.

En los nervios, el papel transmisor está representado por el cilindro-eje; las demás partes constitutivas del tubo nervioso desempeñan oficios de nutrición o de protección.

No entraremos en el estudio del mecanismo del acto reflejo ni de las propiedades eléctricas y fisiológicas del tejido nervioso, cuestiones muy importantes, que fuera inoportuno abordar aquí, dada la concisión que nos hemos impuesto, y que además pertenecen de derecho a la fisiología. Por ahora expon-dremos solamente algunas de las inducciones fisiológicas más verosímiles derivadas de los recientes estudios sobre la morfología y conexiones de las células nerviosas.

1.^a Las corrientes nerviosas no marchan en sentido indife-rente al través de las células; en las células multipolares de los centros el cilindro-eje es recorrido siempre por un movimiento *celulífugo*, y las expansiones protoplásmicas, por un movimiento *celulípeto*; o, en otros términos, las expansiones protoplásmicas y cuerpo celular recogen las corrientes y el cilindro-eje las transmite a otros corpúsculos (Cajal, van Gehuchten).

2.^a Esta ley fisiológica se cumple también en las células mo-nopolares y bipolares. Así, en las células bipolares (acústicas, olfatorias, retinianas, bipolares sensitivas de los vermes, según Lenhossék y Retzius, bipolares sensitivas de los ganglios espi-nales de los peces, etc.), la expansión periférica suele ser grue-sa y debe considerarse como de significación protoplásmica, pues está destinada a recoger las corrientes (movimiento celu-lípeto). En las células unipolares de los ganglios espinales de los batracios, reptiles, aves y mamíferos, la expansión periféri-ca del brazo único puede estimarse como rama protoplásmica u órgano de transmisión celulípeta, y la central, más fina, como fibra nerviosa u órgano de transmisión celulífuga. El tallo por-tador de las dos expansiones no existía en la época embriona-ria, formándose por estiramiento del cuerpo celular.

3.^a La relación entre los elementos nerviosos de los centros se verifica por contacto o articulación entre arborizaciones ner-

viosas, de una parte, y el cuerpo celular y expansiones protoplásmicas, de otra. El movimiento nervioso se transmite, pues, del cilindro-eje de una célula a las expansiones protoplásmicas de otra. Las anastomosis intercelulares que, de vez en cuando, han sido señaladas por algunos autores (Dogiel, Apathy, Held, etc.), o representan hechos accidentales, o efecto artificial de los malos fijadores.

En los casos en que el axon nace de una expansión protoplásmica, a gran distancia del soma, la fórmula citada no puede aplicarse en todo su rigor; por esta razón, nosotros hemos modificado la antigua ley, demasiado exclusiva, por esta otra, aplicable a todos los casos sin excepción: *el soma y apéndices protoplásmicos tienen conducción axipeta*, es decir, que [conducen siempre hacia el axon o expansión funcional; *en tanto que el axon posee conducción dendrifuga o somatófuga* (según su punto de emergencia), es decir, que la onda por él circulante puede llegar indiferentemente, ora del soma, ora de una prolongación dendrítica. La dislocación del axon en muchas células (corpúsculos monopolares raquídeos, granos del cerebelo, células del cayado del lóbulo óptico, etc.), así como las disposiciones singulares adoptadas, tanto por las ramificaciones nerviosas como por las dendríticas, están regidas por las tres leyes económicas siguientes: ahorro del espacio destinado a las células, ahorro de materia de los conductores y ahorro de tiempo de conducción (1).

4.^a La morfología de la célula nerviosa es independiente de su volumen y calidad fisiológica (motora, sensitiva, etc.), y parece guardar relación con el número y situación de las arborizaciones que la rodean. Así, las células desprovistas de expansiones protoplásmicas directas (células ganglionares sensitivas) o que ofrecen un solo tallo de aspecto protoplásmico (muchos espongioblastos retinianos), sólo se relacionan con una o dos especies de fibras nerviosas terminales. En cambio, las células de la médula espinal, cerebro y cerebelo, ricas en apéndices protoplásmicos, reciben la influencia de numerosas fibrillas nerviosas aferentes.

5.^a El alargamiento radial de las pirámides cerebrales y la diferenciación de las prolongaciones protoplásmicas en basa-

(1) Para más detalles sobre este punto, consúltese nuestro artículo «Leyes de la morfología de las células nerviosas». *Revista trimestral micrográfica*, núm. 1, 1897.

les, somáticas laterales, colaterales del tallo y penacho terminal, parecen tener por objeto mantener conexiones bien separadas con fibrillas nerviosas terminales de origen diverso, las cuales, por lo común, se arborizan en pisos distintos de la corteza cerebral.

6.^a El movimiento nervioso puede comenzar en una sola célula periférica, por ejemplo, en un cono de la foseta central de la retina, en una célula ciliada acústica, etc.; pero en cuanto es transmitido a los centros, el número de células nerviosas que intervienen en su propagación crece en alud, por cuanto las arborizaciones centrales de cada cilindro-eje tocan al cuerpo y expansiones de un gran número de elementos ganglionares; por donde resulta muy verosímil que en el trabajo cerebral, la representación o la percepción sensorial más sencilla, visual, táctil, acústica, etc., sea una resultante de la actividad de miles de células nerviosas (1).

7.^a Las células neuróglícas quizá sirven, como ha indicado mi hermano, no sólo de sustentáculo a las células y fibras, sino, muy especialmente, de medio aislador de los conductores nerviosos. Los modernos trabajos de Nageotte, Nawas, Fieand, Achúcarro (1913), Río-Hortega y nosotros (1914-1921) prestan verosimilitud a la opinión de que la *glía* de la substancia gris, rica en granos mitocondriales, posee además capacidad secretoria, elaborando algún fermento indispensable al mantenimiento de la actividad normal de los centros nerviosos.

8.^a Las diversas partes constitutivas del protoplasma nervioso desempeñan papeles fisiológicos diferentes. Y aunque sobre este punto sólo conjeturas cabe formular, tenemos por verosímil: *a)*, que las *inclusiones basiófilas* o grumos de Nissl constituyen una substancia de reserva necesaria a la nutrición celular; *b)*, que el jugo celular o neuroplasma, tan abundante en las terminaciones nerviosas como en las espinas y extremidades de las dendritas, es vehículo principal, si no exclusivo, de

(1) Según resulta de los cálculos de los fisiólogos, la velocidad de transmisión de la corriente nerviosa es de unos 30 m. por segundo. Este movimiento sería oscilatorio, pero de una naturaleza especial, con una longitud de onda de unos 18 mm.

la propagación de la onda nerviosa; *c*), que la membrana finísima no es obstáculo a esta propagación, siendo más o menos conductora, y *d*), en fin, que las neurofibrillas representan una substancia específica, probablemente no conductora (Wolff), especie de material energético susceptible de gastarse durante la actividad nerviosa y organizado en trabéculas paralelas a las corrientes, a fin de no crear obstáculos a la transmisión. Todo ello sin perjuicio del papel morfogénico (esqueleto constructor y mantenedor de las expansiones) otorgado a dichas hebras por algunos autores.

9.^a Los trabajos nuestros y de Tello, confirmados por Marinesco, Donaggio, Dustin, Rebizzi, Paolo (1908 a 1910), efectuados con métodos capaces de colorear las neurofibrillas, prueban que estas hebras se modifican en su situación y diámetro, según la temperatura ambiente y el estado de alargamiento y de excitación del animal. Así, en el lagarto entorpecido por el frío, las neurofibrillas se adhieren entre sí, generando colosales cordones y formándose grandes espacios intercordones vacíos, mientras que, puesto el animal en estufa, o llegada la primavera, dichos cordones se resuelven en finísimos hilos y los citados espacios desaparecen. Mutaciones semejantes suscitan en las células nerviosas de los mamíferos la acción del frío y ciertas enfermedades (rabia, anemia, etc.). En la infección rábica, sobre todo, resulta muy característica la hipertrofia neurofibrillar, pudiendo servir en los casos dudosos para el diagnóstico de la enfermedad (Cajal y Dalmacio García, Marinesco, Achúcarro, etc.).

En la figura 419 mostramos las singulares metamorfosis de las neurofibrillas del conejo joven, sometido, durante un día, a baja temperatura.

Tan sensibles son las neurofibrillas a la acción del calor, que con sólo que se prolongue algo la agonía de un animal y descienda lentamente la temperatura, cambia la disposición de las neurofibrillas superficiales (animales que mueren de infecciones con hipotermia terminal).

Ciertos autores, como Apathy, Berthe (1901) y Held (1906), profesan la opinión de que las neurofibrillas constituyen el único aparato conductor

de la célula nerviosa; el núcleo y el protoplasma vendrían a representar órganos puramente nutritivos, sin capacidad para crear ni transmitir las corrientes.

No es posible aceptar la doctrina de la conductibilidad exclusiva de las neurofibrillas. Puesto que no emergen del cuerpo celular para continuarse con las arborizaciones nerviosas perisomáticas ni abandonan jamás el interior de las dendritas, no hay más remedio que atribuir al neuroplasma y membrana de cubierta de la célula nerviosa, aptitud conductriz, a me-

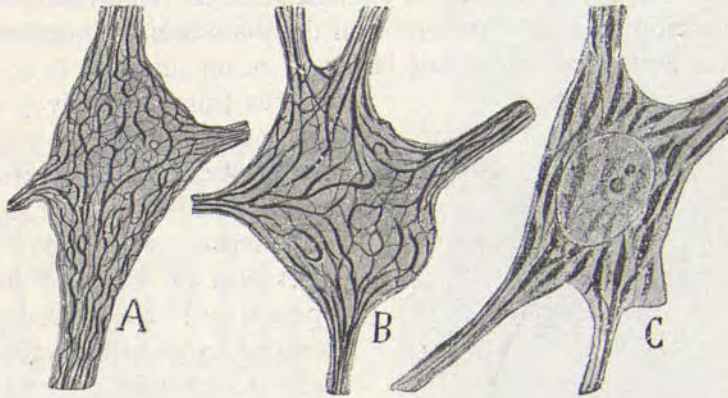


Fig. 419. — Células de la médula espinal de un conejo de una semana, mantenido, por un día, a 10°; A, célula en que comienza la hipertrofia neuro-fibrillar; B y C, células en que se forman espesamientos fusiformes.

nos que no se prefiera (en la suposición de la inconductibilidad de la membrana) imaginar una acción inductriz o a distancia, algo así como reacción química recíproca, generadora de energía nerviosa, durante el paso de la onda por los dos neuroplasmas contiguos de la articulación neuronal.

Varios autores, Wolff, Schiefferdecker, atribuyen al neuroplasma la función conductiva. Otros, como Kolizoff (1906), abundando en esta opinión, añaden que las neurofibrillas constituyen simple armazón destinado a mantener la morfología neuronal; dictamen de que no dista mucho Lenhossek (1910), cuando les otorga actividad casi exclusivamente morfogenética (por su impulsión y crecimiento en determinada dirección durante la época embrionaria, crearían las expansiones y fijarían la forma específica neuronal). Con todo, conviene no exagerar esta concepción mecánica del retículo neurofibrillar, dado que numerosas observaciones han revelado procesos activos de creación y metamorfosis de dicho esqueleto en relación con estados fisiológicos y patológicos. En el llamado *fenómeno de Alzheimer* (demenia senil), la célula nerviosa entera puede desorganizarse, subsistiendo,

empero, vivaces algunos haces neurofibrilares hipertróficos. Parecidos fenómenos de supervivencia neurofibrilar hemos notado nosotros en los axones separados de su centro trófico (heridas nerviosas y cerebrales).

DESARROLLO DEL TEJIDO NERVIOSO

Este tejido representa una diferenciación del *ectodermo*, y su formación se inicia en el embrión del pollo a las veinticuatro horas de la incubación, bajo la forma de un surco de la hoja

externa (surco primitivo), el cual, por fusión de sus bordes, no tarda en convertirse en conducto (fig. 133, c, a).

Semejante conducto representa la cavidad del epéndimo; sus paredes, construidas de células epiteliales ectodérmicas, forman la médula y el encéfalo primordiales.

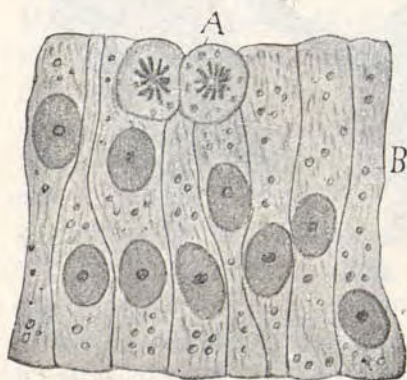


Fig. 420. — Pared del canal neural del embrión de pollo de veinticuatro horas; A, célula germinal en vías de mitosis; B, célula epitelial primitiva.

Las *fases iniciales* del desarrollo del tejido nervioso han sido bien estudiadas por W. His en la médula espinal. Según este embriólogo, ya desde la fase de surco primitivo, el epitelio ectodérmico destinado a engendrar la médula consta de dos clases de células: *elementos epiteliales*, de figura alargada, extendidos desde el epéndimo hasta la superficie ectodérmica, y *células germinales* de forma esférica, situadas cerca de la cavidad o surco medular y caracterizadas por sus frecuentes mitosis (fig. 420).

Evolución de las células germinales. — Estos corpúsculos, punto de partida de las células nerviosas, pasan por las siguientes fases: *fase germinativa*, *fase apolar*, *fase bipolar*, *fase unipolar o neuroblasto de His* y *fase de célula nerviosa joven* o de *elemento multipolar*. Tales fases se refieren principalmente

a los corpúsculos multipolares de los centros nerviosos y muy singularmente a la médula espinal.

1. *Célula germinativa* de His (figuras 421, A, y 420). — Afecta forma esférica o poliédrica y se caracteriza por carecer de neurofibrillas y exhibir fases mitóticas. Su protoplasma, rico en granulaciones, exhibe, como las investigaciones de Meves (1909) y

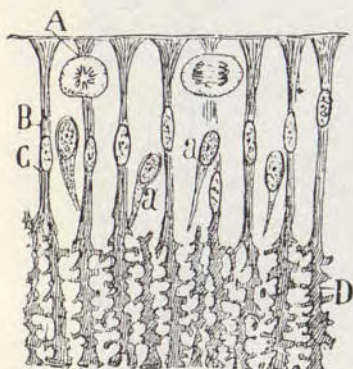


Fig. 421. — Pared del conducto neural de un embrión de mamífero (según His); A, células germinales; B, espongioblasto o célula epitelial; a, neuroblasto; D, retículo formado, según His, por los apéndices de las células epiteliales.



Fig. 422. — Condriomitos de la pared del surco medular (esbozo del sistema nervioso) del embrión de pollo, a las veinte horas de la incubación; a, condriomitos de un corpúsculo epitelial; b, los de una célula mesodérmica; c, los de un corpúsculo nervioso en fase germinal o mitótica. (Según Meves.)

de Duesberg (1910) han probado (fig. 422, c), numerosas mitocondrias. Reside dicha célula en la proximidad de la cavidad ventricular, aunque en algunos centros (cerebro y cerebelo) se la ve emigrar hacia las regiones superficiales de la pared del tubo primitivo (fig. 421, A).

2. *Fase apolar (neuroblasto primitivo* de Held). — Este estadio no corresponde a la *célula germinativa* de His, sino a

un estado especial sobrevenido en este corpúsculo, cuando, habiendo acabado su multiplicación, comienza a emigrar y preparar la edificación de un armazón neurofibrillar.

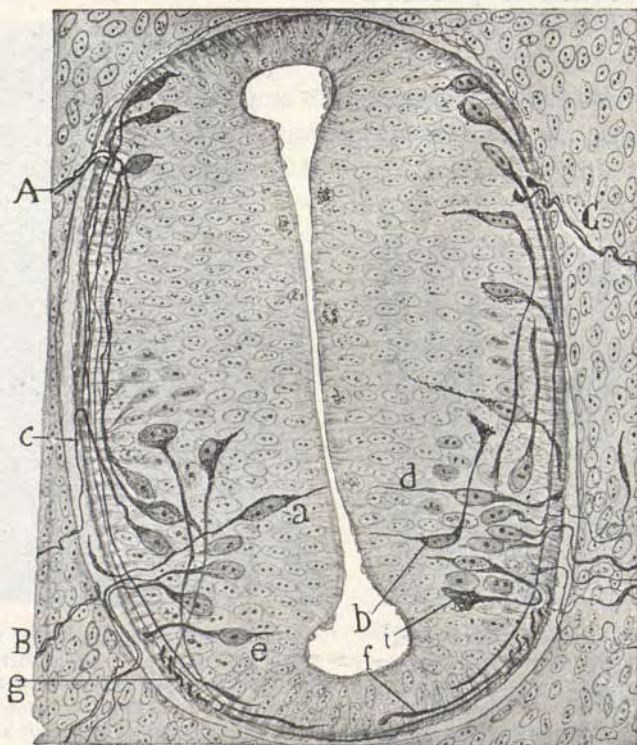


Fig. 423. — Corte de la médula espinal del embrión de pollo a las cincuenta y seis horas de la incubación. *A, C*, raíces posteriores; *B*, raíz anterior; *a, c, d*, células nerviosas en fase bipolar; *e*, célula cuya expansión interna se atrofia para convertirse en corpúsculo monopolar; *f, i*, conos de crecimiento; *g*, primeras fibras de la sustancia blanca.

El protoplasma, antes regularmente repartido, acumúlase especialmente en el polo protoplásmico periférico, polo en el cual, como Held ha señalado y hemos comprobado nosotros (1908), se inicia el armazón neurofibrillar. Las primeras neurofibrillas son gruesas y flexuosas, y extiéndense desde el centro

de producción (*zona fibrillógena* de Held) a todo el resto protoplásmico.

3. *Célula bipolar*. — Indicada por nosotros hace muchos años como estado intermedio entre la fase apolar y monopolar, ha sido modernamente comprobada por Besta (1904),

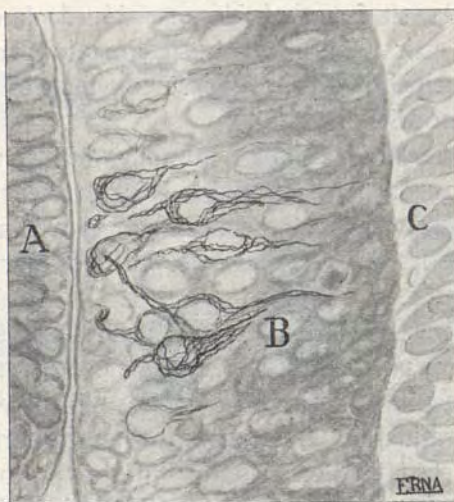


Fig. 424. — Neuroblastos de la retina en el embrión de pollo de cuarenta y seis horas, en la fase bipolar. A, fondo de la vesícula del cristalino; B, lámina nerviosa con neuroblastos, y C, lámina epitelial de la retina. (Tomado de Tello).

Held (1906), Tello (1) (1923) y otros autores (figuras 423, *a, b*, y 424 *B*). No es absolutamente constante, pero constituye una fase bastante común en la evolución de las células nerviosas de la médula, cerebro y retina. Consiste en la producción, a expensas del armazón neurofibrillar, de dos expansiones radiales: una *interna*, generalmente delgada, y que sucesivamente se acorta por reabsorción, y otra *externa*, más gruesa, que, al revés de la precedente, crece progresivamente hacia la periferia, terminando por una excrecencia, esbozo de la futura maza o

(1) F. Tello: «Les différentiations neuronales dans l'embryon du poulet, pendant les premiers jours de l'incubation.» *Trav. du Lab., des Recher. biol.* tomo XXI, 1923.

cono de crecimiento. Durante la fase bipolar, las células nerviosas han emigrado hacia la periferia, yaciendo en la médula espinal, en un territorio intermedio entre el ocupado por las células germinales y aquel en donde yacen los corpúsculos monopolares. Hay, sin embargo, excepciones.

4. *Célula monopolar*. — Correspondiente al *neuroblasto* de His, resulta esta fase de la desaparición de la expansión interna y del estiramiento y robustecimiento progresivos del apéndice principal o externo que se convierte en el *axon primitivo* o primordial (fig. 423).

Axon primordial y cono de crecimiento. — Durante la fase monopolar, queda fijada y estable la primera expansión neuronal, el *axon*, que parece formarse por el crecimiento y neoformación de las neurofibrillas del polo celular periférico o zona fibrillógena.

El haz neurofibrillar acaba mediante un ensanchamiento ligero, en forma unas veces de pincel, otras de grano de cebada, algunas de bastón o maza más o menos elipsoide. Este ensanchamiento terminal del axon primitivo, descubierto hace tiempo por nosotros (1890) en los embriones de pollo, y confirmado por numerosos autores (Lenhossék, Retzius, V. Gehuchten, P. Ramón, Athias, Sclavunos, Tello, etc.), que trabajaron con el método del cromato argéntico, se designa *cono de crecimiento*. La comparación de las preparaciones neurofibrillares con las del cromato de plata, revela que el cono de crecimiento consta de dos factores principales: de un eje neurofibrillar, especie de pincel o brocha de hilos delicados, y de un neuroplasma abundante que se acumula hacia el cabo de la citada excrecencia (que es la base del cono), emitiendo numerosas crestas y cortos apéndices adaptados a los intersticios del tejido nervioso en evolución. Por lo demás, el *cono de crecimiento* ha sido también observado en vivo, por Harrison y sus discípulos, en los embriones de batracio (experimentos de cultivo artificial de trozos de médula espinal embrionaria).

En virtud de su amiboidismo y de su capacidad de crecimiento, el citado cono emigra por entre los corpúsculos epitelios de la médula primitiva, cuya disposición radiada favorece

la marcha hacia la periferia; sortea los obstáculos incesantes que se ofrecen en su camino, y llegado a la periferia medular por debajo de la basal externa, compórtase de estas dos maneras: unas veces, después de chocar contra la basal, deslízase por debajo de ésta, cambiando de dirección y constituyendo el rudimento de una fibra de asociación (células funiculares y

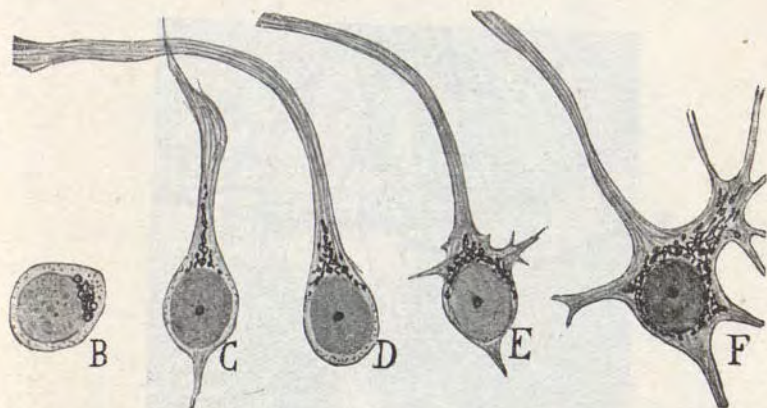


Fig. 425. — Esquema que muestra las fases evolutivas del aparato de Golgi de los neuroblastos; B, célula germinal; C, D, fase de neuroblasto; E y F, aparición de las dendritas.

comisurales); otras veces, insistiendo en su movimiento de propulsión radial, logra barrenar la membrana basal externa, invade los territorios mesodérmicos y se convierte en fibra motriz (células motrices o de las raíces anteriores, fig. 423, B).

Durante su tránsito por el tejido conectivo embrionario, el cono de crecimiento aprovecha los intersticios intercelulares, sin penetrar jamás, como pretende Held, dentro de los protoplasmas; se bifurca a menudo (fig. 426, D) y, en fin, se transforma, llegado al miotomo, término del viaje, en una arborización provisional motriz, varicosa y rudimentaria (plexos expectantes).

5. *Fase de la célula nerviosa joven o célula multipolar.* — En la fase anterior, el cuerpo del neuroblasto se muestra desnudo, piriforme, y el cilindro-eje carece de colaterales (figuras 426, A, y 427, b). Mas luego, ora en el cuerpo celular, ora

en el arranque del cilindro-eje, brotan una o varias expansiones espinosas, cortas, groseras (fig. 425, *F*), que no tardan en estirarse y ramificarse para formar el conjunto de las ramas protoplásmicas. En las preparaciones neurofibrilares, estas expansiones aparecen formadas de un haz de neurofibrillas continuadas con el retículo somático, que ha adquirido notable

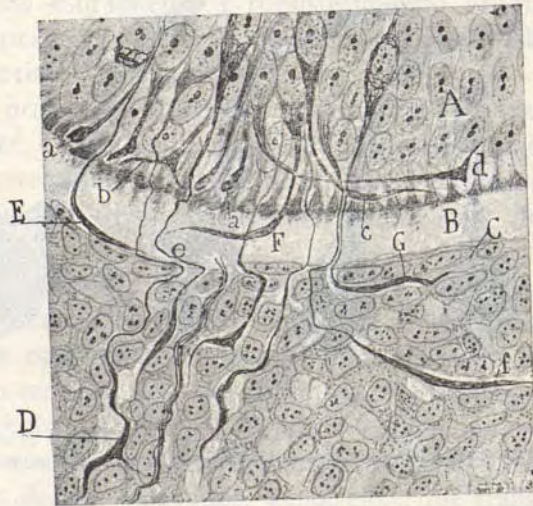


Fig. 426. — Trozo de médula espinal de un embrión de pato a las setenta y dos horas de incubación. Nitrato de plata reducido. *A*, médula espinal; *B*, espacio perimedular; *C*, tejido mesodérmico; *E*, *F*, conos de crecimiento en vías de emigración; *f*, cono extraviado; *a*, *b*, *d*, conos que pugnan por atravesar la membrana basal externa.

desenvolvimiento. Sólo más adelante, cuando estos apéndices están casi del todo modelados, se muestran las colaterales del cilindro-eje (Cajal, Lenhossék, Retzius) y la arborización nerviosa terminal. Estas colaterales se inician en la médula espinal, en el cordón anterior, apareciendo después las del posterior (figura 364, *a*, *d*).

La evolución del aparato de Golgi aparece de modo esquemático en la figura 425, donde se aprecia su situación inicial en el polo axónico neuronal y su extensión progresiva a casi todo protoplasma somático.

Evolución de las células epiteliales y formación de la neuroglia. — Al principio no existen, como armazón del tejido nervioso, más que las células epiteliales mencionadas, las cuales se extienden desde la cavidad central a la superficie medular, donde rematan por engrosamientos cónicos de base periférica (fig. 429). Los núcleos ocupan cualquier segmento del

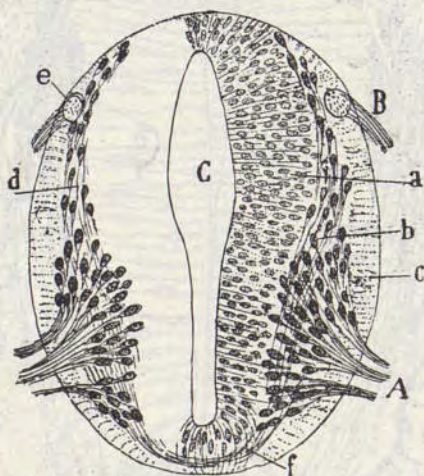


Fig. 427. — Corte esquemático del conducto medular del embrión humano (cuarta semana); A, raíces anteriores; B, raíces posteriores; C, epéndimo; a, núcleos del epitelio; b, neuroblastos. (Según His.)

cuerpo o columna celular. Desde el segundo al tercer día de la incubación, las células epiteliales se alargan y adelgazan notablemente, y los núcleos se alojan en el segmento interno o central, generándose en torno del epéndimo un muro o macizo nuclear característico de esta fase de la evolución medular (fig. 427, a). Algunos corpúsculos parecen en vías de proliferación. Durante este estadio, que podemos designar fase de las *columnas epitelicas* o del epitelio primordial, cada célula nos ofrece los siguientes segmentos: la placa basal, guarnecida de un apéndice pestañoso, placa que, en unión de las de vecinos elementos, constituye la *membrana basal interna*; la región gruesa o in-

terna, portadora del núcleo (*muro* epitelial) y desprovista de expansiones; la región delgada o periférica, donde se inicia la producción de apéndices colaterales (fig. 429), generadores, más adelante, de un plexo complejo que His estimó errónea-

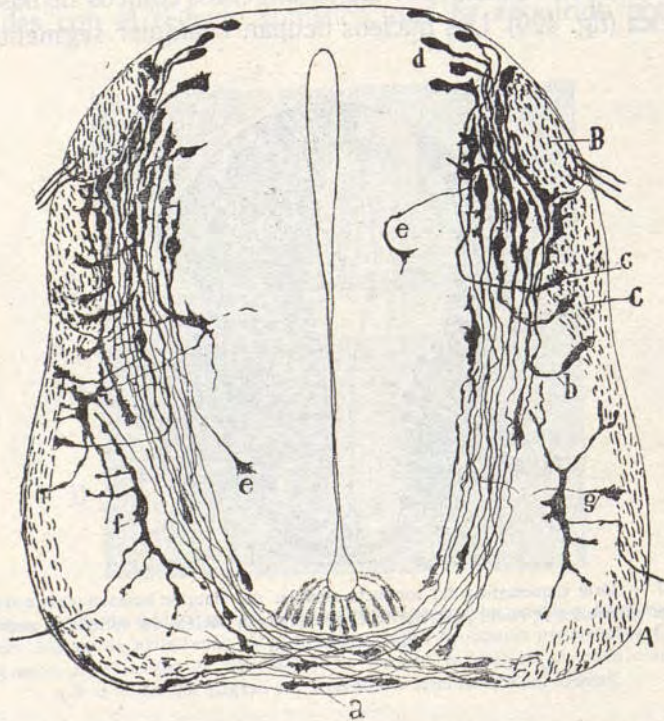


Fig. 428. — Médula espinal del embrión de pollo al cuarto día de la incubación. A, cordón anterior; B, cordón sensitivo u oval; a, conos de crecimiento comisurales; f, células motoras; d, células del asta posterior en fase de neuroblasto.

mente como reticulado (fig. 422, D), y, en fin, la *chapa basal externa*, precedida de un ensanchamiento cónico (fig. 429), y que, en unión de las restantes, da origen a una membrana resistente perimedular, o *membrana limitante externa*.

Cuando la substancia blanca aparece, los cabos periféricos de las células epiteliales se bifurcan o ramifican complicadamente y los apéndices colaterales se presentan, sobre todo,

aquella porción de la célula emplazada en el territorio de la substancia gris (fig. 430).

En fin, durante la ontogenia, y aun después del nacimiento, las células epiteliales, convertidas en elementos del epéndimo,

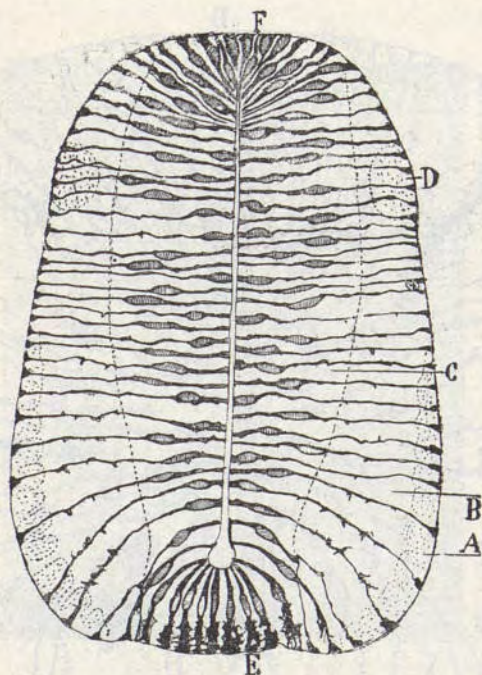


Fig. 429. — Células epiteliales primitivas; A, región del cordón anterior; B, asta anterior; D, cordón posterior; E, epitelio de la región comisural anterior (tercer día de la incubación en el embrión de pollo.)

pueden dividirse transversalmente (Cajal, Castro, etc.); el corpúsculo situado más exteriormente se transforma en célula neuróglia.

Aparición de las células neuróglia. — Las células de neuroglia representan, por lo menos en su inmensa mayoría, *corpúsculos epiteliales emigrados y transformados*. En la figura 430 mostramos las fases de esta singular evolución.

Repárese cómo el cuerpo celular, portador del núcleo, se

aparta progresivamente del epéndimo, cubriéndose de apéndices divergentes y emigrando hacia la periferia. Algunas células se detienen en la substancia gris y otras invaden la blanca, y todas ellas atrofian progresivamente la expansión periférica

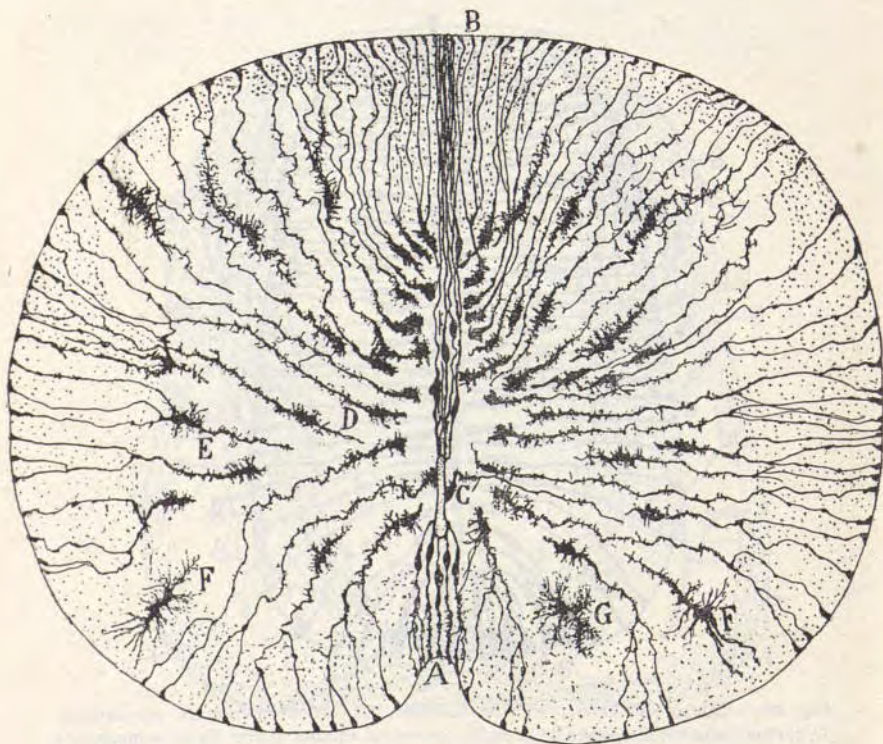


Fig. 430. — Células epiteliales y neuróglicas de la médula espinal del ratón recién nacido. A, surco anterior, donde termina un haz de células epiteliales sin transformar; B, surco posterior, con otro haz de células epiteliales apenas modificadas; C, célula epitelial definitiva; D, células epiteliales que emigran para transformarse en neuróglicas; E, células neuróglicas más avanzadas en evolución; F, G, células neuróglicas casi adultas.

para transformarse, en fin, en corpúsculos estrellados o células en araña (fig. 430, F, G). En el embrión de pollo, desde el décimo día de la incubación, aparecen ya en el espesor del asta anterior corpúsculos neuróglicos casi enteramente modelados;

en el asta posterior la evolución es más tardía. Durante mucho tiempo, y como recuerdo de su origen, las células neuróglicas conservan todavía restos de sus expansiones radial interna y externa y cierta orientación convergente al epéndimo; mas en

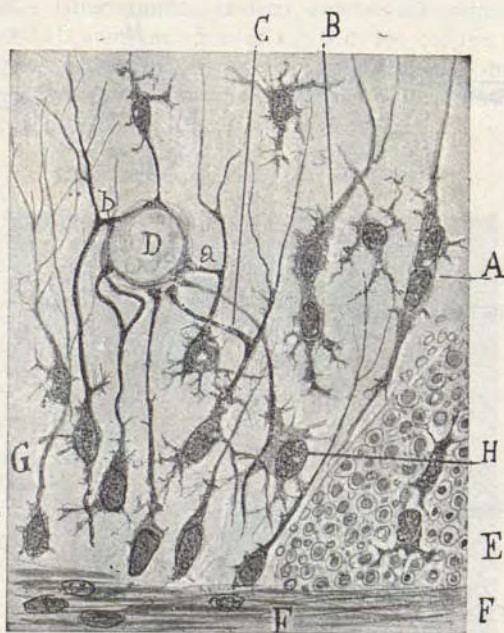


Fig. 431. — Células epiteliales dislocadas en vías de su transformación en neuroglia, situadas en la sustancia gris cerca del rafe postependimario. Gato de pocos días. "A, célula que guarda todavía su orientación originaria; B, otra en vías de división; D, vaso sanguíneo; a, pies perivasculariales; F, rafe; E, sustancia blanca del cordón posterior.

el estado adulto, casi todas las células han perdido estos caracteres, mostrándose pequeñas, resueltamente estrelladas, y a veces provistas de tal cual apéndice grueso que se fija en el endotelio de los capilares sanguíneos (fig. 431, a, b, G). La emisión de este apéndice vascular es fenómeno secundario sobrevenido durante la fase fetal del desarrollo (perro y gato) y continuado durante los días siguientes al nacimiento. A veces, según hemos demostrado (1914), el pie perivascular no es otra

cosa que la expansión radial externa del corpúsculo epitelio atraída por el capilar. En fin, las fibrillas de Weigert aparecen en la *glía* de la sustancia blanca bastante tardíamente (Da Fano). Todavía en los animales recién nacidos falta la diferen-

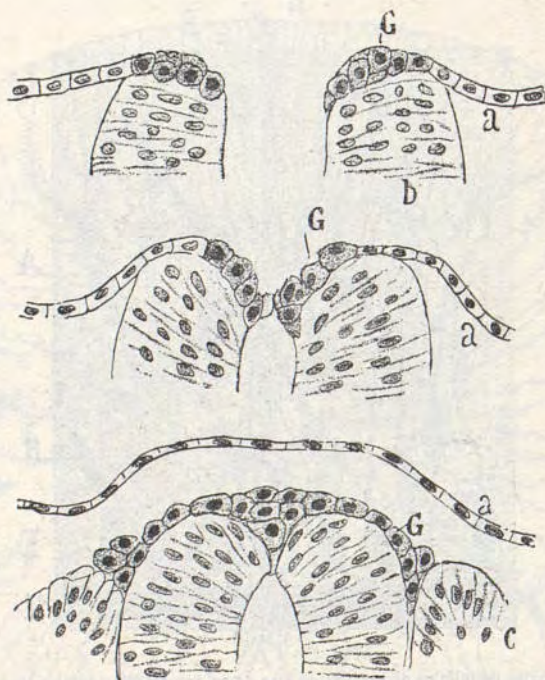


Fig. 432.— Diversas fases de la emigración de los gérmenes de los ganglios raquídeos; G, gérmenes ganglionares; a, ectodermo; b, trozo del canal medular. (Según Lenhossék.)

ciación fibrillar en la mayoría de los corpúsculos de la sustancia blanca del cerebro. De ordinario, las primeras fibrillas surgen en el apéndice vascular (fig. 431, H).

En la médula adulta de los batracios (Cl. Sala, Athias, Lenhossék, Castro, M. Serra, etc.) y de los reptiles (Cajal, Retzius), se revela como disposición constante un estado de transición entre la neuroglia epitelial de los embriones y la neuroglia de los mamíferos adultos, toda vez que se encuentran células epi-

teliales en curso de emigración que conservan la morfología primitiva y se terminan todavía, mediante apéndices radiados, en la *pia mater*. Una red de fibrillas ha sido hallada en el soma de las células epiteliales dislocadas por Manuela Serra (1).

Mesoglia. — Ulteriormente, es decir, después del nacimiento, y acaso antes, es invadida la substancia blanca y gris de los centros por la *mesoglia* o *microglia*. Quizá estos corpúsculos, de los cuales hemos tratado ya al describir la corteza del cerebro, representan leucocitos emigrados. Serra los ha encontrado también en la rana.



Fig. 433. — Trozo de médula y ganglio raquídeo de un embrión de pollo al tercer día de la incubación. A, célula motriz de la raíz posterior; B, cono de crecimiento de una célula sensitiva; D, ganglio sensitivo; C, bifurcación del axon a su arribo a la médula espinal.

Desarrollo de los ganglios raquídeos. — Las investigaciones de His han puesto de manifiesto que los gérmenes de los ganglios raquídeos son células epiteliales emigradas del ectodermo, de los lados del surco primitivo. En la figura 432, G, tomada de Lenhossék, mostramos las fases sucesivas de esta

(1) M. Serra: «Nota sobre las gliofibrillas de la neuroglia de la rana.» *Trab. del Laboratorio de Invest. biol.*, tomo XIX, 1921.

emigración. Se ve en ella que los gérmenes gangliónicos habitan primero el borde posterior del canal, júntanse después en la línea media, formando una masa central y corriéndose después, una vez cerrado dicho canal, hacia afuera, engendran

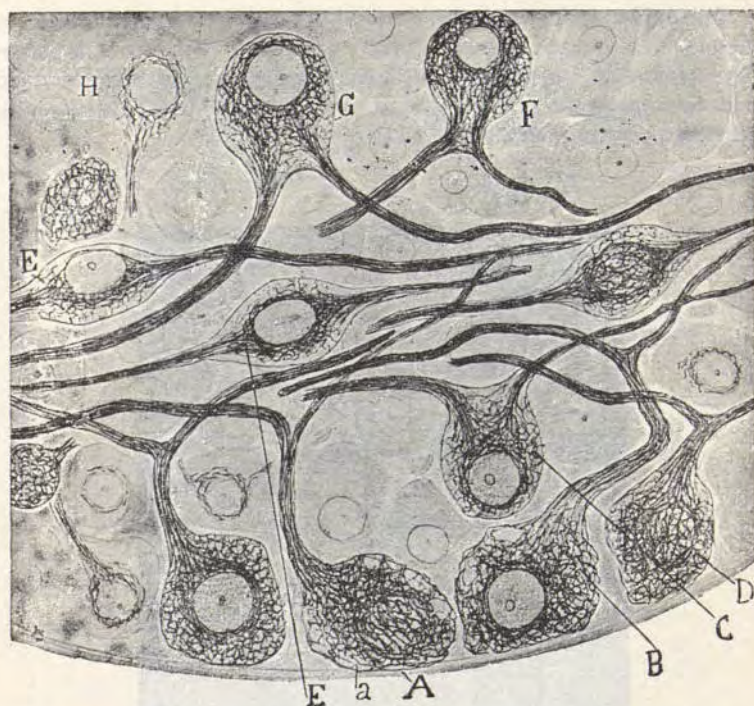


Fig. 434. — Ganglio raquídeo de un embrión de pollo de catorce días. *E*, neuronas bipolares; *F*, *C*, neuronas de transición; *A*, *B*, células monopolares.

unos acúmulos gangliónicos, que cada vez ocuparán una posición más anterior. Tales elementos adquieren, desde luego, una figura bipolar, de cuyas dos expansiones, la externa se dirige a la médula, y la interna hacia la periferia (fig. 433, *D*). Esta disposición bipolar originaria, revelada por His en los mamíferos, fué confirmada también por nosotros, Tello, etc. (1) en

(1) Véase Tello: «Les différenciations neuronales dans l'embryon du poulet, etc. *Trabajos del Lab. de Invest. biol.*, tomo XXI, 1923.

los embriones de ave y de reptil, y por Lenhossék, Retzius, Sala, en los de batracio y pez. En algunos peces, la fase de bipolaridad es permanente y se halla en el estado adulto; pero en los batracios, reptiles, aves y mamíferos, la bipolaridad se transforma en monopolaridad. Como mostramos en la figura 434, que reproduce un ganglio del embrión de pollo, las dos ex-

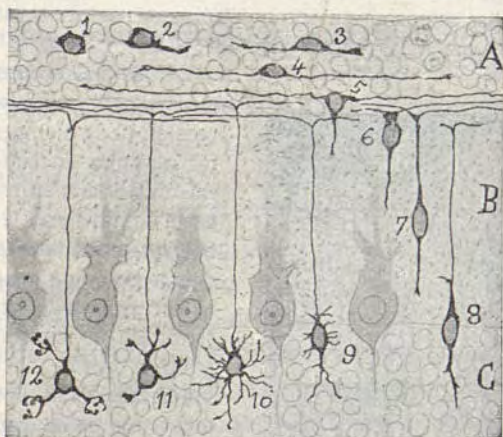


Fig. 435. — Fases que recorren los granos del cerebelo. 1, 2 y 3, fase de célula bipolar tangencial; 5 y 6, comienza la emigración del soma hacia la capa molecular; 7 y 8, fase de bipolaridad vertical; 9, 10 y 11, fases ulteriores del grano, hasta llegar a la forma adulta (12); A, capa de los granos superficiales o células gérmenes; B, capa molecular; C, capa de los granos profundos.

pansiones originarias, situadas al principio en los polos de la célula ganglionar, se dirigen progresivamente a un lado de ésta; luego el protoplasma, de donde dichas prolongaciones arrancan, se estira en pedículo; el cuerpo celular parece huir hacia la periferia y, en fin, el corpúsculo adquiere una configuración francamente monopolar (B). Ulteriormente, es decir, bastante tiempo después del nacimiento, se modelará el glomérulo del axon. En fin, la aparición de los fenestramientos del protoplasma de ciertos elementos constituye un fenómeno más tardío aún.

La formación de las neurofibrillas constituye proceso muy precoz. Como mostramos en la figura 433, *D*, el almacén neurofibrillar se presenta ya desde antes del tercer día de la incubación, durante una fase en que la célula sensitiva carece de apéndices o los ofrece cortos y acabados por conos de crecimiento. Las neurofibrillas surgen en el paraje celular, donde se acumula el protoplasma, y desde esta zona fibrillógena parten dos haces polares, que son las expansiones celulares interna y externa. Al principio faltan las neurofibrillas en torno del núcleo, que afecta posición tangencial (figura 433, *D*); más adelante (desde el sexto día en el embrión del pollo), las neurofibrillas se corren en torno del órgano nuclear, y éste ocupa una posición cada vez más central (fig. 434, *E*).

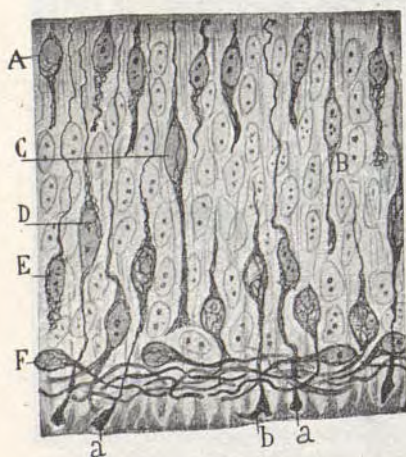


Fig. 436. — Evolución de las células de la retina del embrión de pollo del quinto día; *A, C, D*, fase bipolar de los corpúsculos gangliónicos; *F*, fase neuroblástica o monopolar de los mismos; *a, b*, conos de crecimiento que antes de inclinarse para formar las fibras del nervio óptico chocan contra la basal interna.

De las dos expansiones, la externa marcha hacia afuera, en dirección de la piel, cerca de la cual formará más adelante una arborización grosera; en tanto que la interna emigra hacia la médula espinal, perfora la basal, bifúrcase por debajo de ésta y genera, en fin, en el territorio de la futura asta posterior de un cordón longitudinal (*cordón oval* de His). Uno de los momentos más interesantes de esta emigración aparece en la figura 433, *C*, donde se advierte que las expansiones internas están provistas en sus cabos de gruesos conos de crecimiento, y que éstos se bifurcan para engendrar las dos ramas terminales.

Evolución de los granos del cerebelo. — La bipolaridad originaria ha sido también demostrada por nosotros para los granos del cerebelo. Aquí la transformación monopolar ocurre como en los ganglios raquídeos; sólo que cuando el pedículo nervioso que sustenta ambas fibras está completamente formado, la evolución se completa por la aparición en torno del cuerpo celular de varios apéndices protoplásmicos.

Las fases por que atraviesa el grano cerebeloso son:

Las fases por que atraviesa el grano cerebeloso son:

1.^a, fase indiferente o célula germinal (fig. 435); 2.^a, base o célula bipolar horizontal, situada en una zona exterior a la capa molecular embrionaria (A); 3.^a, base de bipolaridad vertical durante la cual el cuerpo desciende a través de la capa molecular (4, a); 4.^a, fase de grano embrionario, en la cual la célula ha llegado ya a la zona de los granos (c, d). Este singular modo evolutivo ha sido confirmado por Lugaro, Retzius, Calleja, Athias y Terrazas.

Desarrollo de los ganglios simpáticos. — Las primeras células simpáticas aparecen entremezcladas con las células mesenquimatosas a lo largo de la superficie posterolateral de la aorta, formando un rastro continuo y sin que haya al principio la menor tendencia a constituir agrupaciones (fig. 437). Después se aglomeran en el arranque de los vasos segmentales, iniciándose los ganglios de la cadena. Exhiben originalmente, como ha demostrado Retzius, una figura de pera (fase de neuroblasto), pero rápidamente se hacen bipolares y multipolares, para tornarse monopulares después muchas de ellas; las expansiones protoplásmicas aparecen más tarde, si bien en los fetos de ratón se ven todavía células simpáticas casi exentas de expansiones, es decir, en estadio de neuroblasto. Las neurofibrillas se diferencian muy precozmente, partiendo de dos o más zonas fibrillogenas.

Desde los primeros momentos se hallan dotadas de gran movilidad, emigrando desde la cadena vertebral a las vísceras, acompañando a vasos y nervios para constituir los ganglios viscerales. Sin embargo, según hacen presumir las recientes indagaciones de Tello (1924) (1), es posible que la diferenciación de las células del plexo de Auesbach se haga en la misma pared intestinal.

El origen de las células simpáticas es muy discutido. La mayor parte las hacen provenir, con Balfour, del ectodermo del canal medular, bien por emigración conjunta con las células formadoras de los ganglios raquídeos desde la cresta neural, continuando después su camino con las raíces posteriores, o



(1) J. F. Tello: «La précocité embryonnaire du plexus d'Auerbach et ses différences dans les intestins antérieur et postérieur.» *Travaux du Lab. de Recher. biol.* Tomo XXII (1924).

por emigración de células medulares del asta lateral con las raíces anteriores.



Fig. 437. — Corte longitudinal de la región posterolateral de la aorta, con los primeros neuroblastos simpáticos diferenciados; A, aorta; V, arranque de un vaso intersegmental; n, neuroblastos simpáticos. (Tomada de Tello.)

Las recientes indagaciones de Tello (1924-25) hacen pensar en la posibilidad de que el origen sea mesodérmico, como mantuvieron Remak, Paterson y Camus, entre otros.

Desarrollo de la retina. — En la imposibilidad de estudiarlo aquí minuciosamente, damos en la figura 436 una de las fases más interesantes del proceso, correspondiente al quinto día de incubación en el embrión de pollo; nótese cómo los corpúsculos nerviosos, después de pasar por la fase germinal, atraviesan por los estadios bipolar (*B*, *C*) y monopolar (*F*). Repárese también que la expansión interna o anterior posee significación de axón y aparece guarnecida de un *cono de crecimiento*, el cual, después de chocar contra la basal anterior, se dobla para constituir con otros axones la zona de las fibras del nervio óptico.

Formación de los tubos nerviosos, de los nervios y de sus terminaciones. — Según dejamos consignado, el cilindro-eje crece y se estira por entre las células mesodérmicas o por los sistemas de sustancia blanca medular, en el sentido de la menor resistencia y como atraído por la célula con quien ha de mantener relación. En su camino aproxíbase a los axones congéneres, disponiéndose en cordones o sistemas de fibras: diríase que el paraje por donde se fraguó tempranamente camino un axon ofrece para los recién llegados el carácter de ruta trillada y, por tanto, una economía de esfuerzo. Y este fenómeno de crecimiento hacia el órgano o célula terminal se verifica con admirable precisión, sin equivocaciones ni revueltas, sin que se dé el error de que una fibra muscular reciba dos tubos nerviosos o que un corpúsculo glandular o contráctil quede privado de arborización nerviosa terminal (fig. 438, *A*, *C*).

Cada axon es la continuación individual de una célula nerviosa, según descubrieron Kupffer e His y confirmamos nosotros, Lenhossék, Retzius, Kölliker, V. Gehuchten, etc., y modernamente Harrison, Neal, Kerr, Held, Lugaro y Tello. Punto es éste actualmente dilucidado definitivamente.

Los cabos de las fibras nerviosas con sus mazas son atraídos muy precozmente por los elementos musculares embrionarios, y más tarde, a medida que se diferencian, por los demás

elementos que han de ser inervados, piel y sus dependencias, formaciones conjuntivas, glándulas, etc. En los primeros tiempos existe una notable desproporción entre los todavía escasos elementos que constituyen el esbozo del órgano futuro y

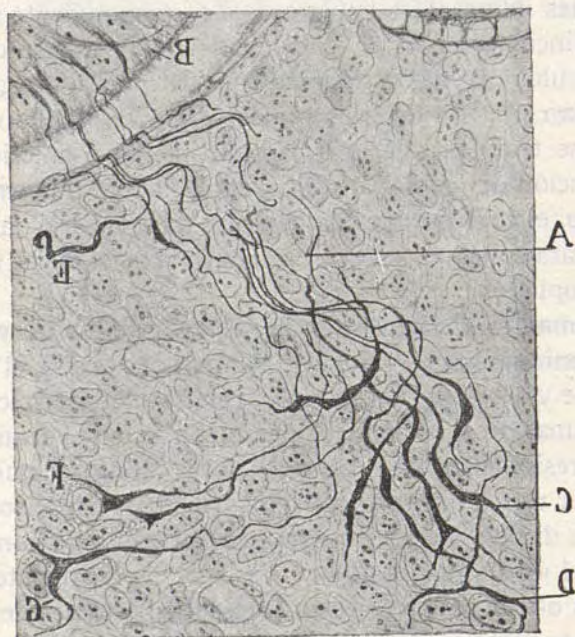


Fig. 438. — Nervio motor en vías de formación. A, axon desnudo; B, médula espinal; C, cono de crecimiento; D, F, G, fibras bifurcadas (embrión de pollo a las cincuenta y ocho horas de la incubación.)

la gran cantidad de fibras nerviosas que llegan, formándose unos riquísimos plexos *expectantes*, desde los que las fibras irán distribuyéndose entre los distintos elementos del órgano a medida que terminan. Tello, que ha estudiado con gran detenimiento la formación de las terminaciones en las placas motrices, en los husos musculares y músculos tendíneos, pelos, etc., cree que estos plexos realizan por las fibras no ramificadas una inervación global, y que después, a medida que se

modela el órgano, se ramifican las mazas terminales, afinándose y seleccionándose los distintos matices de la sensibilidad.

En la figura 439 bis, dibujada por Tello, se ven distintas fases de la formación de la placa motriz.

Diferenciaciones ulteriores de las fibras nerviosas. —

En un principio los nervios constan exclusivamente de axones finísimos, desnudos, sin células satélites, que circulan libremente en un espacio exento de elementos. Obsérvanse solamente en torno del haz fibrilar algunas células aplanadas o fusiformes de origen mesodérmico, constitutivas de una membrana rudimentaria (fig. 439, *D*).

Más adelante, algunas células mesodérmicas penetran dentro del haz nervioso, pareciendo multiplicarse activamente. Tales elementos, como cediendo a una atracción irresistible, invaden progresivamente los intersticios del nervio y se aproximan a los axones, a quienes acaban por rodear íntimamente (figura 439, *B*).

En las fibras del gran simpático tales células envolventes conservan indefinidamente su aspecto primitivo, limitándose, no más, a crecer a lo largo y a elaborar una membrana protectora. Mas en los nervios de la vida de relación, la célula de Schwann desempeña papel más activo e importante, conforme muestran las preparaciones teñidas con el ácido ósmico. Cuando la fibra ha crecido en espesor por debajo de la célula de Schwann, aparece un forro grasiento fino, continuo, que rodea íntimamente al axon y que parece ser producto de éste y adopta progresivamente disposición cilindroide. De distancia en distancia, es decir, al nivel del territorio en que ulteriormente se

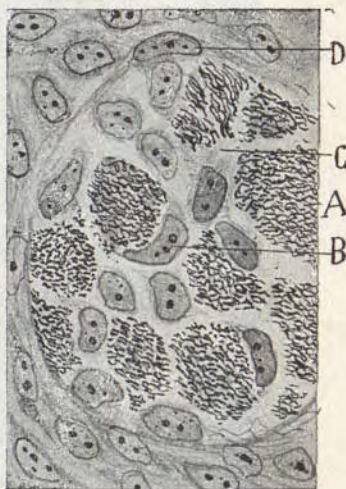


Fig. 439. — Corte transversal de un nervio motor. Embrión de pollo al cuarto día de la incubación; *A*, paquetes de axones desnudos; *B*, células mesodérmicas atraídas por los axones; *D*, rudimento del neurilema.

formaran las estrangulaciones, el forro mielínico muéstrase interrumpido. Al mismo tiempo, el corpúsculo de Schwann adquiere notable longitud, y en el paraje en que se encuentra con sus congéneres elabora, en virtud de un mecanismo no

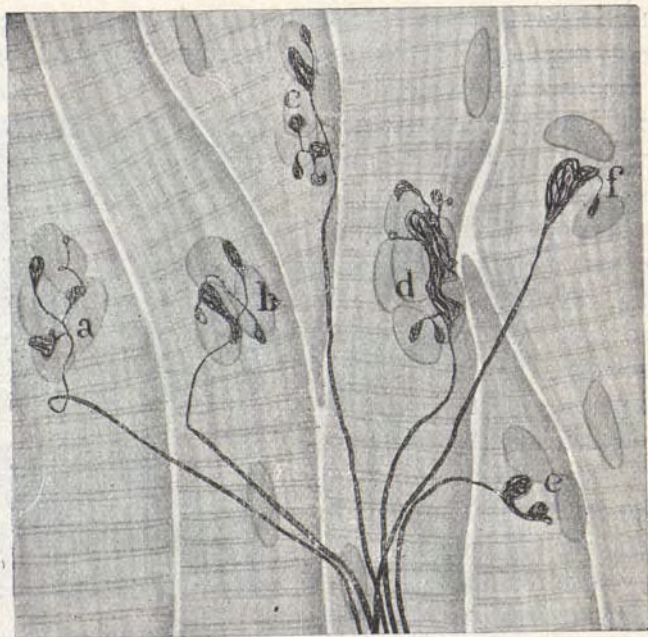


Fig.º439 bis. — Fases diversas en la formación de las placas motrices en un músculo intercostal de un feto humano a término. *a*, placa formada por ramificación del pedículo; *d*, ídem por ramificación del engrosamiento terminal; *b*, *c*, por ambos procedimientos; *f* y *e*, engrosamientos terminales en que se inicia la ramificación. (Dibujo de Tello.)

bien conocido aún, el disco de soldadura. Las cisuras de Lantermann y la vaina de Mauthner representan perfeccionamientos ulteriores. En los animales recién nacidos, un gran número de tubos nerviosos no ha formado todavía su vaina medular, y en los tubos en que se halla modelada, ésta posee un espesor mucho menor que el alcanzado en el adulto.

Teorías generales acerca de la génesis de los nervios y vías nerviosas centrales. — Señaladas ya episódica o explícitamente en las pági-

nas anteriores, añadiremos aquí pocas palabras. Estas teorías son dos: 1.^a, la *poligénica, catenaria o del desarrollo discontinuo*, y 2.^a, la *monogénica o del desarrollo continuo*, formulada hace tiempo por His, Kupffer y Kölliker y sustentada por la mayoría de los neurólogos.

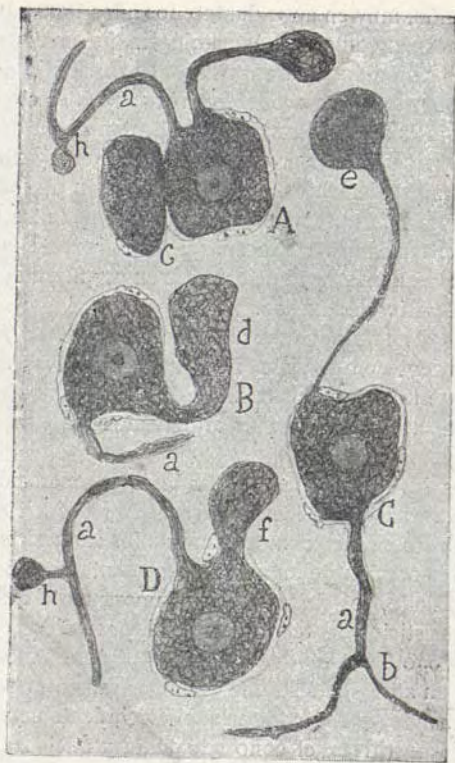


Fig. 440. — Células gangliónicas del gato, cultivadas durante dos días en líquido cefalorraquídeo. *a*, axon; los lóbulos *d, f* y las expansiones acabadas en bolas, *e, h*, etc., son neoformaciones provocadas por el terreno de cultivo.

Teoría poligénica o catenaria. — Imaginada primeramente por Hensen, ha sido defendida briosamente durante los dos últimos decenios por Beard, Balfour, Dorn, Bethe, Joris, Besta, Pighini, etc., sobre la base de preparaciones teñidas mediante métodos aselektivos o débilmente selectivos del axon. Consiste en suponer que tanto las vías centrales como los axones y neurofibrillas de los nervios resultan de la diferenciación discon-

tinua dentro del soma de corpúsculos ectodérmicos, organizados en redes o cadenas lineales. En el protoplasma de tales elementos surgirían los axones, al modo de las miofibrillas en las células musculares embrionarias; y ulteriormente, los elementos axónicos elaborados por cada uno de aquéllos se fundirían por sus extremos y saldrían al encuentro de la expansión de la neurona central.

Esta concepción, muy en auge durante los años 1900 a 1910, tanto para la neurogénesis normal como para la patológica, fué arruinada merced a la introducción de los métodos neurofibrillares en el estudio de las fases primitivas del neuroblasto. Tales procedimientos revelan, en efecto, con insuperable claridad, que las neurofibrillas del axon brotan de un polo del corpúsculo nervioso embrionario, creciendo hacia la periferia y sin invadir jamás el interior de extraños elementos, hasta modelarse en plexos y arborizaciones terminales libres. Las pretendidas cadenas no son otra cosa que células mesodérmicas tardíamente aplicadas a los cilindro-ejes extracentrales y exclusivamente destinadas a transformarse en corpúsculos de Schwann y en elementos del peri y endoneuro.

Teoría monogénica o del desarrollo continuo de Kupffer e His. — Expuesta detalladamente en el texto, huelgan aquí nuevas ampliaciones. Importa solamente notar que los trabajos de estos últimos lustros la corroboran plenamente, habiendo aportado argumentos de fuerza incontrastable.

Citemos algunos de ellos:

1.º Nuestras investigaciones acerca de la regeneración de los nervios (1905 a 1913), así como las de Perroncito (1905 a 1907), Marinesco, Tello, Dustin, O. Rossi, etc., demuestran que los axones regenerados consecutivamente a la sección de un nervio, representan retoños o brotes del cabo central mutilado, los cuales crecen primeramente desnudos y libres por entre los intersticios del tejido cicatricial, precedidos de maza o cabo espesado, homólogo del *cono de crecimiento* de los axones embrionarios. Cuando ocurre un atasco, el extremo axónico se transforma en bola (*bola de detención*); cuando, por lo contrario, el crecimiento se verifica en óptimas condiciones nutritivas, el cono se apunta y adelgaza, constituyendo largo mechón neurofibrillar. Al menor obstáculo, o acaso en virtud de opuestas sollicitaciones quimiotácticas, dicho extremo se resuelve en arborización terminal. Con frecuencia reconócese cierto ritmo, en cuya virtud alternan regularmente la fase de cono indiviso o de delgada maza con la de proyección de retoños divergentes acabados en punta.

2.º Harrison y sus discípulos (1906 a 1913) han logrado conservar en plasma y *ex vitro* trozos de médula primitiva de batracio (larvas muy tempranas), habiendo observado que, al cabo de algún tiempo, el cono de crecimiento de las radicales motrices (o el de las fibras sensitivas) invade el terreno plasmático, creciendo en línea recta, sin el concurso de células adventicias, para generar al fin minúscula arborización terminal. Estos fenómenos han sido confirmados por Burrow (1910), Lewis (1911), etc., para

quienes las fibras nerviosas son capaces de crecer y ramificarse libremente hasta en medios puramente salinos (líquido de Ringer, de Locke, etc.).

3.º Nageotte, y después de él Marinesco y Minea, Cardinal O. Rossi, Dustin, nosotros, etc. (1909 a 1913), advertimos que cuando un ganglio sensitivo de un animal joven se transplanta bajo la piel de otro de igual

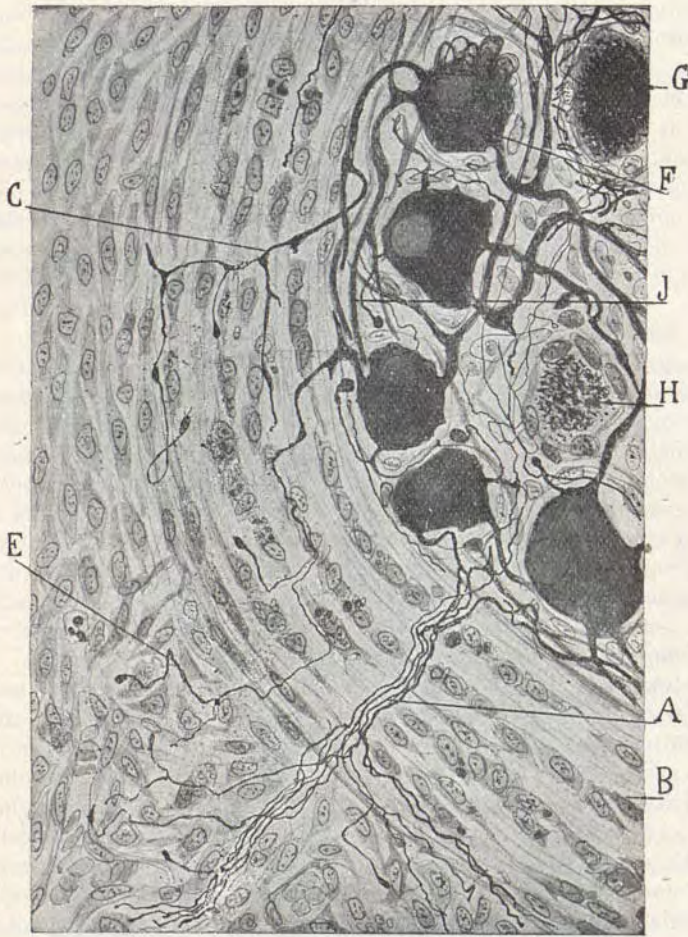


Fig. 441. — Trozo de ganglio de gato recién nacido injertado bajo la piel de otro animal de igual edad, sacrificado seis días después de la operación. Nótese la transformación de las neuronas monopolares en multipolares (*F*), y la creación de nerviecitos que cruzan la cápsula (*A*) e inervan el huésped (*E*); *B*, cápsula ganglionar; *C*, expansiones nuevas nacidas del soma; *G*, *H*, células muertas y calcificadas.

especie, pero de más edad, muchas neuronas, singularmente las superficiales, sobreviven a los efectos de la operación, sorprendiéndose a los pocos días, tanto en el axon como en el soma, la emisión de retoños desnudos, coronados a menudo de botones crecientes al través del terreno y en un todó comparables a fibras nerviosas embrionarias. Por este

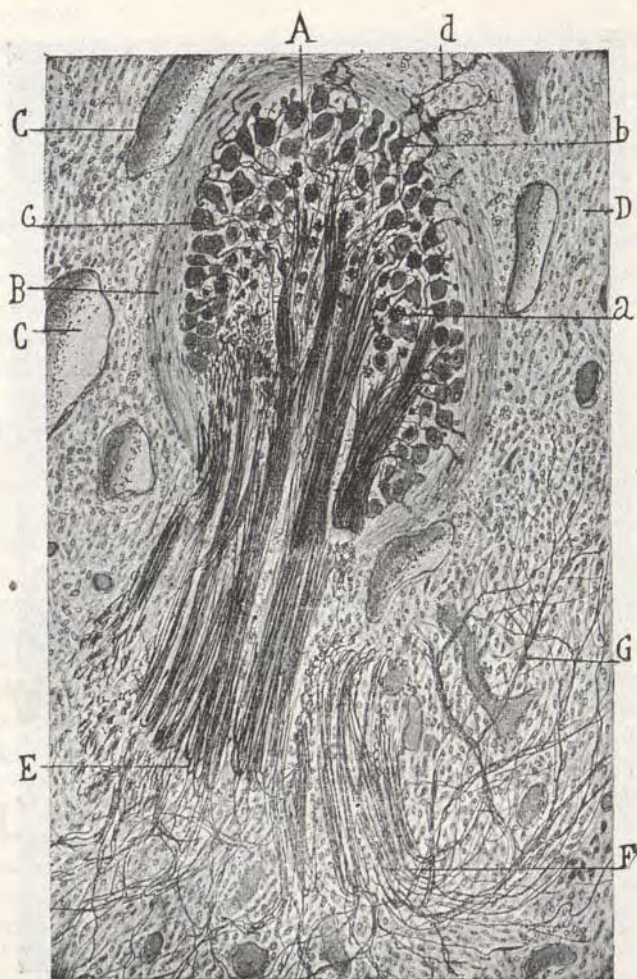


Fig. 442. — Pequeño ganglio de la cola de caballo del gato de pocos días, injertado en un animal de la misma edad, que fué sacrificado nueve días después de la operación. A, ganglio; G, cápsula fibrosa de éste; C, senos sanguíneos perigangliónicos; D, tejido conectivo embrionario del huésped; E, F, sección de la rama periférica del ganglio donde aparecen numerosos retoños inervadores de la trama conectiva neoformada.

procedimiento hemos llegado a obtener nosotros verdaderos *nervios sensitivos artificiales*, capaces de recorrer el terreno del huésped y de marchar por él durante largas distancias (fig. 442, E). En la figura 441, C, A, puede advertirse cómo las expansiones del soma neuronal generan retoños que, reunidos en haces, cruzan la cápsula ganglionar para penetrar en el tejido cicatricial del huésped. Y estos retoños, no obstante surgir del soma y parecer dendritas (C), compórtanse ulteriormente como legítimos axones, puesto que, días después, atraerán elementos mesodérmicos embrionarios y constituirán la conocida simbiosis axoconjuntiva (célula de Schwann y cilindro-eje). En fin, en la figura 442, dibujada a menor aumento, mostramos que la formación de nuevos nervios, capaces de invadir el huésped, lógrase mejor aún al nivel de las raíces del ganglio, sobre todo en ramas periféricas del axon sensitivo; los cabos centrales cercenados se comportan aquí lo mismo que el cabo central de un cordón nervioso interrumpido. Para obtener tan curiosos nerviecitos artificiales, parece condición indispensable practicar los injertos con los menudísimos ganglios de la cola de caballo (perro, gato o conejo recién nacidos), a fin de asegurar la nutrición, por imbibición, hasta de las zonas centrales.

4.º De acuerdo con las observaciones de Harrison, cuando, según efectuamos primeramente nosotros (1912) y han confirmado Legendre y Minot (1913), y singularmente Marinesco (1913), se cultiva un ganglio sensitivo de mamífero en sangre o plasma, reproducense en principio los fenómenos de crecimiento, sorprendidos en los ganglios transplantados, habiéndose observado también apéndices nuevos terminados en bola (figura 440, e), nidos pericelulares (Legendre y Minot) y hasta axones libres crecientes al través del plasma, dentro del cual, aparte de estirarse y ramificarse libremente por amiboidismo, manifiestan tendencia a seguir y aplicarse, en virtud de un fenómeno de *estereotropismo* (Loeb y Harrison), a los hilos de fibrina o a las tiras de células conectivas embrionarias.

Hipótesis tocante al mecanismo de orientación de los nervios y vías nerviosas centrales. — A. *Hipótesis de los caminos preestablecidos o de Hensen-Held* (1906). — Las fibras nerviosas llegarían a su destino sin errores ni deficiencias, a causa de que, antes de aparecer los neuroblastos, tanto el epitelio medular como las células mesodérmicas contendrían un sistema preexistente de tubos orientados hacia los territorios terminales (*Leitzellen*, de Held). Ingresadas las fibras en estas expansiones celulares o tubos orientadores, llegarían fácilmente a su destino. Modernamente, Nageotte y Boeke y la escuela de Bielschowsky se inclinan a este parecer, sobre todo en lo tocante a los nervios regenerados. Por desgracia, nadie ha podido probar la realidad de tales caminos preestablecidos, ni sorprendido con certeza un cono de crecimiento dentro de un corpúsculo ecto o mesodérmico (1).

(1) La causa de este error estriba en que la mayoría de los autores han descuidado el estudio de las fases precoces de la regeneración, y observado los axones cuando ya están provistos de células envolventes.

B. *Hipótesis de Ranvier y de His acerca de la marcha en el sentido de la menor resistencia.* — Para este sabio las células epiteliales de la médula espinal primitiva constituirían, mediante sus anastomosis, un sistema de huecos o vacíos de tal modo orientados que obligarían a los axones, en su ciego movimiento amiboide, a tomar las rutas más apropiadas para

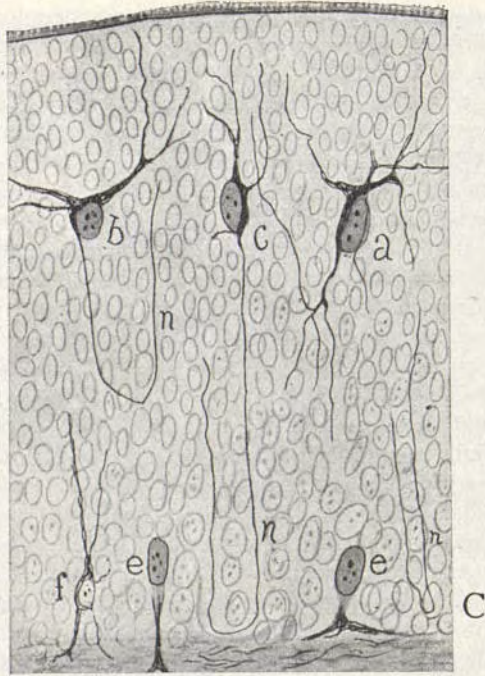


Fig. 443. — Corte de la retina del ratón recién nacido; *a*, *b* y *c*, células horizontales jóvenes; *n*, axones desorientados que se dirigen hacia abajo; *e*, células amacrinas; *f*, corpúsculo gangliónico. (Método del nitrato de plata reducido.)

abordar el aparato terminal. Lo mismo ocurriría en el mesodermo, en donde los espacios situados entre las células, entre planos membranosos, etcétera, servirían de cauces seguros a los conos de crecimiento y evitarían los errores de conexión. Dictamen análogo exponen en estos últimos lustros Dustin, Heidenhain (1911) y Harrison (1906 a 1911), aunque con reservas y adiciones importantes. A la teoría mecánica puede oponerse, desde luego, la falta de orientación definida de los huecos intra y extramedulares y el hecho de que, desde la fase bipolar, los conos de crecimiento yacentes

en los mismos intersticios epiteliales toman rumbos diferentes, orientándose unas veces hacia la línea media anterior (axon comisural), otras hacia el mesodermo (axon motor), y otras, en fin, hacia el cordón anterolateral (axon funicular homolateral). No hablan, además, en favor de esta teoría los numerosos errores de trayecto cometidos por los axones al chocar contra los obstáculos, seguidos de rectificaciones de ruta, tras considerables e inútiles revueltas (figuras 426, *G* y 437, *E*). En la figura 443, que reproduce la evolución de las fibras nerviosas horizontales de la retina, mostramos un ejemplo típico de los errores de trayecto que cometen a veces los axones centrales para orientarse definitivamente. Lo mismo exactamente ocurre con los cilindro-ejes periféricos, según hemos demostrado en numerosos trabajos (1).

C. Hipótesis quimiotáctica. — Formulada por nosotros en 1892, como aplicación a la neurogenia de la doctrina general quimiotrófica reinante a la sazón en bacteriología y fisiología citológica, esta hipótesis, sin esclarecer totalmente el arduo problema, explica mejor que las otras el fenómeno de crecimiento de los axones en determinadas direcciones, así como el establecimiento específico de conexiones intercelulares. En nuestro sentir, todas las células que durante la evolución embrionaria se ponen en contacto con ramificaciones nerviosas, elaboran durante su estado primitivo ciertas materias reclusas de carácter específico, que, derramándose en los intersticios celulares del mesodermo, impresionarían el cono de crecimiento; éste, al modo de los leucocitos excitados por las sustancias microbianas, pondríase en camino creciendo hacia la fuente quimiotáctica y englobando o rodeando al fin el corpúsculo secretor.

Así, la secreción específica de las células del *miotomo*, sentida por los axones errantes por el mesodermo perimedular, provocaría la penetración de éstos en los territorios musculares y, por consiguiente, la formación de los nervios motores. Otra secreción de los neuroblastos rudimentarios del asta posterior o acaso del epitelio medular, derramada en la región mesodérmica donde yacen las células sensitivas de los ganglios raquídeos, daría ocasión a la formación de las raíces posteriores, etc., etc.

En fin, en el adulto, aunque amenguada, no habría desaparecido enteramente esta propiedad de crecimiento de los axones y de liberación de materias quimiotácticas, explicándose fácilmente la aparición de los talentos profesionales (destreza del pianista, del orador, del escritor, etc.) por la creación de nuevas vías de asociación interneuronal o por el robustecimiento de las preexistentes. En nuestra hipótesis, la educación misma no sería otra cosa, orgánicamente considerada, que la producción (por

(1) Véase nuestro libro: «Estudios sobre la regeneración y degeneración del sistema nervioso, 1913-1915», y algunas Monografías, entre otras la recientemente publicada en los *Trabajos del Laboratorio de Investigación biológica*, titulada: «La desorientación inicial de las neuronas retinianas», fascículos 1 y 2, tomo XVII, año 1919.

crecimiento de los axones y mayor extensión y ajuste de las articulaciones nerviosas) entre centros cerebrales o entre centros medulares, los músculos y la piel, de anchos y trillados caminos, por donde los impulsos nerviosos se propagan sin esfuerzo y se tornan de cada vez más inconscientes.

La teoría quimiotáctica ha sido confirmada experimentalmente por Forssman, Lugaro, nosotros, Tello, Nageotte, Marinesco y Minea (1905 a 1909), autores que han estudiado el mecanismo del crecimiento y orientación de los retoños nerviosos en el proceso de regeneración de los nervios o en los fenómenos consecutivos a la transplatación de los ganglios. Estos autores han demostrado que las substancias quimiotácticas, orientadoras de las fibras neoformadas, son liberadas por restos del nervio degenerado (Forssman), por los tubos vacíos del cabo periférico del nervio interrumpido (Cajal, Lugaro, Marinesco), por las reliquias de la placa motriz antigua o separada de su fibra nerviosa (Tello) y, en fin, por los conglomerados de corpúsculos satélites endocapsulares que reemplazan a ciertas células destruidas de los ganglios transplantados (Nageotte).

Algunos autores modernos, reproduciendo una antigua opinión de Strasser, hacen intervenir también la diferencia de potencial eléctrico en la marcha de los axones, los cuales se dirigirían hacia la región donde el potencial dicho es más intenso. Esta hipótesis supone de todos modos un previo contraste químico entre los conos en crecimiento y la región que los atrae.

CAPÍTULO XIV

PREPARACIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO ESTUDIO DE LOS NERVIOS Y CENTROS NERVIOSOS MÉTODOS DE LA DISOCIACIÓN Y DE LOS CORTES

DISOCIACIÓN

Disociación de los nervios. — La disociación puede realizarse en fresco con ayuda de las agujas, operando rápidamente para que la preparación no se seque ni la mielina coagule. Pone de manifiesto este procedimiento las estrangulaciones de Ranvier, las cisuras de Schmidt o de Lantermann y los núcleos de la vaina de Schwann. Pero los resultados serán mucho más demostrativos si la disociación se ejecuta en nerviecitos (el ciático de la rana, por ejemplo), fijados a favor de una maceración de seis a doce horas en el ácido ósmico (1 por 100). Para conservar estas preparaciones sin que la mielina se retraiga y arrugue al montarlas en glicerina, será conveniente fijarlas, antes de la disociación, con el alcohol absoluto.

La demostración del cemento de soldadura exige la impregnación argéntica. A este fin se disociará rápidamente un nervio vivo (el ciático de la rana, por ejemplo), y antes que la preparación se deseque, se le lubricará durante dos o tres minutos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La reducción argéntica se obtendrá a la luz solar bajo una gota de agua. Estas preparaciones no se conservan bien en glicerina ni en el bálsamo, a consecuencia de las impregnaciones secundarias que sobrevienen.

El cemento de las estrías de Lantermann tiñese bien sometiendo los nervios a un método análogo al del nitrato de plata reducido, solo que el fijador será: formol, 6; piridina, 10; nitrato de manganeso, 0,5; agua, 40.

Este fijador debe actuar de veinticuatro a cuarenta y ocho horas. Después, lavado de las piezas por veinticuatro horas; inmersión en nitrato de plata durante veinticuatro horas, etc.

En fin, el extenso aparato de Golgi de la célula de Schwann se revelará mediante el proceder del formul-urano. (Véase más adelante), prefiriendo para el caso el conejo de pocos días y hasta de un mes.

MÉTODO DE LOS CORTES

El método de los cortes es, sin disputa, el más importante, y se le combina siempre con procedimientos de coloración selectiva, entre los cuales convienen especialmente el de Nissl, el de Weigert-Pal para la mielina; el de Weigert y Achúcarro y otros para la neuroglia; los de Golgi y Cox para las expansiones de las células nerviosas; los de Bielschowsky y Cajal para las neurofibrillas, etc.

La fijación y endurecimiento de las piezas varían según el método de coloración que deba aplicarse. En general, la coloración de la mielina y de la neuroglia exige la induración en el líquido de Müller o el bicromato de potasa; mientras que los métodos de Nissl, neurofibrillares, etc., etc., se aplican de preferencia sobre piezas fijadas en formol (cortes por congelación) en los alcoholes, la piridina, etc.

Método de Weigert. — Constituye el método clásico, y quizá es el que proporciona mejores resultados. Su autor ha hecho una gran cantidad de modificaciones de su proceder primitivo. He aquí una fórmula debida a Paula Mayer, que trabajó en el laboratorio de Edinger.

1.º Induración en formol al 10 por 100 de dos a tres días.

2.º Permanencia de cuatro a seis días en el primer mordiente (mordiente rápido de Weigert).

| | |
|------------------------------|---------|
| Bicromato potásico | 5 g. |
| Fluoruro de cromo | 2,5 * |
| Agua hirviendo | 100 cc. |

Cuézase y fíltrese.

3.º Sin lavar se induran los bloques en la obscuridad en alcoholes de concentración creciente, hasta que no se decoloren.

4.º Inclusión en celoidina. Después de englobados los bloques en celoidina e indurada la capa superficial al aire, se introducen ya encastrados, no en alcohol, como se hace corrientemente, sino en el líquido siguiente.

5.º Segundo mordiente, que actúa veinticuatro horas a 37º. (Es también el usado para la glía.)

| | |
|---|---------|
| Acetato neutro de cobre pulverizado | 5 g. |
| Fluoruro de cromo | 2,5 * |
| Agua | 100 cc. |

En vez del fluoruro de cromo puede usarse el alumbre de cromo.

Cuézase y añádanse 5 cc. de ácido acético al 36 por 100, aproximadamente.

6.º Inmersión en alcohol de 70 a 80 por 100. Obtención de los cortes.

7.º Coloración de veinticuatro horas en la hematoxilina siguiente:

| | |
|--|---------|
| I. Hematoxilina | 1 g. |
| Alcohol al 96 por 100 | 100 cc. |
| II. Solución oficial de sexquicloruro de hierro | 4 » |
| Agua | 96 » |

También se usa en vez de la precedente la siguiente solución:

| | |
|---|--------|
| Hematoxilina | 1 g. |
| Alcohol | 10 cc. |
| Solución de carbonato de litina | 1 » |
| Agua | 60 » |

Al usarlas, mézclense partes iguales de ambas disoluciones.

8.º Lavado de media a una hora o más.

9.º Diferenciación hasta la clara distinción de las sustancias blanca y gris, y mejor bajo el microscopio, en el siguiente líquido:

| | |
|---------------------------------|---------|
| Ferricianuro potásico | 2,5 g. |
| Bórax | 2 » |
| Agua | 100 cc. |

10. Abundante lavado en agua, deshidratación en alcohol absoluto. Carbolxilol, xilol y bálsamo.

Las vainas de mielina aparecen de color negro azulado, destacando admirablemente del fondo. La sustancia gris aparece amarilla.

Método de Pal. — 1.º Se fija por algunos días en líquido de Müller, líquido de Erlicki, o en 10 por 100 de formol.

2.º Deshidratación en alcohol y englobamiento en celoidina.

3.º Los cortes son llevados a la siguiente solución de hematoxilina, donde permanecerán de veinticuatro a cuarenta y ocho horas:

| | |
|----------------------------|--------|
| Hematoxilina | 1 g. |
| Alcohol absoluto | 10 cc. |
| Agua | 100 » |

Añádase 1 cc. de la disolución acuosa saturada de carbonato de litina, donde permanecerán de seis a doce horas.

La acción de la estufa favorece la coloración, que se obtiene ya, bajo 37º, en menos de una hora.

2.º Lavado, por algunos minutos, en agua común que contenga 2 cc. por 100 de una solución saturada de carbonato de litina.

3.º Inmersión de los cortes, por quince a treinta segundos, en una

solución al 0,25 por 100 de hipermanganato de potasa, donde toman un color pardo.

4.º Tratamiento por el líquido decolorante siguiente:

| | |
|-----------------------------|-------|
| Sulfito de potasa | 1 g. |
| Ácido oxálico | 1 » |
| Agua destilada | 200 » |

En este licor, que debe estar recientemente preparado, se decoloran los cortes, resultado que se obtiene al cabo de cinco a quince minutos.

5.º Lavado de los cortes en agua abundante.

6.º Coloración subsiguiente de fondo en picrocarminato, o carminborácico, o litiocarmin.

7.º Lavado, deshidratación, esencia de bergamota o creosota (si se quiere dejar la celoidina) y bálsamo al xilol.

Con la mira de hacer más vigoroso el color de las fibras medulares finas, propensas siempre a palidecer bajo la acción de los decolorantes, hemos modificado un tanto el proceder de Pal: 1.º, reforzando el baño de hipermanganato (que elevamos del 0,25 al 0,5 por 100); 2.º, adicionando las operaciones con otra que consiste en sumergir los cortes por doce horas en bicromato de potasa al 5 por 100 antes de llevarlos a la hematoxilina. Este baño, destinado a reponer el tanto de cromo que los cortes han perdido durante su permanencia en alcohol, ha sido ya propuesto, aunque en distinta forma, por ciertos autores. Sin él nos exponemos a obtener coloraciones grises y muy incompletas, particularmente si las piezas se han indurado en el bicromato menos de dos meses. El baño de bicromato es todavía más necesario cuando las piezas, después de induradas, han permanecido mucho tiempo en el alcohol. Si acabada la decoloración en la solución diferenciadora de sulfito, adicionada de ácido oxálico, los cortes se mostraran demasiado pálidos, no debe vacilarse en repetir nuevamente las operaciones, trasegando los cortes bien lavados otra vez al bicromato (al 4 ó 5 por 100) y tratándolos como la primera vez, es decir, por la hematoxilina y líquidos decolorantes.

Método de Spielmeyer. — 1.º Induración en formol treinta días y cortes por congelación. Los bloques se lavarán una hora antes en agua. Cortes de 25 a 30 μ .

2.º Inmersión por una noche en disolución de alumbre de hierro y amonio al 2,5 por 100.

3.º Lavado en agua.

4.º Alcohol al 70 por 100 diez minutos. Se moverán bien los cortes.

5.º Coloración en hematoxilina vieja: 5 partes de una disolución de hematoxilina en alcohol absoluto al 10 por 100 y 100 de agua destilada. De doce a veinticuatro horas. Si es muy rancia, basta con una o dos horas de coloración.

6.º Lavado en agua.

7.º Diferenciación en el mismo mordiente de alumbre de hierro y amonio media hora o más, observando al microscopio e intercalando lavados en agua.

8.º Nuevo lavado a fondo.

9.º Deshidratación en alcoholes de concentración creciente. Montaje, etc.

Según Spielmeyer, el éxito ventajoso de esta fórmula depende de la ranciedad de la solución de hematoxilina. Dicho autor aprovecha, a veces, la hematoxilina usada, previa filtración.

No hay inconveniente en incluir las piezas en gelatina. Antes de cortar obtiéndose buenos resultados, aun cuando los bloques sólo se hayan inducido en formol durante cuatro días.

Si la coloración no resulta bien, se repite en los mismos cortes.

Este proceder, muy usado ahora, tiene la ventaja de aprovechar las piezas fijadas en formol y de ser bastante constante. A veces, sin embargo, en los pequeños mamíferos proporciona fondos algo pardos y no da suficiente contraste a las fibras meduladas finas. En cambio, en el hombre y grandes mamíferos va muy bien.

Cuando en vez de teñir los cortes obtenidos por congelación se utilizan las secciones de la celoidina, se aconseja tratar los cortes, durante cuatro o seis horas, en alumbre de hierro al 4 por 100; lavarlos después rápidamente en agua; colorarlos en hematoxilina vieja y, por último, diferenciarlos en un líquido compuesto de: alumbre de hierro, 4; bórax, 2,50; ferricianuro potásico, 2, y agua, 100.

Método de Marchi. — Trozos no muy grandes de centros nerviosos se induran por ocho días en líquido de Müller. Al cabo de este tiempo se llevan a la mezcla siguiente, donde permanecerán otra semana:

| | |
|------------------------------------|-----------|
| Líquido de Müller | 2 partes. |
| Ácido ósmico al 1 por 100. | 1 » |

Las piezas se lavan, durante veinticuatro horas, en agua corriente (o en agua que se cambiará varias veces), a fin de arrastrar el ácido ósmico, y se induran en alcohol. Previa inclusión en celoidina, se practicarán cortes que no deben teñirse con ningún colorante y que se montarán en balsamo.

Este método es excelente para reconocer las degeneraciones secundarias que acaecen en los centros nerviosos, después de la destrucción o de la ablación de los focos grises o de la sección de los sistemas de fibras meduladas. Generalmente se sacrifica el animal catorce o dieciséis días después de practicada la operación. Los cortes, examinados al microscopio, presentan los tubos nerviosos sanos teñidos de gris o de moreno pálido, mientras que los degenerados exhiben rastros o cadenas de gotas grasientas coloradas en negro intenso.

El método de Marchi podrá también emplearse en el hombre siempre que las lesiones nerviosas hayan acarreado la muerte en un plazo de diez a veinte días. Transcurrido más tiempo, el contraste entre las partes degeneradas e indemnes desaparece por absorción de la mielina. En este caso debe intentarse el método de Weigert-Pal, que mostrará coloreadas las fibras sanas e incoloras las degeneradas.

Método de Benda. — Consiste en la mezcla de dos procedimientos generales descritos, puesto que la mielina no degenerada se pone de manifiesto por el método de Weigert, en tanto que por medio del rojo escarlata se tiñe la que se halla en vías de degeneración.

- 1.º Induración en formol y cortes en congelación.
- 2.º Método de Weigert para la mielina.
- 3.º Coloración con el rojo escarlata.

La mielina aparece en negro azulado y la grasa en rojo.

Método de Kultschitzky:

1.º Induración en líquido de Müller o de Erlicki. También cabe usar la fijación en formalina, a condición de servirse después del mordiente rápido de Weigert.

2.º Alcohol, inclusión en celoidina. Microtomo.

3.º Coloración de los cortes, de doce a veinticuatro horas, en esta mezcla:

| | |
|---|-------|
| Solución alcohólica al 10 por 100 de hematoxilina | 10 g. |
| » acuosa al 2 por 100 de ácido acético | 90 » |

Esta hematoxilina debe, antes de actuar, enranciarse varios meses.

4.º Paso directo de los cortes a este baño diferenciador, donde permanecerán varias horas, hasta que la coloración resulte satisfactoria (se puede comprobar de hora en hora al microscopio):

| | |
|---|--------|
| Solución saturada de litina. | 100 g. |
| » al 1 por 100 de ferricianuro de potasio | 10 » |

La diferenciación dura de tres a cuatro horas.

5.º Lavado en agua abundante.

6.º Alcohol, xilol, bálsamo.

Este método es hoy muy empleado a causa de su certeza y de poder aplicarse mejor que el de Weigert-Pal a extensas secciones de los centros nerviosos. En efecto, el paso de los cortes por el hipermanganato y el baño de sulfito (proceder de Pal) les presta una fragilidad notable, que se evita con el licor diferenciador litinado.

En general, observa Spielmeyer, se impone una *cromatización* enérgica para lograr buenas preparaciones. Aconseja el líquido de Müller durante ocho a catorce días, y después, un baño de ácido crómico al 1 por 100 actuando veinticuatro horas. Antes de la inmersión de los cortes en la hematoxilina vieja acetificada, conviene lavar rápidamente los cortes en agua

y luego en alcohol. La mejor solución de hematoxilina es la madurada durante seis meses o más.

Si en vez de piezas fijadas en líquido de Müller nos servimos de órganos tratados por el formol y seccionados con el microtomo de congelación, se someterán los cortes por media hora a una solución al medio por 100 de ácido crómico, que se calentará hasta producir vapores.

También se aplica con ventaja, después de la fijación en formol, el *mordiente rápido* de Weigert: bicromato de potasa, 5; fluorcromo, 2,50; agua destilada, 100. Este mordiente en que se sumergen las piezas (no los cortes), actuará durante cinco días en estufa.

Si deseáramos descartar el color amarillento del fondo en que destacan coloreadas en violado las fibras meduladas, recurriremos a la modificación de Wolters, que consiste en someter los cortes, después de teñidos en la hematoxilina acética, al líquido de Müller (unos minutos), y luego al hipermanganato potásico (como en el método de Pal).

Métodos para demostrar la estructura del protoplasma nervioso. — *Proceder de Nissl para la coloración de los grumos cromáticos* (1903):

- 1.º Induración en alcohol de 96º.
- 2.º Secciones sin inclusión. Para pegar las piezas al corcho se usará una solución concentrada de goma arábica que se solidificará en el alcohol.
- 3.º Inmérjense los cortes en este colorante:

| | |
|------------------------------------|---------|
| Azul de metileno β | 3,75 g. |
| Jabón de Venecia | 1,75 » |
| Agua | 1.000 » |

Esta solución, que debe estar preparada con meses de anticipación, actuará en caliente por una o más horas. Una solución de azul de toluidina, usada en las mismas condiciones, da también buenos resultados.

- 4.º Enjúganse los cortes con papel chupón sobre portaobjetos y se diferencian en:

| | |
|-----------------------------|------------|
| Aceite de anilina | 10 partes. |
| Alcohol de 96º | 90 » |

- 5.º Se enjugan nuevamente y se aclaran con aceite de Cayeput y después en bencina. En fin, conservación en colofonia al xilol.

Los grumos cromáticos adquieren tono azul intenso y los nucleolos aparecen también vigorosamente teñidos.

El método de Nissl puede simplificarse del modo siguiente:

- 1.º Trozos pequeños de centros nerviosos frescos, se endurecen por cuatro a ocho días en el alcohol de 40º o absoluto. Inclusión en celoidina.
- 2.º Los cortes, que deben ser finos, se coloran por diez o más minutos, en una solución saturada o muy concentrada de azul de toluidina (Nissl), o de tionina (Lenhossék).

3.º Lavado de los cortes en alcohol de 40º, hasta que tomen un matiz azul claro. Xilol y montaje en bálsamo. Conviene añadir al alcohol un poco de aceite de anilina para acelerar la decoloración. Si utilizamos la tionina, los grumos cromáticos aparecerán de violado oscuro, los nucleolos de azul, y la substancia blanca, de azul pálido casi incolora. Al nivel de la mielina suele presentarse un precipitado irregular del matiz rojo.

A ejemplo de Held, cabe dar al fondo un tono de contraste con la eritrosina.

En fin, un gran número de fórmulas (azul policrómico de Unna, etc.) a base de anilinas dan iguales o parecidos resultados que el proceder de Nissl.

Recordemos también que el método del carbonato de plata de Del Río (fijación en formol) y nuestras variantes del proceder del óxido de plata amoniacal (véanse más adelante los métodos para impregnar la glía) impregnan de negro pardo los grumos de Nissl.

Método para la demostración de la morfología de las neuronas. — *Método de Golgi.* — Cuando se somete a la acción del nitrato de plata un centro nervioso o de tejido con nervios, previamente indurado en bicromato de potasa, prodúcese en el espesor de la trama, y sobre ciertos elementos solamente, un precipitado rojo-ladrillo opaco, que permite seguir fácilmente la fibrillas nerviosas y las expansiones de las células.

Esta singular reacción fué descubierta por Golgi, y ha sido aprovechada ventajosamente en el estudio de la estructura de la retina, mucosa olfatoria, ganglios, médula, cerebro, cerebelo, por numerosos investigadores (Golgi, L. Sala, Fusari, Martinoti, Tartuferi, los hermanos Cajal, Cl. Sala, Kölliker, Lenhossék, van Gehuchten, Retzius, Lugaro, Falcone, Athias, Tello, Schaffer, Calleja, Lorente, etc.).

He aquí el método de Golgi, tal como nosotros lo practicamos:

En él cabe distinguir el proceder rápido y el lento.

Proceder rápido de Golgi modificado:

1.º Induración de trozos pequeños ($\frac{1}{3}$ de centímetro cuadrado a lo más) durante uno a tres días en:

| | |
|---|--------|
| Bicromato de potasa al 3 por 100. | 20 cc. |
| Ácido ósmico al 1 por 100. | 6 » |

2.º Lavado rápido (dos o cuatro segundos) en agua destilada.

3.º Inmersión por treinta horas en solución de nitrato de plata cristalizado al 75 por 100.

4.º Induración por media hora en alcohol de 40º.

5.º Montaje superficial en un bloque de parafina o entre dos trozos de médula de saúco, para efectuar las secciones microtómicas, que deberán ser espesas.

6.º Lavado de los cortes, que deben recogerse en alcohol de 40º o en alcohol absoluto, que se mudará seis u ocho veces durante media hora.

7.º Aclaramiento por dos a cinco minutos en la esencia de clavos.

8.º Translación rápida al portaobjetos, donde se irrigarán con xilol (por algunos segundos) para quitar la esencia de clavo.

9.º Lubricación de los cortes con resina damar disuelta en xilol.

10. Deseccación subsiguiente de los cortes al descubierto, a fin de que el barniz se endurezca hasta lo hondo del tejido y las células queden como incrustadas en cristal. La lenta desecación del barniz, así como un montaje a la manera ordinaria, estropean la coloración (1).

Este método de coloración produce excelentes preparados en la médula embrionaria, cerebro y cerebelo de los mamíferos, en la retina, bulbo olfatorio, terminaciones nerviosas periféricas, gran simpático adulto, conductos glandulares, etc. Tiñe de negro las células y particularmente los cilindro-ejes.

Cuando después de la impregnación en nitrato de plata, el preparado nos mostrase poca o ninguna reacción, volverán a someterse las piezas (recién sacadas del nitrato) a los mismos baños, a saber: solución osmio-bicrómica por veinticuatro horas y nitrato de plata por treinta y seis. Esta modificación, que nosotros hemos llamado de *doble impregnación*, es mucho más constante que el *modus operandi* ordinario, y nos ha permitido (así como a Retzius, van Gehuchten, Cl. Sala, P. Ramón, Lenhossék Athias, etc.) colorar fibras y células nerviosas que se resisten a los otros modos de empleo de la reacción negra.

Proceder lento y semilento. — En vez de la mezcla osmio-bicromica cabe indurar primero durante treinta o más días en líquido de Müller, y luego ensayar la acción del nitrato de plata. Esta variante es más incierta que el proceder rápido antes descrito.

Algo mejores resultados suministra la induración previa, durante dos a cuatro días, en líquido de Müller o en bicromato al 3 por 100, seguida de inmersión, por tres a cinco días, en la referida mezcla osmio-bicrómica. El número de células impregnadas es más considerable (proceder *semilento*).

Como en cada impregnación suelen colorarse solamente algunas especies de fibras y células, todo estudio formal hecho con este método se fundará en el examen de muchísimos cortes y de numerosas impregnaciones del mismo órgano, porque las células ausentes en un preparado suelen mostrarse en otros. Debe, por tanto, el observador, integrar en una noción total de estructura los resultados parciales logrados mediante el examen de muchos buenos preparados.

Método de Golgi-Cox para el teñido en gris de las células nerviosas. — El método primitivo de Golgi consistía en indurar las piezas du-

(1) Para usar los objetivos de inmersión es conveniente montar los preparados en cubre-objetos, con los cortes hacia abajo, sobre un cristal o madera perforados.

rante uno o más meses en líquido de Müller y someterlas después por varias semanas a la acción de una solución abundante de sublimado corrosivo al 1 por 100.

Cox ha modificado esta técnica haciendo la coloración más constante, en la forma siguiente:

1.º Piezas de substancia gris no muy espesas se sumergen en el siguiente líquido:

| | |
|---|-----------|
| Bicromato de potasa al 5 por 100 | 20 cc. |
| Sublimado al 5 por 100 | 20 » |
| Agua destilada | 30 a 40 » |
| Cromato de potasa al 5 por 100 con re- acción fuertemente alcalina | 16 » |

2.º Después de uno o varios meses de acción, se extraen las piezas, se induran en alcohol, se engloban superficialmente en parafina, y se cortan.

3.º Lavado de los cortes en mucha agua e inmersión, para el ennegrecimiento de las células, en una solución débil de potasa o, mejor, según practicamos nosotros, en una solución concentrada de sulfito de sosa.

4.º Nuevo lavado abundante y montaje de los cortes en seco, como se hace en el proceder ordinario de Golgi.

Esta fórmula da resultados muy bellos y constantes con tal de emplear animales jóvenes (conejo, gato, perro, etc., desde veinte días hasta dos meses). En los mamíferos recién nacidos y de pocos días, la substancia gris se reblandece y la reacción es muy inconstante e incompleta. También en el hombre da buenos resultados cuando las piezas son frescas.

Método de Ehrlich. — En este método, el azul de metileno se hace llegar a las partes nerviosas, ora por inyección en las arterias del animal recién sacrificado, ora mediante lubricación directa reiterada de los órganos puestos al descubierto. Suele emplearse una solución al $\frac{1}{4}$ o al $\frac{1}{2}$ por 100 en agua salada del azul de Ehrlich, para inyecciones vitales (1).

En general, siempre que sea posible, se utilizará el procedimiento de inyección, porque altera menos los tejidos que la lubricación directa y da fondos totalmente incoloros o muy poco teñidos. Para orientar al principiante vamos a exponer aquí un ejemplo:

Supongamos que nos proponemos colorar con el azul los plexos nerviosos del intestino delgado. Desde luego se escogerá un animal pequeño que tenga muy delgadas las túnicas de aquel órgano (conejo común de ocho a quince días, conejillo de Indias, rata, etc.); porque como no aparece la reacción más que en zonas muy superficiales (un tercio de milímetro, de ordinario), si el animal posee una túnica muscular superficial espesa (por

(1) Úsese el llamado azul de metileno rectificado para inyecciones vitales, preparado por la casa Grübler de Leipzig.

ejemplo, el gato y perro adultos), será imposible la penetración, hasta el plexo de Auerbach, del oxígeno del ambiente, y no habrá, por consecuencia, selección nerviosa. No es precisa la inyección en vivo en animales narcotizados, como se ha aconsejado. Basta con que el animal esté caliente, recién muerto.

Esta regla de escoger órganos delgados es general, y todavía debe aplicarse con más rigor en la médula espinal, retina y cerebro de los mamíferos (rana, ratón y demás vertebrados pequeños).

Elegido el animal, se inyectará por la aorta torácica, es decir, hacia abajo, el azul (disuelto en agua salada al 0,75 por 100 o al 0,5 por 100), en cantidad tal que el intestino adquiera un tinte azul de mediana intensidad. Una inyección forzada dará un azul oscuro, perjudicando la reacción y tiñendo demasadamente el fondo muscular. Acto continuo se separarán las asas intestinales, que se colgarán dentro de una cámara húmeda, de suerte que el aire las bañe por todas partes. Aquí permanecerán durante tres cuartos de hora a hora y media.

Por último, trozos de dicho órgano se fijarán, ora en picrato amónico, ora en molibdato amónico. Aplicado el molibdato al tubo intestinal, tiene el inconveniente de prestar demasiada opacidad a la trama muscular; en este caso, pues, como en algunos otros, será preferido el picrato amónico de Dogiel, a causa de la propiedad que posee de transparentar notablemente los tejidos y de evitar la rigidez de los músculos lisos.

El líquido de Dogiel no es otra cosa que una solución saturada acuosa de picrato amónico, a la que se añaden algunas gotas de ácido ósmico (solución de picrato, 100; solución de ácido ósmico al 1 por 100, 1).

Desde este líquido, donde las piezas deben permanecer de seis a veinticuatro horas, se trasladarán éstas a la glicerina saturada de picrato amónico, y en ella se abandonarán por doce a veinticuatro horas, hasta que adquieran la debida transparencia. El examen se practicará en este mismo vehículo, para lo cual será el intestino reducido por exfoliación a sus túnicas musculares, las cuales se montarán de plano sobre el porta, y se comprimirán ligeramente por una laminilla (1).

Es posible transformar en definitivos estos preparados. Para ello, antes de llevar las piezas al alcohol, se las trata, como aconsejan Bethe y Dogiel, por la solución de molibdato amónico al 10 por 100, donde permanecen de doce a veinticuatro horas. Conviene, según aconseja Bethe, añadir a la solución de molibdato una o dos gotas de ácido clorhídrico. Aquí el precipitado de azul de metileno se vuelve insoluble en alcohol, y podremos, por consiguiente, deshidratar la preparación y montarla en bálsamo, a la materia ordinaria.

(1) Se ha preconizado también por Bethe una solución de fosfomolibdato de sodio, (fosfomolibdato, 1; agua, 10; solución de ácido crómico al 2 por 100, 10; ácido clorhídrico, 1 gota).

Sin embargo, es preferible, como en los preparados de Golgi, montar los cortes al descubierto, lubricados con resina damar (Cajal).

Si se desea cortar por congelación, será conveniente, después del fijado de las piezas, indurarlas en formol al 14 por 100, adicionado de algunas gotas de cloruro platinico al 1 por 100 y de un poco del precipitado que se forma al mezclar el azul de metileno con el molibdato.

Este proceder colora casi uniformemente de azul el protoplasma de las fibras y células nerviosas. A la manera del método de Golgi, la tinción no se extiende a todas las células de un foco, sino que en cada preparación escoge ciertos elementos. Por esta razón el estudio debe también basarse en el examen de numerosísimas preparaciones.

El método de Ehrlich da resultados excelentes en la retina, placas motrices, terminaciones sensitivas, etc.

Métodos para la coloración de la neuroglia. — *Coloración de la neuroglia por el método de Weigert.* — Mediante este método se obtiene una coloración azul específica de las fibrillas de las células neuróglicas, quedando incoloro el cuerpo mismo de éstas, cuyo protoplasma granuloso viene a ser el punto de entrecruzamiento de las citadas hebras. Tampoco se tiñen los corpúsculos epiteliales ni los astrocitos protoplásmicos o elementos en araña (células penniformes de la substancia gris).

He aquí el *modus faciendi*:

1.º Las piezas, no muy voluminosas, de centros nerviosos humanos (en los animales los resultados son muy inciertos) se induran previamente, ya en formol al 10 por 100, ya en bicromato al 5 por 100.

2.º Dichas piezas permanecen luego por ocho días en el líquido siguiente:

| | |
|--|---------|
| Agua | 100 cc. |
| Acetato de cobre. | 5 g. |
| Ácido acético | 5 cc. |
| Solución concentrada de alumbre de cromo | 2,5 » |
| Formol | 10 » |

Esta solución se prepara disolviendo primeramente por cocción en agua el alumbre y añadiendo después el ácido acético y el acetato de cobre finamente pulverizado.

3.º Induración en alcohol, inclusión en celoidina y ejecución de cortes finos.

4.º Los cortes se llevan a un líquido reductor formado por la solución al 0,3 por 100 de hipermanganato potásico. En este licor están diez minutos.

5.º Lavado rápido en agua y sumersión de los cortes en esta solución:

| | |
|-------------------------|-------|
| Cromógeno | 5 g. |
| Ácido fórmico | 5 cc. |
| Agua | 100 » |

Antes de usarlo, se añaden a 90 partes de este licor 10 de una solución acuosa, al 10 por 100, de sulfito de sosa.

6.º Lavado rápido en agua y coloración subsiguiente en solución concentrada de violado de metilo, a saber:

Violado de metilo disuelto a saturación en alcohol de 70º. 100 cc.
Solución acuosa de ácido oxálico al 5 por 100. 5 »

7.º Fijación del color mediante la solución yodo-yodurada del método de Gram (solución de un gramo de yodo en 300 cc. de yoduro de potasio al 2,5 por 100).

Este líquido se aplica durante algunos minutos sobre los cortes previamente fijados en portaobjetos y enjugados con papel secante.

8.º Decoloración en una mezcla a partes iguales de xilol y aceite de anilina.

9.º Absorción con papel secante del exceso de xilol y montaje en bálsamo o damar disueltos en este mismo menstuo.

Proceder de Anglade:

1.º Las piezas se induran durante cuatro días en el líquido siguiente:

Solución acuosa al 7 por 100 de sublimado. 1 vol.
Líquido de Fol (pág. 87). 3 »

2.º Lavado en agua corriente dos horas.

3.º Deshidratación en alcohol o acetona. Inclusión en parafina.

4.º Los cortes se sumergen, durante media a una hora, en

Solución saturada de azul Victoria (de Grüberl),

que se mantendrá caliente, aunque sin llegar a la ebullición.

5.º Después de derramar el excedente de color, sométense los cortes a la solución de Gram:

Yodo 1 g.
Yoduro de potasio 2 »
Agua destilada. 300 cc.

6.º Diferenciación en

Xilol 1 g.
Aceite de anilina. 2 »

7.º Montaje en bálsamo del Canadá.

Las fibras neuróglícas aparecen teñidas de violeta intenso, así como los núcleos. El resultado es análogo al del método de Weigert.

Método de Alzheimer para la coloración de la neuroglia y de los vasos:

1.º Induración en alcohol (celoidina, etc.), o también en el mordiente de Weigert, en cuyo caso se hacen las secciones con el microtomo de congelación.

2.º Inmersión de los cortes, de dos a doce horas, en solución de ácido fosfomolibdico. (Los cortes de la celoidina permanecerán una hora no más.)

3.º Lavado en agua por diez o más minutos.

4.º Coloración en este líquido de Mann, durante una hora:

| | |
|--|--------|
| Azul de metileno en solución acuosa al | |
| 1 por 100 | 35 cc. |
| Eosina (solución acuosa al 1 por 100). | 45 » |
| Agua destilada. | 100 » |

5.º Lavado en agua destilada durante diez minutos. Si se usó el mordiente fijador de Weigert, sólo medio minuto.

6.º Paso rápido de los cortes por el alcohol absoluto. Xilol y bálsamo. Este bello método colora la neuroglia en rojo y los vasos en azul.

Método del sublimado-oro (Cajal, 1913):

1.º Piezas frescas de cerebro humano se induran desde dos a seis días en este líquido:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Formol | 14 cc. |
| Agua destilada. | 100 » |
| Bromuro de amonio | 2 g. |

2.º Cortes por congelación que no bajen de 40 μ de espesor.

3.º Previo lavado rápido en agua destilada, sumérgense las secciones en el siguiente baño:

| | |
|--|-----------|
| Cloruro de oro moreno (Merck) al 1 | |
| por 100 | 10 cc. |
| Sublimado cristalizado en agujas (recién | |
| preparado y caliente) al 5 por 100 | 8 a 10 » |
| Agua destilada. | 40 a 50 » |

Aquí permanecerán (en la obscuridad o a media luz) de cuatro a ocho horas, hasta que adquieran tono púrpura intenso. Una temperatura de 18 a 22º favorece la reacción. Cuando se usa el método en objetos difíciles o en vertebrados inferiores, se elevará la temperatura a 25 ó 30º (Castro).

4.º Lavados en agua destilada; llévanse los cortes a este baño fijador:

| | |
|--|--------------|
| Hiposulfito de sosa a saturación | 10 cc. |
| Bisulfito sódico (solución normal) | 2 ó 3 gotas. |

5.º Lavado de los cortes en alcohol al 50 por 100. Después se los extiende en el portaobjetos, donde son enjugados con papel filtro bien fino y limpio. En fin, deshidratación en alcohol absoluto, esencia de orégano, xilol y bálsamo.

Si la reacción sale bien, las células de neuroglia aparecen teñidas en rojo purpúreo, y en rosa o violado claro las neuronas. Las fibras nerviosas son poco o nada visibles.

Este proceder da, sobre todo, buenos resultados en el cerebro humano adulto. Obtiénense, no obstante, también preparaciones aceptables en el cerebro del gato y perro, menos buenas en el conejo, etc.

Método de Achúcarro al tanino y plata amoniacal. — Queda descrito ya en la *Técnica general*, página 125. En la página 126 damos una variante de este método, también aplicable al teñido de la glía y factores estructurales del protoplasma nervioso (Río-Hortega).

Método al óxido de plata amoniacal para la glía (Cajal). — Diversos autores (Montesano, Perusini, Achúcarro, etc.) han empleado con buen éxito el *óxido de plata amoniacal* (1) para obtener la impregnación de la glía de la substancia blanca. La siguiente modificación, recientemente usada por nosotros (1920), tiene la ventaja, aparte la constancia, de colorar tanto los astrocitos de la substancia blanca como los de la gris y hasta la *microglía*. Ha sido ya descrita en la parte general, página 128. Aquí sólo añadiremos algunos pormenores:

1. Las piezas se induran de cuatro días en adelante en el formolbromuro (véase método del oro y sublimado).

2. Cortes de 30 a 40 μ obtenidos por congelación.

3. Inmersión de los mismos durante cuatro o más horas (en invierno conviene la estufa a 37°) en este líquido reforzador:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Agua destilada | 50 cc. |
| Formol | 6 » |
| Bromuro de amonio | 3 g. |

4. Dos lavados en agua abundante.

5. Llévanse las secciones al óxido de plata amoniacal de Bielschowsky o soluciones similares, donde permanecerán en frío cinco a diez minutos. Para dar finura a la impregnación se añadirán a este licor unas gotas de piridina (para 10 cc. 4 a 8 gotas). El óxido de plata amoniacal, preparado

(1) Nosotros preparamos el óxido de plata amoniacal del siguiente modo: a 10 cc. de solución de nitrato de plata al 10 por 100 añadimos 12 gotas de sosa cáustica al 40 por 100. Lávese el precipitado cinco veces en agua destilada; se le añaden 60 ó 70 cc. de agua, y, en fin, se disuelve en amoniaco. Importa no excederse en la proporción del álcali; para cerciorarse de lo cual conviene dejar un poco de precipitado sin disolver. El líquido impregnador se compone de una parte de este licor, dos a tres de agua destilada y algunas gotas de piridina.

según la nota que damos en la página anterior será diluido en el mismo volumen de agua.

6. Acción de la lámpara hasta que los cortes adquieran tono de tabaco oscuro.

7. Lavado rápido en agua destilada (pocos segundos) para extraer el exceso de óxido argéntico.

8. Reducción en formol puro al 5 por 100, o en formol comercial adicionado de creta al 2 por 100.

9. Lavado y virado si se desea un tono violeta, etc.

10. Lavado en agua común abundante (dos o tres aguas).

11. Virado en cloruro de oro amarillo que se mantendrá *frío*, si ha de actuar algunas horas, y *caliente* (estufa a 37°, como aconseja Río-Hortega), si se desea una vigorización y entono rápidos del teñido (de diez a veinticinco minutos).

12. Fijado en hiposulfito de sosa al 6 por 100, adicionado de algunos centímetros cúbicos de alcohol y de un poco de bisulfito sódico.

13. Nuevo lavado, inmersión en agua alcoholizada al tercio, deshidratación sobre portaobjetos; aclaramiento en orégano, esencia de clavos o en carbolxilol; eliminación de estas esencias por el xilol, y, en fin, montaje en bálsamo o damar.

Si se desea teñir la microglía, los cortes sólo permanecerán en el óxido de plata amoniacal, en frío, hasta que adquieran tono amarillo sucio. La lámpara no es necesaria, aunque acelera la operación. En todo corte que ofrezca color amarillo oscuro o de tabaco, la neuroglia deja de teñirse (1).

Método de Río-Hortega para la neuroglia.

1.º Fijación en el formol bromurado (véase método del oro sublimado).

2.º Cortes por congelación.

3.º *Lavado* de los cortes *tres veces*, cuando menos, en agua abundante, para privarlos de formol.

4.º *Coloración* en carbonato argéntico amoniacal (a base de carbonato de litina), que se calienta a 50-60° hasta que los cortes toman un tinte amarillo tostado (véase pág. 127).

5.º Breve lavado en agua.

6.º Reducción en formol al 10-20 por 100.

7.º Virado en cloruro de oro al 1 por 500, calentado a 50-60° hasta que las secciones adquieren color purpúreo obscuro.

8.º Fijación en hiposulfito de sosa al 5 por 100.

9.º Lavado, deshidratación, etc.

Método de Río-Hortega para la microglia, células en bastoncito y corpúsculos amiboideos y granuloso (1920):

(1) Cajal: *Trabajos de Lab. de Invest. biol.*, tomo XVIII, 1920. Idem: «Contribution a la connaissance de la neuroglie, etc.», *Trabajos de Lab. de Invest. biol.*, tomo XXIV, 1925.

Es una variante de su método del carbonato argéntico:

1.º Trozos delgados de cerebro mantenidos previamente en formol bromurado (uno o tres días), se calientan en el nuevo fijador durante diez minutos a 50 ó 55º.

2.º Cortes por congelación de 25 a 30 µ.

3.º Se lavan las secciones dos o tres veces en agua destilada amoniaca (20 a 30 cc., que contengan una o dos gotas de amoniaco).

4.º Impregnación durante diez minutos en solución fuerte de carbonato argéntico amoniaca, o durante veinte minutos en solución débil, a la temperatura de 15 a 20º. Lavado rápido. Los cortes deben mostrar color amarillo sucio.

La solución amoniaca de carbonato argéntico se obtiene de la manera siguiente:

| | |
|---|-----------|
| Solución de nitrato de plata al 10 por 100 | 5 cc. |
| Solución de carbonato de sosa puro al 5 por 100 | 20 » |
| Amoniaco en cantidad suficiente para disolver el precipitado. | |
| Agua destilada | 15 a 20 » |

5.º Reducción en formalina al 1 por 100 por algunos minutos.

6.º Lavado en agua común, extrayendo los cortes del formol antes de que éste se enturbie demasiado.

7.º Virado en solución de cloruro de oro al 1 por 500 (diez a quince minutos en frío y menos tiempo al calor suave).

8.º Fijación en hiposulfito de sosa al 5 por 100.

9.º Lavado, deshidratación en alcohol de 95º, aclaramiento en la mezcla de carbol-xilol-creosota, y montaje en bálsamo del Canadá.

Esta fórmula, que constituye el último perfeccionamiento de la primitiva de Río-Hortega, nos ha sido comunicada por el Dr. F. Jiménez Asúa. Es, sin duda, la más constante para la impregnación de las células en bastoncito, microglía común y toda suerte de fagocitos mesodérmicos del tejido nervioso (1).

Métodos neurofibrillares. — Son los recursos técnicos encaminados a presentar el armazón neurofibrillar de las células y fibras nerviosas. Clasificanse en procederes de coloración y procederes de impregnación. No vamos a describir todos los métodos propuestos, sino los más importantes, y con especialidad los de impregnación al nitrato de plata, que son los más empleados hoy.

(1) Véanse los siguientes trabajos:

P. del Río Ortega: «La microglia y su transformación en células en bastoncito, etc.» *Trabajos del Lab. de Invest. biol.*, 1920. «Histogénesis y evolución normal, éxodo y distribución regional de la microglia». *Arch. de neurobiología*, 1921.

A. Proceder de Donaggio. — He aquí el *modus operandi*:

1.º Las piezas se sumergen en fresco, durante cuatro o seis días, en piridina pura.

2.º Lavado en agua durante varias horas para extraer el reactivo.

3.º Inmersión de las piezas en la solución de molibdato amónico al 4 por 100, a la que se añade una gota de ácido clorhídrico. Aquí permanecerán veinticuatro horas.

4.º Lavado, por varios minutos, en agua destilada e inclusión en parafina, según el proceder conocido.

5.º Los cortes, que deben ser de 3 a 7 μ , se pegan al portaobjetos con agua destilada y se desparafinan y deshidratan a la manera ordinaria.

6.º Llévanse después, puestos en portaobjetos y cubiertos de una gota de agua destilada, a la estufa, mantenida a 40º. El tiempo de esta inmersión oscila entre quince segundos y un minuto.

7.º Inmersión de los cortes en solución de tionina al 1 por 10.000 durante cinco a treinta minutos. En este líquido adquiere el preparado tinta violácea rojiza. Puédese ya deshidratar, aclarar y montar; pero el autor recomienda un nuevo tratamiento por el molibdato en esta forma:

8.º Lavado de los cortes, por algunos segundos, en agua; acción del alcohol durante segundos también; nuevamente agua, renovada con rapidez, y finalmente inmersión, por quince minutos, en la solución de molibdato.

9.º Lavado, deshidratación, montaje.

Este método sólo da bellas coloraciones en las neuronas de gran talla (motrices de la médula espinal, etc.).

B. Impregnación argéntica de las neurofibrillas. — Los procedimientos de impregnación argéntica llevan enorme ventaja, por la claridad y limpieza de la coloración, a todos los métodos de las anilinas; en general, son también más sencillos y constantes. Conócense hoy tres: el de Simarro, el de Bielschowsky y el nuestro, con sus numerosas variantes.

Proceder de Simarro. — A este distinguido psiquiatra corresponde el mérito de haber coloreado por primera vez las neurofibrillas, mediante las sales haloides de plata, reducidas a favor de los desenvolvedores fotográficos.

1.º Se comienza por envenenar un animal (generalmente el conejo) con bromuro o yoduro de potasio. El envenenamiento debe ser crónico, durante ocho o quince días, y se efectuará mediante inyección subcutánea diaria de medio a un gramo de reactivo (según el peso del animal). Trozos de médula o bulbo raquídeo se sumergen en el cuarto oscuro en

| | |
|----------------------------|-------|
| Nitrato de plata | 1 g. |
| Agua destilada | 100 » |

De esta suerte, además de los cloruros y albuminatos correspondientes, se producirán dentro de las células nerviosas bromuros y yoduros de plata

muy sensibles a la luz. En algunos casos se procede al nitrado directo, sin recurrir al envenenamiento.

2.º Después de cuatro a doce o quince días de permanencia de las piezas en el cuarto oscuro, se sacarán (también a la luz roja) del nitrato y se indurarán en alcohol.

3.º Tras veinticuatro a cuarenta y ocho horas de acción del alcohol, se incluirán en celoidina. Las secciones, ejecutadas también en el cuarto oscuro fotográfico, se llevarán a una cubeta con agua, y se expondrán a la luz hasta que se vuelvan amarillas.

4.º Reducción de los cortes en cualquiera de los reveladores fotográficos (mezcla de sulfito, pirogálico y amoniaco o carbonato de potasa, etc.).

5.º Lavado, deshidratación y montaje.

Las neurofibrillas aparecen coloreadas, por lo común, en marrón claro, tanto en las células nerviosas de gran talla, como en las medianas de la médula espinal. En el cerebro, cerebelo y ganglios, fracasa la reacción. Si el teñido es demasiado oscuro, empléase como rebajador el líquido de Gram y después el hiposulfito de sosa. Además de la rareza con que se obtienen las impregnaciones de las células, tiene este proceder el grave inconveniente de no colorar regularmente los axones, teñir las estriás de Frohmann de las células y fibras nerviosas (que son productos artificiales) y de incrustar las neuronas superficiales.

Método del nitrato de plata reducido. — Las fórmulas usadas actualmente por nosotros; es decir, las más provechosas son las siguientes:

Fórmula primera. — Sin fijador.

1.º Piezas de 3 milímetros de espesor se sumergen, durante tres a cinco días, en nitrato de plata al 1,50 por 100. Estufa a 35º. La cantidad de líquido debe ser abundante con relación a las piezas. La adición de un 20 a 40 por 100 de alcohol puede, en algunos casos, ser conveniente.

2.º Inmersión de los bloques, previo rápido lavado en agua destilada, en este líquido, donde permanecerán veinticuatro horas:

| | |
|---|----------|
| Ácido pirogálico o hidroquinona | 1 a 2 g. |
| Formol | 5 a 10 » |
| Agua | 100 » |

3.º Lavado rápido en agua destilada, induración en alcohol, celoidina, y cortes de mediano espesor.

Esta fórmula produce sobre todo buenos resultados en los embriones y animales recién nacidos y jóvenes (médula, bulbo, cerebelo y ganglios) y en el cerebelo y cerebro de los adultos. También es aplicable a los invertebrados, singularmente al *hirudo*, donde impregna magníficamente las recias neurofibrillas de las células gangliónicas; pero en este caso debe aumentarse la proporción de nitrato de plata hasta el 6 por 100.

Fórmula al hidrato de cloral. — 1.º Inmersión de las piezas por uno a dos días en esta solución:

| | |
|----------------------------|--------|
| Hidrato de cloral. | 5 g. |
| Alcohol | 30 cc. |
| Agua | 70 » |

2.º Inmersión por un día en alcohol de 97º con 5 gotas de amoníaco.

3.º Nitrato de plata de cinco a siete días (estufa a 37º)

4.º Reducción de las piezas en la solución de ácido pirogálico formólico.

Esta fórmula es muy constante y muy apropiada para la impregnación de series del cerebro y bulbo de pequeños mamíferos (ratón, rata, pájaros de pocos días). Además colora el núcleo de pardo y posee mucho poder penetrante.

El formol asociado al hidrato de cloral (3 por 100) constituye un buen fijador para obtener cortes por congelación, que pueden efectuarse ya a los dos días. Tales cortes convienen especialmente para la coloración mediante el nitrato-alcohol-piridina (véase más adelante).

Fórmula al alcohol amoniacal. — Fíjanse las piezas por un día en

| | |
|-------------------------|---------------|
| Alcohol de 97º. | 50 cc. |
| Amoníaco. | 8 a 12 gotas. |

El tiempo de permanencia en el nitrato será de cinco a seis días; pero varía con la dimensión de los bloques y la temperatura de la estufa.

Conviene especialmente esta fórmula para colorear las neurofibrillas de la médula espinal y ganglios de los animales recién nacidos. También en el cerebelo y gran simpático suministra bellos resultados. En el cerebro adulto debe rebajarse el amoníaco a 2 ó 3 gotas. En fin, cuando el fijador es débilmente alcalino (2 a 3 gotas de amoníaco por 50 cc. de alcohol), dicha fórmula es aplicable asimismo a las terminaciones nerviosas periféricas.

Los procederes que acabamos de exponer han sido usados con éxito, sobre todo el primero y el tercero, por diversos autores (van Gehuchten, Michotte, Lugaro, van der Stricht, Besta, Azoluay, Nageotte, Marinesco, Held, v. Lenhossék, Dogiel, O. y H. Rossi, Levi, Dustin, etc.; pero hay otras fórmulas que convienen en casos especiales.

Proceder a la piridina. — La piridina ha sido aconsejada por Lugaro y Held como fijador de las piezas destinadas al método del nitrato de plata reducido.

He aquí la fórmula que nosotros usamos para el estudio de la neurogénesis. Con ella ha logrado Tello magníficas preparaciones:

1.º Las piezas son inmergidas por veinticuatro horas en piridina pura.

- 2.º Lavado, cambiando varias veces el agua, durante seis horas.
- 3.º Alcohol de 96º por seis a doce horas.
- 4.º Lavado rápido en agua destilada para extraer el alcohol.
- 5.º Nitrato de plata al 1,50, en estufa a 35º, por cuatro o cinco días.
- 6.º Reducción en el baño piroformólico.
- 7.º Alcohol, celoidina o parafina, etc.

Esta fórmula da, sobre todo, buen resultado en los embriones y nervios en vías de regeneración. En el adulto tiñe de preferencia las fibras nerviosas finas y las ameduladas.

Cuando se trata del cerebro y cerebelo, y, en general, cuando las piezas son algo voluminosas, la piridina produce deformaciones y vacuolas en la substancia gris. Para evitarlas, sustitúyese la piridina pura por: alcohol, 20; piridina, 40. Una solución de piridina en agua al 60 por 100 da también buenos resultados. Con esta modificación hemos trabajado de preferencia durante estos últimos años, con ocasión de nuestras investigaciones sobre la degeneración y regeneración de los centros nerviosos (1). Las piezas se lavan también, durante horas, para descartar la piridina. La acción del nitrato de plata caliente (estufa 35º) no pasará de cuatro días; si la temperatura llega a 40º, bastarán tres días.

Algunos autores fijan primero en el alcohol amoniacal y usan después la piridina. El resultado, según nuestra experiencia, es próximamente el mismo (variante de Ranson).

Proceder de Liesegang. — Las fórmulas anteriores no son aplicables a las secciones. Parece indispensable, para que la reacción salga bien, la existencia en torno de las células de materias orgánicas de naturaleza coloidal (la misma trama nerviosa, etc.)

Liesegang, sin embargo, ha logrado resultados estimables, aunque no tan buenos como con nuestras fórmulas, por esta variante de nuestro método:

- 1.º Fijación en formol al 12 por 100.
- 2.º Cortes por congelación.
- 3.º Abandono por algunas horas de los cortes en solución de nitrato de plata al 0,75 ó al 5 por 100, hasta que se vuelvan pardos.
- 4.º Inmersión en solución de hidroquinona (2) que contenga una substancia coloidal (goma arábiga en solución concentrada) y cierta cantidad de nitrato de plata libre. A los pocos minutos se oscurecen los cortes tiñéndose las neurofibrillas. Desgraciadamente, los fondos resultan demasiado oscuros y no soportan bien el virado. La reacción es también menos fina que operando sobre bloques.

(1) Véase Cajal: *Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso*. Dos volúmenes. Madrid, 1914.

(2) Consta el reductor de una parte de la solución argéntica citada, otra de hidroquinona al 5 por 100 y, en fin, de otra de goma arábiga al 50 por 100.

Una variante excelente de este proceder ha empleado Balbuena. Esta fórmula tiene la ventaja de ser aplicable a los cortes, incluidos en celoidina. Como substancia coloidal usa la tintura de succino (1).

Fórmula de impregnación de los cortes especialmente aplicable al cerebelo (Cajal) (2). — Esta nueva fórmula fúndase en el hecho de que, cuando el reductor se asocia a considerable cantidad de formol y actúa en soluciones muy diluídas, es dable también evitar, como en el proceder de la goma de Liesegang, los depósitos metálicos superficiales y seleccionar muy vigorosamente determinadas arborizaciones nerviosas.

He aquí las operaciones técnicas, todas las cuales pueden hacerse en menos de quince minutos:

1.º Piezas de tejido nervioso, singularmente del cerebelo, indúrrase en formol al 14 por 100 desde cuatro días en adelante. Piezas que han permanecido en el fijador más de un año (hombre, gato, perro) continúan dando buenos resultados.

2.º Mediante el microtomo de congelación efectúanse los cortes, cuyo espesor puede variar entre 30 y 40 micras.

3.º Recogidos y conservados en agua formólica, se lavan rápidamente en agua destilada, contenida en dos pocillos de porcelana o de cristal.

4.º Sin pérdida de tiempo se sumergen en este baño:

| | |
|--|--------------|
| Nitrato de plata al 2 por 100. | 15 cc. |
| Piridina. | 6 a 8 gotas. |

5.º Transcurridas de cuatro a cuarenta y ocho horas a la temperatura ordinaria, o algunos minutos bajo la acción del calor de la lámpara, los cortes, que deberán mostrar color tabaco claro, trátanse durante dos o tres segundos, sobre poco más o menos, por:

| | |
|-------------------------|--------|
| Alcohol de 96º. | 10 cc. |
|-------------------------|--------|

No importa sumergir en este líquido varios cortes a la vez (2). Si la coloración fuera poco enérgica o las zonas superficiales palidecieran demasiado, se agregarán a dicho baño alcohólico 2 ó 3 gotas de nitrato de plata al 2 por 100.

6.º Sin previo lavado, para no descartar la plata de los cortes, trasládanse éstos al siguiente baño reductor:

| | |
|----------------------------|---------|
| Hidroquinona pura. | 0,30 g. |
| Formol Merck. | 30 > |
| Agua destilada. | 70 > |

(1) Véase la variante de J. Balbuena: «Una fórmula para la aplicación del método de Cajal a la retina». *Trabajos del Lab. de Invest. biol.* Tomo XX, 1922.

(2) Consúltese para más detalles nuestro trabajo: «Una fórmula de impregnación argéntica, especialmente aplicable al cerebelo», etc. *Trabajos*, Octubre 1921, y los *Trabajos*, tomo XXIII, 1925, donde se expone una modificación de esta fórmula.

7.º Lavado, inmersión en alcohol absoluto, aclaramiento y montaje en bálsamo.

La fijación en hiposulfito es superflua, a menos que los cortes hubieran permanecido poco tiempo en el reductor, o se hubiera añadido a éste, como en la fórmula de Liesegang, algo de nitrato de plata libre.

Tampoco juzgamos necesario el virado en oro, dada la intensidad del teñido. Con todo, si la impregnación resultara por demás vigorosa o las secciones fueran hartó espesas, no estaría de sobra someter éstas a una solución de cloruro de oro amarillo al 1 por 300. En ella deben permanecer pocos minutos en estufa a 35º.

Procediendo así, es preciso acabar la operación, disolviendo el cloruro argéntico en el hiposulfito de sosa o, mejor aún, en la *tiosinamina* al 1 por 100, que tiene la ventaja de no hinchar apenas la materia nerviosa.

Las neurofibrillas se tiñen si el nitrato de plata ha actuado en estufa veinticuatro o más horas, particularmente aplicando el método al conejo joven (dos o tres meses).

Variante al nitrato-alcohol-piridina. — 1.º Los cortes obtenidos por congelación y lavados son puestos en frío durante cuatro a veinticuatro horas en

| | |
|--|-----------|
| Nitrato de plata al 2 por 100. | 10 cc. |
| Alcohol absoluto. | 4 a 5 » |
| Piridina. | 10 gotas. |

2.º Lavado de las secciones, durante dos segundos, en alcohol absoluto o de 97º.

3.º Reducción en este baño:

| | |
|---------------------------|---------|
| Hidroquinona | 0,30 g. |
| Agua. | 70 cc. |
| Formol ordinario. | 20 » |
| Acetona. | 15 » |

4.º A los dos minutos, las secciones habrán adquirido todo su vigor y podrán ser llevadas, previo lavado, al baño de virar. Si la intensidad no fuera suficiente, se añaden al baño reductor 3 ó 4 gotas de nitrato de plata al 12 por 100. Gracias a la acetona se evita el precipitado tumultuoso de la plata. (Véase Cajal: *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*. Tomo XXV, cuaderno III.)

Esta fórmula da excelentes terminaciones de las fibras centrales (fibras mugosas, trepadoras, cálices de Held del bulbo, etc.) y muchas arborizaciones periféricas (placas motrices, etc.).

Si los axones medulados no aparecieran bien teñidos, convendrá dejar

los cortes, antes de la acción del nitrato de plata, en este baño, que podrá actuar de una a cuatro horas:

| | |
|--------------------|---------------|
| Agua | 10 cc. |
| Alcohol | 10 » |
| Amoniaco | 8 a 10 gotas. |

Método de Bielschowsky. — Este proceder es excelente para la coloración de las neurofibrillas del cerebro humano. Su ventaja más preciada consiste en que puede aplicarse a los cortes, que se tiñen con regularidad.

He aquí la fórmula última propuesta por el autor del método:

1.º Fijación en formol al 12 por 100 y cortes con microtomo de congelación. El fijado en formol dura como mínimo catorce días. Lavado, de uno a tres días.

2.º Veinticuatro o cuarenta y ocho horas en nitrato de plata al 2 por 100.

3.º Algunos minutos después de lavado rápido (quince a veinte) se sumergen en óxido de plata amoniacal, preparado del siguiente modo: a 5 cc. de nitrato al 10 por 100 se añaden 5 gotas de una disolución de sosa al 40 por 100 y el precipitado que se forma se disuelve con la menor cantidad posible de amoniaco. Después se adicionan 20 cc. de agua destilada. A veces, Bielschowsky, a fin de aminorar el color pardo de los cortes, trata los mismos, antes de la reducción, en agua acética (1 a 3 gotas de ácido acético por 20 cc. de agua) durante algunos minutos. (Esta modificación es aconsejada para los nervios y terminaciones nerviosas.) Dicho líquido actuará de cuatro a veinticuatro horas.

4.º Formol a 20 por 100 por algunos minutos.

5.º Lavado rápido.

6.º Virado con cloruro de oro amarillo (3 gotas de solución de cloruro de oro al 1 por 100, 10 cc. de agua y 2 a 3 gotas de ácido acético.)

7.º Fijación en hiposulfito de sosa al 5 por 100, al cual se añade un poco de bisulfito sódico.

8.º Lavado abundante.

9.º Deshidratación, etc.

Bielschowsky recomienda, cuando es preciso teñir bloques en vez de cortes, tratar después de la fijación los trozos nerviosos, músculos, etc., mediante la piridina pura, que actuará dos o tres días. Después lava las piezas durante horas en agua destilada y las lleva al nitrato de plata, etc. Boeke y Agduhr dan una fórmula parecida.

Método de O. Schültze y Ph. Stöhr. — Convencidos de que el formol forma con los tejidos una laca que estorba la coloración neurofibrillar, O. Schültze y su discípulo Ph. Stöhr (1923) proponen destruir esa laca mediante una solución muy diluída de sosa cáustica.

He aquí el *modus operandi* más general, aun cuando de dicho método,

Stöhr ha publicado diversas variantes, según sea el órgano donde debe aplicarse y los elementos del aparato neurofibrillar que se desee hacer resaltar.

1.^a Material fresco del cerebro, etc., es indurado en formol, durante cuarenta y ocho horas como mínimo, y cortado por congelación. Los cortes deberán medir un espesor de 30-40 micras y se recogerán en agua destilada.

2.^a De una lejía de sosa al 12 por 100 se toman seis partes, que se diluyen en 50 de agua destilada. En este baño alcalino permanecen los cortes un día.

3.^a Lavado de los mismos, durante una hora, en agua destilada, renovada cuatro veces.

4.^a Inmersión en nitrato de plata al 2 por 100 durante un mínimo de dieciséis horas o una noche.

5.^a Hágase esta solución madre de hidroquinona:

| | |
|----------------------------|---------|
| Hidroquinona | 2,5 g. |
| Agua | 100 cc. |
| Formol comercial | 5 » |

Este baño se diluirá en el momento de usarlo en 20 veces de agua. En él se reducen los cortes durante algunos segundos.

6.^a Viraje, si se desea; deshidratación, etc.

El proceder de O. Schültze da buenas fibras meduladas y ameduladas; pero, a menudo, no se tienen las más finas arborizaciones terminales. Bajo este aspecto es inferior al proceder del nitrato-piridina-alcohol preconizado por nosotros. En cambio, da gran transparencia.

Variando la concentración de la lejía de sosa, el tanto de nitrato de plata, el tiempo de acción de éste, etc., obtiéndose diversos efectos.

Prescindimos de exponer otras muchas modificaciones, tanto del método de Bielschowsky como del nuestro (métodos de Gros, Kató, Coudry, Boecke, Agduhr, Sand, Ranson, etc.). Salvo casos especiales, ninguno mejora los resultados de las primitivas fórmulas. Omitimos también por superfluas muchas fórmulas argentícas publicadas hace tiempo por nosotros. En cambio recomendamos, cuando se estudian los órganos acústicos, las fórmulas de Castro, cuyos fijadores decalcificantes dan buenos resultados, en combinación con el proceder del nitrato de plata reducido. He aquí estos decalcificantes:

I. Veinticuatro horas:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Hidrato de cloral | 5 g. |
| Alcohol puro | 50 cc. |
| Agua destilada | 50 » |
| Ácido nítrico | 2-3 » |

II. Lavado en agua corriente, un día.

III. Alcohol amoniacal, un día (alcohol, 50; amoníaco, 4-5 gotas).

Otra fórmula decalcificante (Castro):

| | |
|-------------------------|--------|
| I. Uretano. | 2 g. |
| Alcohol. | 50 cc. |
| Agua destilada. | 50 » |
| Ácido nítrico | 2-3 » |

Se usan, según dejamos dicho más atrás, cuando se trata de embriones, fetos o animales recién nacidos, de pequeño tamaño y que deben cortarse con sus cubiertas óseas.

Nosotros usamos también con buen éxito la decalcificación en:

| | |
|-------------------------|--------|
| Formol | 14 cc. |
| Ácido nítrico | 3 » |
| Agua. | 100 » |

Lavado por un día, después de veinticuatro de acción del fijador; inmersión en piridina (un día); nuevo lavado y, en fin, nitrato de plata por tres días, etc.

El ácido nítrico, lejos de perturbar, parece que mejora la reacción neurofibrillar.

Demostración del aparato de Golgi.— Los métodos especiales para el teñido del aparato de Golgi-Holmgren, propuestos por Golgi-Veratti, Kopsch, han sido expuestos en la página 262 y siguientes:

Proceder de Cajal al urano-formol.— Es el mismo que dejamos descrito más atrás (pág. 264), con dos variantes:

1.^a La fijación en el licor uránico durará solamente de ocho a doce, lo más catorce horas.

2.^a Se escogerán centros nerviosos pertenecientes a animales que no pasen de uno a dos meses. Las más bellas y completas impregnaciones del aparato de Golgi obtiéndose en el gato y perro de ocho a quince días.

Excusado es decir que se consiguen también preparaciones aceptables en los demás tejidos (epitelio, conectivo, glándulas, etc.), como lo prueban los ensayos de Tello, Sánchez, Fañanás y de numerosos sabios extranjeros.

Aumentando la cantidad de formol (llegando hasta el 20 por 100), según ha propuesto Penfield (1920), y prescindiendo del sulfito, conforme hace F. de Castro, obtiéndose también espléndidas impregnaciones en los animales adultos. Un poco de alcohol en el reductor, según practica Golgi, parece afinar, en ciertos casos, el precipitado.

CAPÍTULO XV

TEJIDOS COMPUESTOS

TEJIDO GLANDULAR

Definición. — Se llama *tejido glandular* la trama compleja ofrecida por ciertos órganos huecos, grisáceos, notablemente vasculares, y cuya función es elaborar o filtrar determinados productos, que se vierten, por lo común, en las superficies libres del organismo.

Anatómicamente, el tejido glandular representa la reunión, bajo la forma de membrana replegada, de tres tejidos: el *epitelial*, que reviste el interior y constituye el elemento activo; el *conectivo*, que engendra una urdimbre de unión y soporte de los divertículos glandulares, y el *vascular*, dispuesto en red apretada, de capilares en torno del epitelio o de su membrana basal.

Caracteres macroscópicos. — Son las glándulas órganos huecos, semiblandos, de color gris rojizo, de forma más o menos redondeada y provistos, en su mayor parte, de uno o varios conductos excretores destinados a conducir a una superficie mucosa o tegumentaria el líquido segregado. Residen las glándulas cerca de la piel y mucosas, a veces en pleno dermis, disponiéndose en divertículos más o menos complejos, que hacen relieve hacia lo profundo. Algunas glándulas, sin embargo, modificaron tanto su posición durante la época embrionaria, que perdieron casi del todo las primitivas relaciones con las membranas de origen (hígado, páncreas, etc.).

Clasificación. — Las células caliciformes repartidas por todos los epitelios prismáticos (tráquea, intestino, trompas, etc.)

descritas en el lugar correspondiente, constituyen verdaderas glándulas monocelulares encargadas de segregar mucina; pero la forma más sencilla de glándulas pluricelulares o agregaciones de células diferenciadas para la secreción, está representada por las glándulas endoepiteliales, así llamadas porque todas las células que la forman y la cavidad glandular se encuentran en el espesor de la capa epitelial. Pueden ser de tres tipos: en *botón*, semejante a los botones gustativos, resultante de la reunión de varias células de tipo mucoso, que recuerda a las células de sostén de aquéllos (intestino bronquial del ammonoetes); en *vesicular*, con una cavidad formada por las células que la tapizan en el espesor de la membrana (conductillos eferentes del epidídimo), y en *tubo* (esófago de varias aves).

La inmensa mayoría de las glándulas están fuera de la capa epitelial y no son sino repliegues membranosos producidos durante el desarrollo por sucesiva y gradual invaginación de una hoja blastodérmica. Como es natural, para cada especie glandular varía notablemente la forma de este repliegue, así como las metamorfosis sufridas por el epitelio que interiormente lleva. Y este modo de replegamiento se observa indefinidamente, marcando con sello especial la morfología de los divertículos glandulares. De aquí que semejante carácter haya sido elegido por los histólogos como principio para la clasificación de las glándulas.

Todas las glándulas se agrupan en cuatro clases: glándulas *tubulosas*, *arracimadas*, *vesiculares* y *macizas* o sin hueco secretor (de secreción interna, endocrinas). Designanse *tubulosas* aquellas en las cuales los tres factores constitutivos, membrana conectiva, epitelio y red vascular, se disponen en forma de tubo cerrado por un extremo; las *arracimadas* son las que adoptan el aspecto de divertículo más o menos alargado y sostenido por un pedículo o parte más estrecha; las *vesiculares*, que constan de cavidades esferoidales no comunicantes o sólo accidentalmente comunicantes con superficies libres; en fin, las *macizas* o de secreción interna, dispuestas en cordones epiteliales compactos anastomosados entre sí.

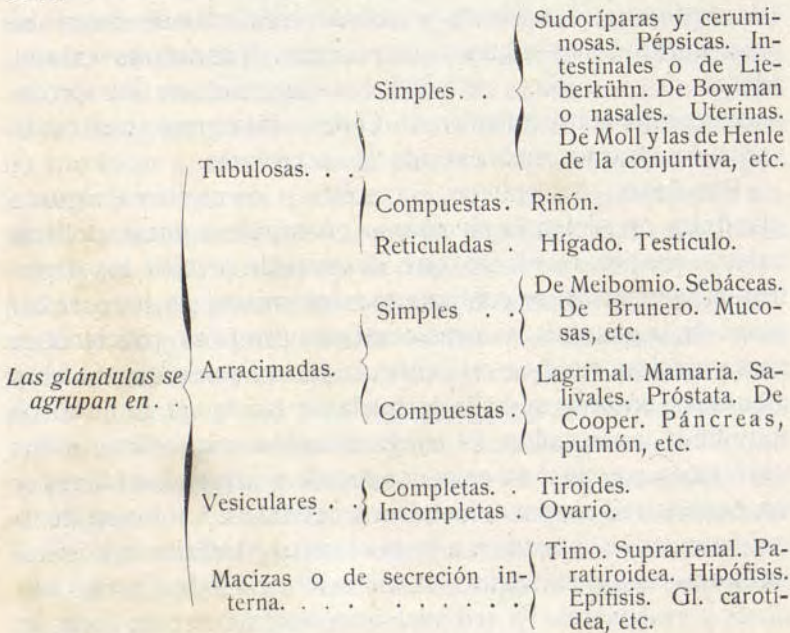
La primera clase consiente una agrupación natural en tres

géneros, según la mayor o menor complejidad de la construcción tubular: glándulas *tubulosas simples*, *compuestas* y *reticuladas*. Las primeras constan de un solo tubo abierto individualmente en superficie libre; las segundas se componen de varios tubos convergentes en uno o muchos (*conductos excretores*); y las terceras encierran conductos que, antes de desaguar en los excretores o excretor, se anastomosan entre sí formando redes complicadas.

La segunda clase o las llamadas glándulas arracimadas, comprenden dos géneros: *arracimadas simples* o de un solo racimo, y *arracimadas compuestas* o construídas de varios *acini* concurrentes en uno o en algunos tallos de desagüe (*conductos excretores*).

Por último, las *vesiculares* se dividen en *completas* cuando la cavidad se conserva siempre cerrada, e *incompletas* cuando la vesícula puede romperse accidentalmente y verter su contenido en un conducto excretor.

He aquí el cuadro que presenta gráficamente la clasificación:



Caracteres micrográficos. — Cada glándula contiene, como hemos dicho, un *epitelio*, una *membrana hialina* y la trama *conectivo-vascular*. El *epitelio* forma, generalmente, una sola capa que limita la cavidad glandular y se continúa con la superficie libre de la mucosa o piel donde se vierte el material segregado.

Las células glandulares son, ordinariamente, cúbicas o poliédricas, y poseen: una cara externa o *polo nutritivo*, por el cual se pone en relación con el tejido conectivo, capilares y nervios; una cara interna o *polo secretor*, limitante del hueco glandular, y caras laterales ordinariamente en contacto con las células compañeras. Estas caras laterales pueden ofrecer también, en algunas glándulas, canales o resquicios enlazados con la luz glandular.

La estructura de las células glandulares varía algo en cada especie. Carecen parcialmente de membrana o la poseen notablemente fina; albergan un protoplasma turbio abundante, donde residen los materiales de secreción, visibles a menudo bajo la forma de gránulos o de vacuolas claras, y encierran núcleo de figura redondeada y alojado comúnmente cerca del polo nutritivo; en algunos corpúsculos glandulares existen, además de un sistema de cordones comunicantes intraprotoplásmicos (aparato reticular de Golgi-Holmgren), ciertos divertículos abiertos en los conductos secretores.

Por debajo del epitelio, entre éste y los capilares, algunas glándulas presentan la *membrana glandular* o *basal*, película anhistá, elástica, resistente, que, después de revestir los divertículos secretorios, se continúa consigo misma en todo el espesor de la glándula, a cuyas cavidades presta su característica configuración. Aunque esta cutícula parece amorfa en muchas glándulas, en otras se halla formada de fascículos conjuntivos muy finos y apretados. El *tejido conectivo* laxo rellena todos los huecos que median entre los *tubuli* o *acini* glandulares, y contiene la red capilar y los plexos nerviosos. La forma de la red vascular se subordina a la del hueco glandular; así, es tubuliforme en las cilíndricas, sacciforme o piriforme en las acinosas y vesiculares. La red yace inmediatamente por fuera de

la membrana, lo más cerca posible de las células. Esta red es tanto más fina y tupida cuanto más activo es el órgano secretor; *verbi gratia*: el hígado y el pulmón, glándulas de función continua, la poseen apretadísima, y mucho más floja las glándulas salivares, cuya actividad es intermitente.

Expuestos estos rasgos generales, pasemos ahora a describir sucintamente los tipos más importantes de cada género glandular.

a) Arracimadas simples. — El tipo de éstas son las glándulas sebáceas. Yacen en el dermis cutáneo, por fuera del folículo piloso, dentro de cuya cavidad vierten el líquido segregado. Cada folículo piloso posee comúnmente dos glándulas, cuyo tamaño varía un tanto en las diversas especies de pelos (fig. 443, *A*).

Los *acini* glandulares constan de varios lóbulos o granos alargados, sostenidos por pedículos anchos y confluentes en un conducto excretor más angosto y de gruesas paredes. Aquí, como en toda glándula, conviene distinguir la porción *excretora* de la *secretora*. La secretora o fondo glandular consta de un revestimiento exterior hialino y de una formación epitelial gruesa, compuesta de cinco o seis capas celulares superpuestas, que a menudo ciegan la cavidad de cada divertículo glandular. Examinando atentamente estas células, se advierte que no son todas iguales: las de la primera capa, es decir, las que tocan a la membrana hialina, son aplanadas (*a*), poseen un protoplasma opaco y granuloso y se tiñen intensamente por el carmín, en tanto que las de las demás hileras son gruesas, poliédricas, claras, poco colorables por el carmín (*b*), y albergan multitud de gotas grasientas, tanto más abundantes cuanto más próximas se hallan aquéllas a la luz glandular. Obsérvase que el núcleo de los elementos de la primera zona se colora bien por las anilinas, presentando alguna vez carioquinesis, mientras que el de las células grasientas apenas se tiñe, poseyendo escasos gránulos cromáticos. El producto de secreción resulta de la disgregación de los elementos grasientos más concéntricos, cuya grasa, puesta en libertad, se junta en masa coherente (fig. 443, *c*).

b) **Glándulas arracimadas compuestas.** — Las principales son las salivares, el páncreas, la mamaria y el pulmón.

GLÁNDULAS SALIVARES. — Las glándulas submaxilar, sublingual y parótida de los mamíferos no están construídas exactamente sobre el mismo plan, ni poseen idénticas funciones. Se-

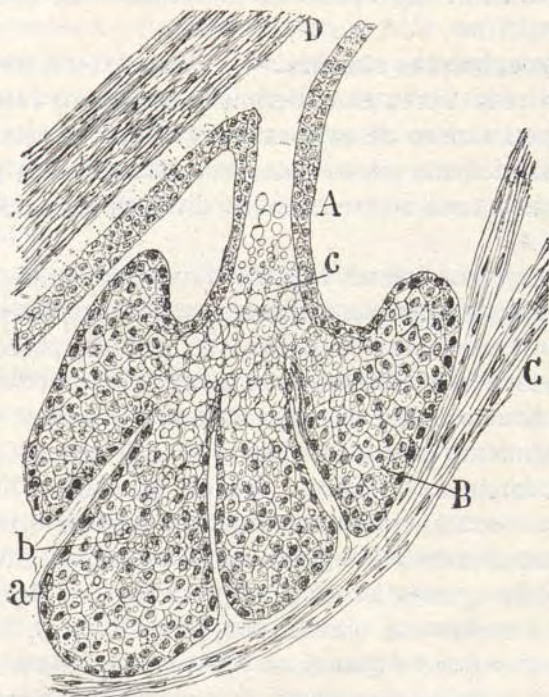


Fig. 413. — Glándula sebácea de la piel del cráneo. A, conducto excretor; B, vesícula glandular; C, músculo *arrector pilorum*; D, pelo; a, célula periférica sin grasa y con núcleo oscuro; b, células centrales con gotas grasientas.

gún Landowsky, la glándula submaxilar del gato, la sublingual del perro, conejo y hombre, segregan una saliva viscosa (*glándulas salivares mucosas*), y poseen dos tipos de células glandulares, como luego veremos; mientras que la glándula parótida del hombre y mamíferos elabora una saliva serosa (*glán-*

dulas salivares serosas) y presenta una sola especie de células glandulares.

Cuando se observa al microscopio un corte fino de la glándula submaxilar del perro o del gato, nótase que está construída de vesículas glandulares alargadas, prolongadas en unos conductos más estrechos, casi rectilíneos, los cuales desaguan

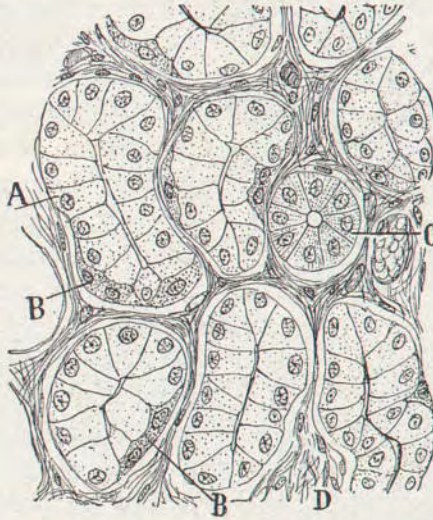


Fig. 444. — Glándula submaxilar del perro. A, célula clara o mucosa; B, células turbias o semilunas de Giannuzzi; D, estroma conectivo; C, tubo excretor con células estriadas.

de un modo convergente en el extremo de un tubo excretor. El epitelio secretor llena casi todo el hueco de las vesículas, en torno de las cuales no se observa membrana propia, sino una trama conectiva intersticial, portadora de los capilares y de las fibras nerviosas.

Un examen atento del epitelio de las vesículas revela dos zonas: una periférica, turbia, discontinua, granulosa, colorable por el carmín y constituída por células sueltas o grupitos de células modeladas en semilunas (fig. 444, B) (*semilunas* de Giannuzzi); otra, central, continua, pálida, incolorable por el carmín y engendrada por corpúsculos robustos y poliédricos,

los cuales limitan la luz glandular. Estas células tienen cubierta aparente, núcleo confinado cerca del polo nutritivo, y un protoplasma claro, reticulado, cuyas mallas alojan granos de secreción. Los trabajos de estos últimos años han revelado también la presencia de mitocondrias (fig. 446, *B*) y del retículo de Golgi. La significación de las células oscuras o periféricas

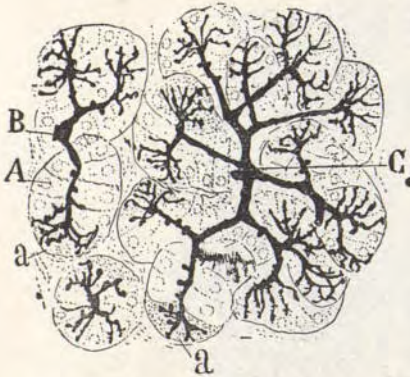


Fig. 445. — Corte de un trozo de la glándula submaxilar de gato. Coloración de los conductos glandulares por el cromato argéntico. A, células claras o mucosas; B, conducto excretor; C, conducto excretor del que parten pedículos para varios lobulillos; a, células semilunares que alojan un penacho de ramificaciones del tubo glandular.

(semilunas de Giannuzzi), se ha discutido mucho. Quiénes, como Heidenhain, estiman dichos elementos como la fase embrionaria de las células claras, las cuales se destruirían durante el acto secretorio; quiénes, como Stöhr, la consideran como elementos adultos, pero en fase de reposo.

Como nosotros hemos demostrado (1) y han confirmado Retzius y otros, el cromato de plata tiene la propiedad de depositarse en el interior de los tubos glandulares, revelando minuciosamente sus más delicadas ramillas. En las glándulas sa-

livares serosas, como la parótida, del conducto central de cada vesícula parten tubitos que se insinúan entre las caras laterales de las células claras o mucosas, terminándose en fondos de saco, no lejos de la periferia del folículo o vesícula glandular; pero en las glándulas mucosas salivares, como la submaxilar del perro y gato, además de estos tubitos terminales existen otros más gruesos que, después de atravesar el epitelio claro, se descomponen en un penacho de ramitos terminales, aloja-

(1) Cajal: «Nuevas aplicaciones del método de Golgi». *Gaz. Méd. Catalana*. Barcelona, 1889.

dos, precisamente, en el espesor de las células semilunares (fig. 445, *a*). Las ramitas más periféricas de este penacho tocan casi la superficie exterior de las semilunas. Como se ve, semejante disposición, entrevista por nosotros, pero mejor estudia-

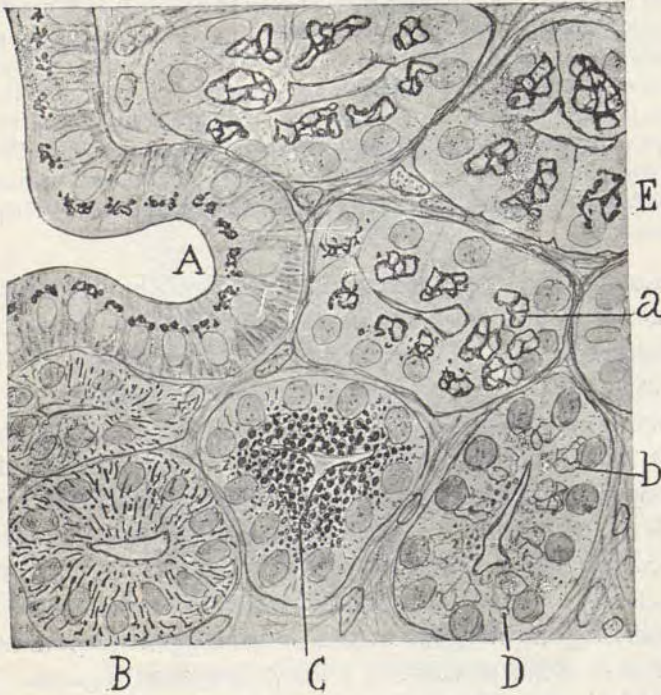


Fig. 446. — Corte de la glándula submaxilar del conejo de un mes. Método del urano formol. A, conductos excretorios finos; B, vesícula donde la plata impregna solamente las mitocondrias; C, vesícula donde aparecen los granos de secreción; E, vesículas donde se tiñe intensamente el aparato de Golgi; *a*, aparato de Golgi bien desarrollado; *b*, aparato de Golgi en vías de destrucción.

da por Retzius, establece una diferencia bien rigurosa entre ambas especies celulares, haciendo verosímil la opinión de que los elementos semilunares representan células adultas, específicas, absolutamente constantes, encargadas de elaborar algún principio especial de la saliva. Cosa análoga sucede, como más adelante veremos, en las glándulas pépsicas.

Recientes estudios (1914) efectuados con ayuda del método del nitrato de plata reducido (fórmula al urano-formol) parecen demostrar una relación estrecha entre el acto secretorio y la destrucción del aparato de Golgi. Y como la fase fisiológica no es la misma en todos los *acini*, ni siquiera en los elementos de una vesícula, de ahí que la plata revele notable variedad de aspectos estructurales, difíciles de interpretar. Parece, sin embargo, probable, que, durante el estadio de producción de granulaciones, y cuando las mitocondrias son aparentes (fig. 446, *B*), el citado aparato reticular se disgrega, haciéndose de cada vez menos visible y colorable; mientras que la fase de reposo (células sin granitos aparentes) se caracteriza por la presencia de una red espesa, situada, según mostramos en la figura 446, *a* y *E*, entre el núcleo y la superficie epitelial libre. El estado de transición (*D*) está representado por células glandulares, cuyo retículo preséntase delgado, pálido y discontinuo en unión de granitos incipientes de secreción.

Los pedículos de las vesículas, así como los tallos que resultan de la convergencia de éstos, poseen un revestimiento epitelial aplastado y transparente (pieza intercalar). De la reunión de estos tubitos se engendran otros más delgados, cilíndricos, de pared conectiva gruesa y cuya característica consiste en contener un epitelio prismático, oscuro y estriado en sentido convergente (fig. 444, *C*). Este epitelio estriado (*epitelio de bastones*) consta, según Solger, Merkel, etc., de filamentos o bastoncillos paralelos, separados en su porción interna por granos amarillentos y vacuolas. Según Merkel, semejantes elementos gozan de gran avidez por el oxígeno (se enmorenecen por el ácido pirogálico) y acaso segregan algunas de las sales de la saliva (fig. 446, *A*). De la confluencia de los tubos estriados, determina la formación de los tubos excretores, primero revestidos de una sola hilera de epitelio prismático y después de dos, con células caliciformes.

En las glándulas serosas, como la parótida, las células limi-
tantes de los acini son todas claras. En su protoplasma se hallan unas granulaciones coloreables por la fuchina ácida, las cuales, como demostró primeramente Langley y han confirmado Altmann y E. Müller, disolviéndose durante el período de actividad secretoria de la glándula, contribuyen a formar la saliva parotídea. Según Langley, durante la fase de reposo los corpúsculos se llenan de granitos, es decir, del producto se-

gregado, mientras que durante la fase secretoria dichas esféculas disminuyen en número, conservándose sólo en las zonas más internas de los corpúsculos glandulares.

En la parótida, las piezas intercalares con que empiezan los tubos secretorios son más largas que en la submaxilar. En el conectivo abundan las células grasientas.

La glandular sublingual del hombre también es mixta, pero

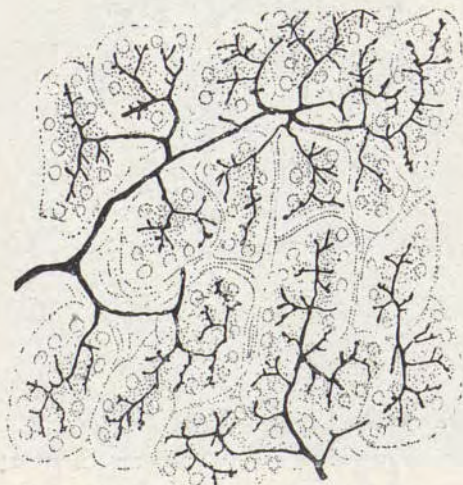


Fig. 447. — Corte de un trozo del páncreas de la rana. Impregnación de los conductos glandulares por el cromato de plata. (Según Cajal y Cl. Sala.)

predominan las células de tipo mucoso y faltan las piezas intercalares de los tubos secretorios y las porciones estriadas sólo se indican en algunos sitios.

PÁNCREAS. — Esta glándula, llamada por los alemanes *glándula salivar abdominal*, se considera generalmente como arracimada compuesta; aunque, si hubiéramos de atender a la disposición terminal de los conductos glandulares, quizá habría mayores motivos para estimarla como tubulosa compuesta (figura 447).

Los acini son alargados, constando de una membrana pro-

pia reforzada por tejido conectivo y de un epitelio espeso, turbio, que llena casi por completo la luz glandular.

Este epitelio está representado por un sola hilera de células gruesas, en las cuales se distinguen dos zonas: *interna*, caracterizada por encerrar ciertos granos gruesos, esféricos, constitui-



Fig. 448. Corte del páncreas del erizo. Coloración por el cromato de plata. A, célula nerviosa intersticial; C, plexo nervioso perivascular; B, tubo glandular y sus ramificaciones. (Según Cajal y Cl. Salá.)

dos por un fermento que se ha llamado *zimógeno*; *externa*, más pálida, de aspecto ligeramente estriado y algo coloreable por el carmín. El núcleo reside en la zona externa y no suele mostrar nunca fases mitóticas. En cuanto a los granos de zimógeno, son solubles en agua y ácido acético, y se coloran por el ácido ósmico, eosina y safranina (fig. 449, F).

Estos granos de zimógeno representan el término de la evolución de granulaciones vivas elementales, que pueden mostrarse por la hematoxilina ferruginosa.

Según Heidenhain, las células glandulares pasan por dos fases funcionales, que duran de seis a ocho horas: 1.^a, fase

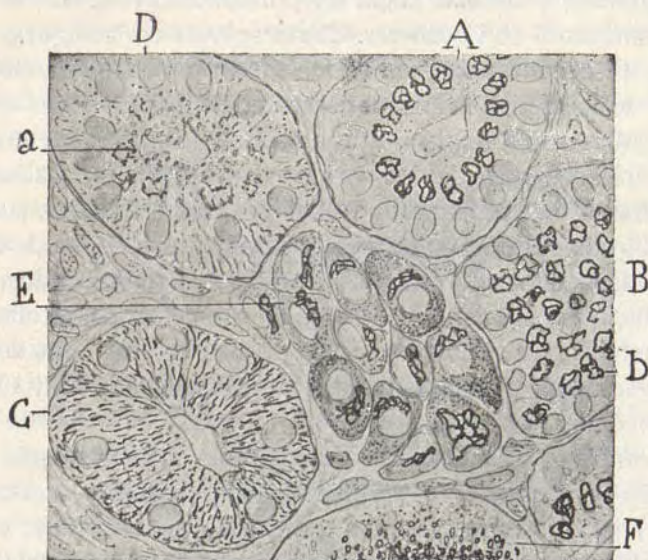


Fig. 449. — Corte del páncreas del conejo de pocos días. Proceder de impregnación del uranoformol; A, B, vesículas donde se marca bien el aparato de Golgi; D, otra donde este aparato presentase en vías de disgregación, indicándose las mitocondrias; C, vesícula donde sólo se presentan teñidas las mitocondrias; F, vesícula portadora de granos de zimógeno; E, islote de Langerhans.

de reposo, durante la cual el protoplasma se hincha, su parte interna se llena de gránulos de zimógeno y el lobulillo secretor entero se ensancha (fase de *secreción* de Ranvier); 2.^a, fase *de actividad*, durante la cual los granitos de zimógeno se vierten en el líquido segregado, y las células, casi exhaustas de esta inclusión, disminuyen notablemente de volumen (fase de *excreción* de Ranvier). Mezclado el zimógeno con el líquido glandular, fórmase la *tripsina*. Estos dos estados secretorios pueden estudiarse en el conejo vivo (Kühne, Lea).

Por lo que toca a la disposición terminal de los conductos glandulares, el páncreas recuerda en gran parte las glándulas salivares, aunque aquí el epitelio alargado y plano de los segmentos intercalares con que terminan los tubos secretorios llegan hasta el centro de los acinis, constituyendo las células *centro-acinosas*, y además faltan las porciones revestidas de epitelio estriado o con *bastones*. Como se nota en las figuras 447 y 448, *D*, el centro de cada vesícula terminal contiene un conducto del cual parten ordinariamente, en ángulo recto o casi recto, numerosas ramitas, que, después de marchar entre las superficies laterales de los corpúsculos epiteliales, acaban en dilataciones olivares o redondeadas, sin traspasar jamás la zona de los granos de zimógeno. Cada ramito intercelular de éstos muéstrase, además, erizado de divertículos redondeados, ampulosos, que parecen ocupar el mismo espesor del protoplasma epitelial, y que corresponden probablemente a las *vacuolas de secreción* mencionadas por Kupffer, L. Pfeifer y Ooppel en las células hepáticas.

Semejante disposición, demostrada primeramente por Cl. Sala y nosotros en los peces, aves, batracios y mamíferos (1), ha sido recientemente confirmada por E. Müller y Dogiel. Hay, pues, en el páncreas tres clases de tubos intravesiculares: conducto axial o central, ramas interepiteliales y vacuolas o divertículos intraprotoplásmicos.

Como en las glándulas salivares, el proceder de impregnación más atrás citado colora fácilmente el aparato de Golgi de los corpúsculos pancreáticos. Aprécianse también aquí notables diferencias tocantes a la disposición y colorabilidad de este aparato, según el estado funcional. Así, mientras en los elementos claros o exentos de gránulos marcados, la red se tiñe vigorosamente (fig. 449, *A, B*), en aquellos otros donde se tiñen mitocondrias y esférulas glandulares es imposible demostrarla (*C*). A menudo encuéntranse lobulillos provistos de esferas intraprotoplásmicas (granos de zimógeno, en que la red es todavía perceptible, aunque delgada y en tránsito de disgregación (*D*)). Estas mutaciones sugieren la idea de que el aparato de Golgi entra por algo en el proceso secretorio, disolviéndose parcialmente en el líquido elaborado para reconstruirse ulteriormente, cuan-

(1) S. Ramón Cajal y Cl. Sala: *Terminaciones de los nervios y tubos glandulares del páncreas de los vertebrados*. Barcelona, 1891.

do, pasada la fase de excreción, retorna el protoplasma al estado de turgescencia. En fin, hagamos notar el aspecto que el aparato de Golgi ofrece en los *islotes de Langerhans*, en cuyas células parece constituir órgano perenne e invariable. Esta particularidad representa un argumento más en pro de la especificidad fisiológica de los mencionados islotes (fig. 449, E).

Islotes de Langerhans. — Entre las vesículas del páncreas residen ciertos acúmulos celulares, compuestos de elementos epiteliales poliédricos, apretados, entre los cuales penetra una red capilar muy rica. Son los *islotes de Langerhans*, considerados hoy como una glándula de secreción interna completamente ajena a la función de los lobulillos pancreáticos.

En la figura 449, E, mostramos un corte donde aparece uno de estos islotes. Repárese el aspecto granuloso del protoplasma; la morfología varía de las células donde dominan los tipos alargados, y, en fin, un aparato de Golgi perfectamente desarrollado.

GLÁNDULA MAMARIA. — Es túbuloalveolar, consta de 15 a 20 lóbulos, formado cada uno por numerosos lobulillos, y sufre importantes cambios con la pubertad, el embarazo y la lactancia, presentando aspectos diferentes según el momento en que se la estudie.

La parte más permanente en todas estas variaciones es el *aparato excretor*, formado por una serie de tubitos que convergen hasta constituir un solo y amplio conducto para cada lóbulo (*conducto galactóforo*), que se abre aisladamente en la piel del pezón, después de haber experimentado poco antes un gran ensanchamiento fusiforme (*seno lactífero*). Están revestidos todos los tubos por un epitelio cilíndrico de una o dos filas de células, continuo con el pavimentoso estratificado de la piel en la proximidad de la desembocadura.

Formada la glándula mamaria por el epitelio de la piel que se insinúa en la profundidad, engendrando un cordón macizo que después se ramifica, ahueca y forma vesículas secretoras, en el momento del nacimiento, en los dos sexos, está constituida casi exclusivamente por la parte excretora; en la infancia se atrofia en el sexo masculino y crece en el femenino, sobre todo al llegar a la pubertad, por formación de nuevos conduc-

tos, pero mostrando solamente algunos alvéolos terminales en los tubos, con escasa luz y un epitelio cúbico.

En la segunda mitad del embarazo aumenta el número de alvéolos, que se engruesan notablemente, alargándose sus células, provistas ahora de granulaciones y gotitas de grasa. Al

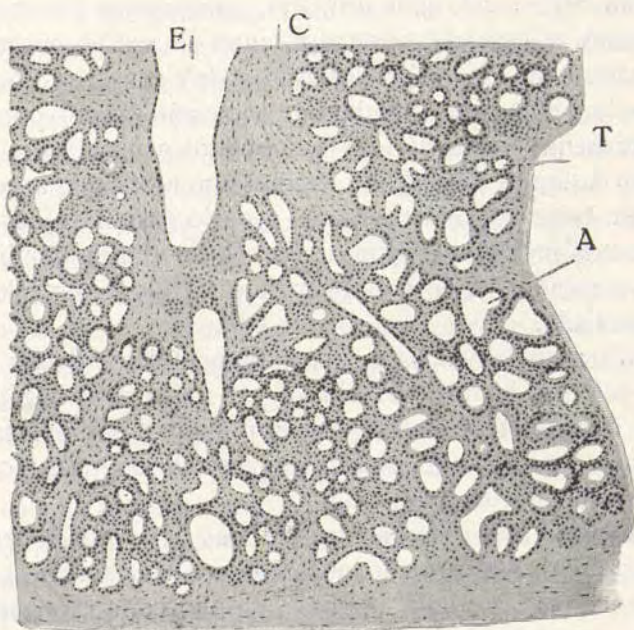


Fig. 449 bis. — Sección de la glándula mamaria de una mujer lactante (tomada de Stöhr).
E, rama de un tubo excretor; A, alvéolo; T, tubito; C, conjuntivo.

final del embarazo existe en la cavidad de los alvéolos y conductos un líquido más denso y rico en albúmina que la leche, llamado *calostros*, en el que están suspendidos unos corpúsculos, constituidos por leucocitos cargados de grasa. Después del parto, las células de los alvéolos se alargan más todavía, cargándose cada vez más de grasa; para muchos (Langer, Benda, etc.), las gotas de grasa serían vertidas al líquido segregado, funcionando como una glándula merocrina, y para algu-

nos (R. Heidenhain, etc.), la célula se destruiría totalmente (holocrina) como en las sebáceas. La destrucción celular, sea de leucocitos o de células epiteliales, sería la causa de la nucleína que contiene la leche.

Terminada la lactancia se atrofia en parte la porción glandular, aumenta el conectivo que separa los lóbulos y vuelve al aspecto de la fase de descanso.

Entre las células que revisten los alvéolos y la membrana propia que les forma el conectivo existen unas células en cesta, semejantes a las de las glándulas salivares. Entre los tubos galactóforos y senos y en torno hállanse en el pezón fibras musculares lisas.

PULMÓN. — Posee esta glándula, como todas las arracimadas compuestas, un conducto excretor (*tráquea*), que se ramifica repetidas veces (*bronquios y sus ramas*) hasta constituir delgados tubos desprovistos de armadura cartilaginosa (*conductos respiratorios*) y terminados por unas dilataciones piriformes (*infundíbulos pulmonares*). Las paredes de estas dilataciones presentan abolladuras hemiesféricas, más o menos salientes (*vesículas pulmonares*), que corresponden al grano de los acini de las glándulas análogas (fig. 451, C).

Consta cada vesícula de una *membrana*, una *red capilar* y un *epitelio*. La *membrana* es elástica, hialina y delicadísima; por fuera está reforzada por abundantes fibras elásticas, dirigidas circularmente y acumuladas especialmente en las depresiones intervesiculares del infundíbulo en las aberturas de los alvéolos (fig. 453). La *red capilar* (entre las últimas ramas de la arteria y venas pulmonares que se reparten en el contorno de las vesículas) es finísima, apretada, de mallas circulares y de trabéculas tan delgadas, que apenas puede pasar por ellos un he-

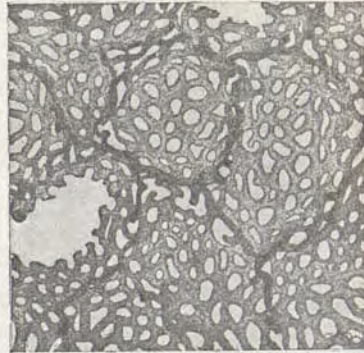


Fig. 450. — Redes capilares de las vesículas pulmonares. (Tomado de Schäfer.)

matie; yace esta red por dentro de la membrana (figuras 450 y 452, C), a la que adhiere íntimamente. Por dentro de la red, y limitando la luz glandular, hállase el *epitelio*, de una sola capa, caracterizado por la extrema delgadez de sus células, en un todo análogas a las endoteliales. La porción de éstas, superpuesta a los capilares de la red, es hialina y delgadísima; pero la que corresponde al hueco de la malla es más espesa y turbia y contiene el núcleo (fig. 452, E).

Un endotelio semejante reviste los conductitos respiratorios y el resto del infundíbulo.

Los bronquios gruesos están revestidos por un epitelio vibrátil y de apariencia estratificada, que en los más delgados se presenta constituyendo una sola capa, y, por último, se hace cúbico en las proximidades del infundíbulo. Además de la mucosa constan las paredes bronquiales de dos capas más: la fibrocartilaginosa y la muscular. Los cartílagos corresponden a la variedad hialina, adoptando en los bronquios gruesos la forma de anillos incompletos, y disponiéndose en los delgados

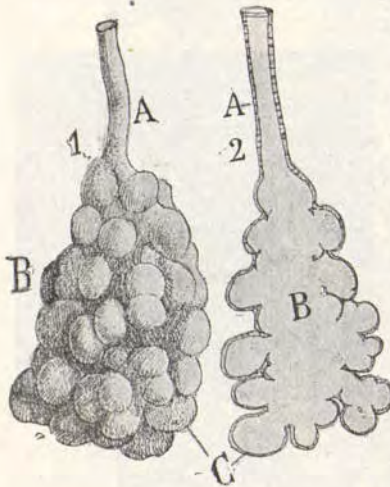


Fig. 451. — Esquema de la morfología de un infundíbulo pulmonar. 1, infundíbulo visto por fuera; 2, infundíbulo seccionado a lo largo; A, canalículo respiratorio; C, vesícula o alvéolo pulmonar.

(hasta los de un milímetro de diámetro) en chapas irregulares, angulosas, esparcidas por todo el contorno del tubo. Entre las placas cartilaginosas, y envolviéndolas por completo, hállase un tejido fibroso, rico en elementos elásticos, que disminuye a medida que es menor el calibre de los bronquios, tomando al mismo tiempo el tipo laxo. La fuerte capa elástica de la porción más profunda de la mucosa se conserva hasta en los bronquios más finos, continuándose en el atrio con las fibras elásticas de las vesículas. Los elementos musculares son lisos y se disponen en capa floja y plexiforme, situada debajo del der-

mis de la mucosa, sobre la zona glandular; en los últimos bronquiolos se ven fascículos circulares aislados.

c) **Glándulas tubulosas simples.** — Indicaremos sumariamente algunos tipos principales:

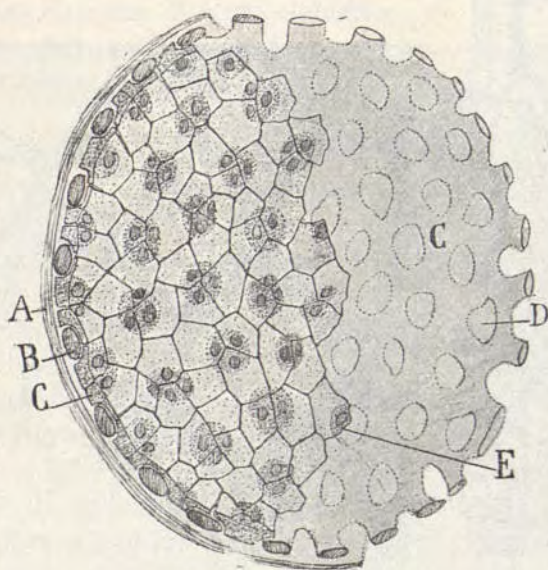


Fig. 452. — Vista de plano y sección de una vesícula pulmonar de la rana. Figura semiesquemática. A, membrana glandular; C, epitelio engruesado al nivel de las mallas de la red; B, red capilar; E, parte de célula epitelial que yace sobre la malla; D, malla capilar.

GLÁNDULAS PÉPSICAS. — Son tubos delgados, de dos a cinco décimas de milímetro de longitud, que atraviesan perpendicularmente la capa mucosa del estómago. Constan de una parte excretora o *cuello* de la glándula, y de otra secretora o *cuerpo* y fondo de la misma. La porción excretora está formada por dos clases de células epiteliales: células periféricas (*delomorfas* de Rollet, *sobrepuestas* de Heidenhain), gruesas, redondeadas o irregularmente cuboideas, de considerable tamaño, con protoplasma abundante, turbio y obscuro, que encierra un núcleo casi siempre central; y células pequeñas, cuboideas, claras, mu-

cho más numerosas, de núcleo periférico y de protoplasma finamente reticulado (*adelomorfos* de Rollet, *principales* de Heidenhain). Estas últimas constituyen una capa de revestimiento continuo, que se prolonga con el de la porción excretora, mientras que las primeras sólo se muestran acá y allá, de

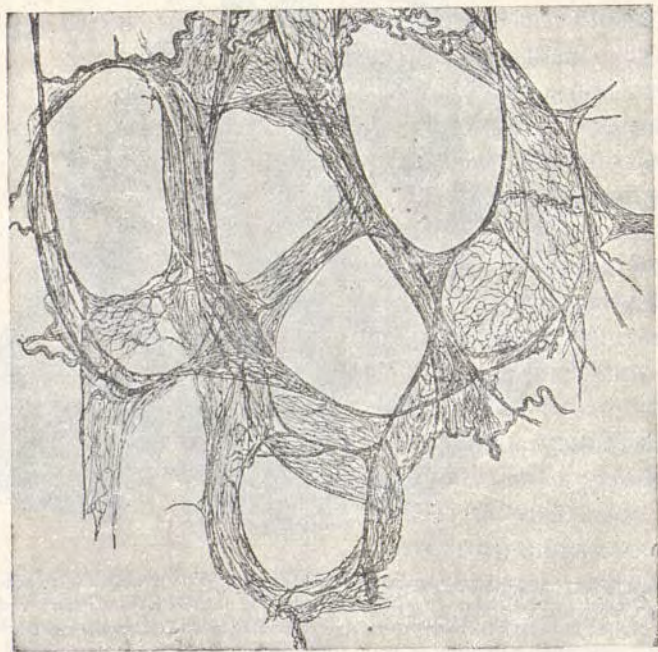


Fig. 453. — Tejido reticular de las paredes alveolares del pulmón. (Según Mall.)

un modo errático, sobresaliendo por su gran tamaño de la superficie de la glándula que está en contacto con el conectivo (fig. 454, *a*). Según Golgi (1909), las células tangenciales o delomorfos carecen de aparato reticular, mientras que lo tienen bien caracterizado los corpúsculos principales.

Las *células principales* engendran, en los intervalos de la digestión, una substancia, el *pepsinógeno*, el cual es eliminado durante el período de actividad del estómago, convirtiéndose

en pepsina. En las preparaciones teñidas por la hematoxilina ferruginosa aparecen ciertas finas granulaciones, las unidades o bioblastos secretores, a cuyo cargo corre la formación del pepsinógeno. Las células sobrepuestas elaboran el ácido clorhídrico (Heidenhain, Sehrwald), quizá descomponiendo los cloruros aportados por la sangre.

Los trabajos que E. Müller ha ejecutado hace ya tiempo, valiéndose del procedimiento de Golgi, refuerzan la opinión de que las células sobrepuestas representan agentes secretores de naturaleza distinta que los corpúsculos principales. Como se ve en la figura 454, *c*, donde representamos un corte vertical de varias glándulas pépsicas del gato, del conducto glandular parten cortos travesaños, que salen al encuentro de las células de revestimiento, donde forman una red terminal de mallas finísimas y poligonales. La red yacería, según E. Müller, por fuera de dichas células; pero, en nuestro sentir, reside en el espesor del protoplasma, si bien ocupa, por lo común, una posición periférica. Algunos pocos ramitos intraprotoplásmicos acaban en fondo de saco. En ciertos cortes, el depósito de cromato sólo dibuja los tallos de unión de las mencionadas redes con el conducto principal (fig. 454, *C*).

La porción excretora de las glándulas pépsicas es mucho más ancha y desagua en la superficie estomacal por una abertura infundibuliforme. Por lo común, como se ve en la figura 454, *A*, cada conducto excretor recibe dos o más glándulas pépsicas; en dicho conducto el epitelio es prismático, muy



Fig. 454. — Glándulas pépsicas del gato de pocos días. Coloración por el cromato de plata; A, conducto excretor; B, porción secretora de la glándula donde aparecen las redes terminales *c*, yacentes en las células de revestimiento; C, porción secretora de otra glándula donde el cromato de plata sólo impregnó el pedículo que conduce a las redes; *a*, célula sobrepuesta; *b*, célula principal.

alargado y casi todas sus células son caliciformes. Por fuera de la capa epitelial de la glándula hállase un tejido conectivo laxo, muy fino y apretado, portador de la malla capilar. La membrana anhista descrita por los autores, nos parece ser simplemen-

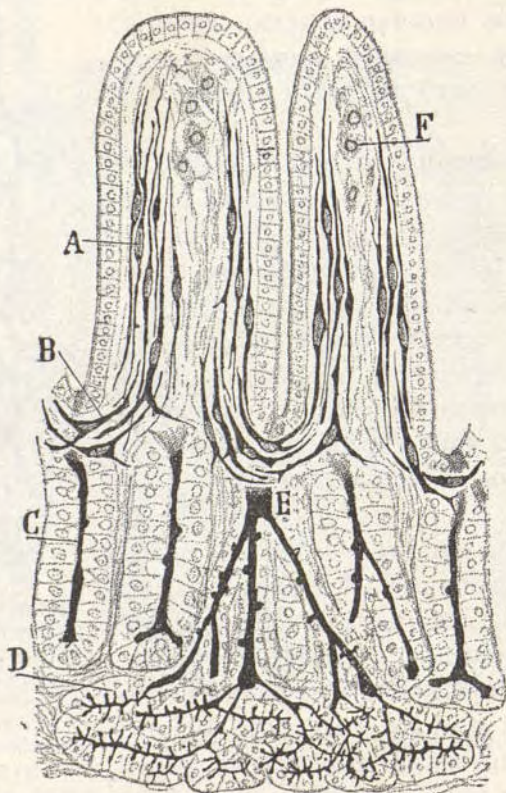


Fig. 455. — Corte de las vellosidades y glándulas del intest. no del conejo de Indias de pocos días. A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta; C, interior de una glándula de Lieberkühn; D, acini terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

te la parte más inmediata a la glándula de dicho tejido conectivo, que se presenta aquí más condensado y fino.

Las glándulas del estómago en las proximidades del cardias y del piloso están revestidas por una sola clase de células, las

principales, faltando las sobrepuestas. En el duodeno, conservando el tipo único celular, se ramifican y atraviesan la muscular mucosa, invadiendo la submucosa, donde constituyen las glándulas de Brunner (fig. 455, D).

GLÁNDULAS DE LIEBERKÜHN. — Tienen mucho parecido con las pépsicas, de las que discrepan principalmente por carecer de células *delomorfas* o sobrepuestas. Los fondos de saco que construyen son más cortos, y las células que las limitan aparecen más claras y alargadas. Muchas de ellas sufren la degeneración mucosa, colorándose la parte transformada del protoplasma en violeta intenso por la hematoxilina.

En la porción más honda de las glándulas se hallan, según Paneth y Nicolás, unas células especiales, llamadas *granulosas* porque contienen ciertas esferas colorables por la hematoxilina y fuchina ácida. Para Nicolás, estos granitos, que constarían de una porción semilunar safranófila y otra safranófoba, serían expulsados durante el período de actividad de las glándulas.

En las células epiteliales de estas glándulas, así como en las tubulosas del recto, hállanse muchas mitosis. Bizzozero y Vassale piensan que semejante movimiento regenerativo obedece a la necesidad de compensar las descamaciones celulares producidas continuamente en la embocadura glandular; las células nuevas irían corriéndose hacia arriba para cubrir el hueco resultante. En fin, las células de las glándulas de Lieberkühn poseen un aparato de Golgi bien modelado.

GLÁNDULAS SUDORÍPARAS. — Las *sudoríparas* y sus análogas las *ceruminosas*, y las de *Moll* de los párpados, son tubulosas, alargadísimas, y por uno de sus extremos se apelotonan

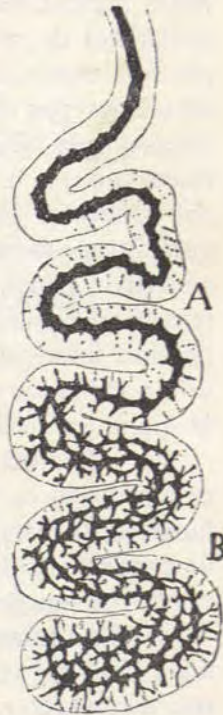


Fig. 456. Esquema del conducto secretor de una glándula de la piel de las plantas del gato de ocho días. Método doble al cromato de plata. A, porción superior del glomérulo; B, porción inferior con las redes intersticiales.

en ovillo o glomérulo. En cada una de ellas hay que considerar la porción secretora o glomérulo y la excretora. La primera, más ancha, está construída por una capa de células cúbicas, una membrana anhista o basal y un estrato incompleto de fibras musculares lisas, longitudinales, que presentan la particularidad de alojarse entre la capa basal y el epitelio. La porción excretora comienza ya en el mismo glomérulo, y se caracteriza por ofrecer dos o tres capas de células epiteliales claras y aplastadas, por carecer de fibras lisas y por la tenue chapa con que la hilera epitelial más concéntrica limita la luz del conducto. En cuanto el conducto excretor abandona la porción apelotonada, atraviesa casi rectilíneamente el tejido conectivo, penetra en el dermis, tomando dirección espiral, y remata en la parte más alta de una cresta epidérmica. En la porción intraepidérmica, las células epiteliales del conducto sufren los mismos cambios que los corpúsculos de la capa de Malpigio, es decir, que se transforman en *eleidina* y *keratina*.

En el hombre, el conducto central de las sudoríparas parece único; mas en algunos animales, la porción secretora o profunda de la glándula aloja, además de la luz central, una red de conductos colocados entre las células epiteliales y comunicantes con aquélla (fig. 456).

d) Glándulas tubulosas compuestas. — RIÑÓN. — Muestra, a la simple vista, la sección de esta glándula dos substancias: una *medular*, pálida y como fibrosa, dispuesta en conos de base periférica y de vértice interno, asomando en los cálices del riñón, bajo la forma de papila (*pirámides* de Malpigio); y otra *cortical*, rojiza y granujienta, que, a más de circuir a la anterior, se prolonga entre los conos o pirámides, alcanzando hasta la pelvis renal (*columnas* de Bertini). En la porción medular se distinguen dos zonas concéntricas, interior y exterior (figura 457), que se corresponden aproximadamente con las mitades correspondientes y en la exterior dos fajas, de las cuales la más superficial (exterior) es más estrecha y más clara.

Tanto la trama cortical como la medular constan de tubos, pero el aspecto y dirección de éstos varía para cada una de ellas: en la medular son rectos y paralelos, convergiendo en la papi-

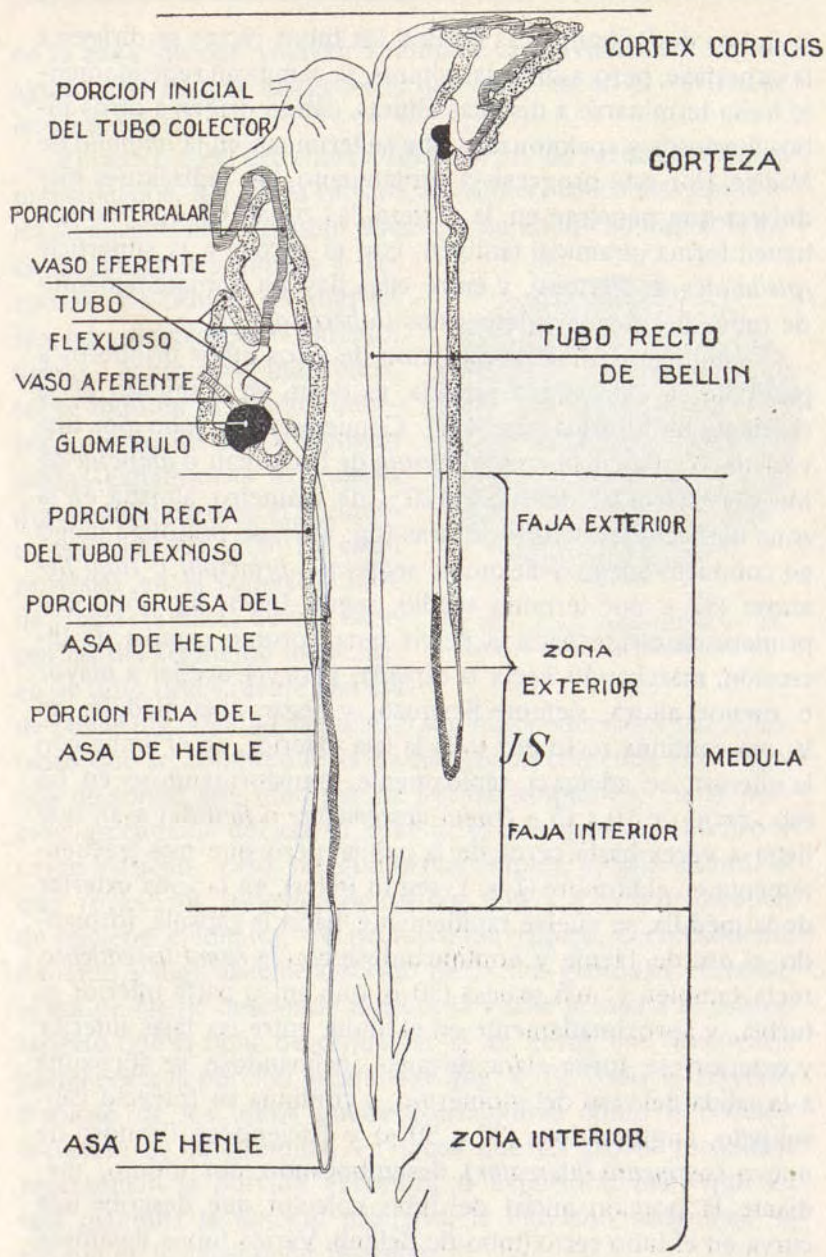


Fig. 457. — Esquema de la marcha y aspecto del tubo urínifero desde el glómérulo hasta la pelvis, según Peter.

la (tubos de Bellini); en la cortical los tubos rectos se dirigen a la superficie, pero a distintas alturas, se ramifican repetidamente hasta terminarse a distintas alturas, dando origen a otros tubos flexuosos y apelonados que se terminan en la *ampolla* de Müller. Por este progresivo agotamiento, las radiaciones medulares que penetran en la corteza, las zonas en que existen tienen forma piramidal también, con el vértice a la superficie (*pirámides* de Ferrein), y entre ellas hay un enmarañamiento de tubos flexuosos y glomérulos (*laberinto*).

Examinemos ahora la dirección de estos tubos uriníferos a partir de su extremidad cerrada, es decir, en el sentido de la corriente de la orina (fig. 457). Comienza cada tubo por una vesícula o ensanchamiento (*cápsula* de Browman o *ampolla* de Müller) esferoidal, de 100 a 120 μ de diámetro, alojada en la zona cortical y a variables alturas (fig. 457); se prolonga luego en conducto ancho y flexuoso, *segmento principal* o *tubo flexuoso* (57 μ por término medio, según Peter; fig. 457), que primero se dirige hacia la pelvis renal, pronto cambia de dirección, marchando hacia la cápsula, para retroceder a mayor o menor altura, siempre flexuoso, y llegar a la médula, en la que continúa recto por toda la faja exterior, en el límite con la interior, se adelgaza rápidamente, transformándose en un tubo recto de 10 a 15 μ (*rama descendente* o *fina* del asa), que llega a veces hasta cerca de la papila, pero que más frecuentemente en el hombre (7×1 , según Peter), en la zona exterior de la médula, se vuelve rápidamente hacia la cápsula, formando el *asa* de Henle y continuándose con la *rama ascendente*, recta también y más gruesa (30 μ), que en su parte inferior es turbia, y aproximadamente en el límite entre las fajas interior y exterior, se torna clara; después, inclinándose, se aproxima a la salida del vaso del glomérulo, y continúa su trayecto capsulípeto, englosándose (30 a 50 μ) y haciéndose flexuoso de nuevo (*segmento intercalar*), desembocando, por último, mediante la porción inicial del tubo colector que describe una curva en el tubo recto (tubo de Bellini). Varios tubos flexuosos se reúnen en un solo colector en ángulo casi recto; después atraviesa toda la zona exterior sin nuevas aportaciones, pero

en la zona interior vuelven a reunirse varios tubos en ángulo agudo para formar los gruesos que rematan en el vértice de las pirámides.

El carácter del epitelio es diferente en los varias segmentos mencionados. Así, en la cápsula de Müller, las células epiteliales se ensanchan y aplastan a manera de endotelio (fig. 460, *b*); en las porciones anchas y flexuosas, las células se engruesan, adquieren aspecto estriado, turbio, contornos indistintos, sobre todo en sus límites internos, donde se ven a menudo ciertas expansiones irregulares (figura 458); pero en el segmento principal (fig. 459, *B*) están provistas en la superficie libre de chapa de cilios, de que carecen las del segmento intercalar; en el tubo descendente del asa

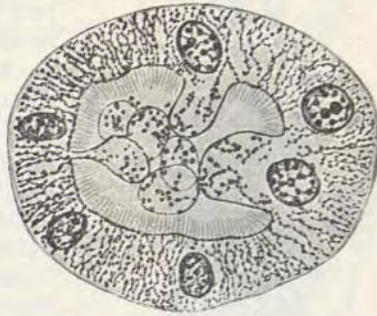


Fig. 458. — Corte transversal de un tubo flexuoso del conejo. (Según Retzius.)

de Henle (fig. 459, *A*), las células son más pequeñas y tan aplastadas que se comprende la equivocación cometida por algunos de tomar este tubo por un capilar sanguíneo; en la porción ascendente del asa, el epitelio es más grueso, obscuro y como estriado, pero de contornos limpios; y, por último, el que reviste los tubos de Bellini (fig. 459, *C*), es transparente, de núcleos evidentes, de protoplasma cúbico, correctamente limitado y algo saliente del lado de la luz glandular. Cuando el asa de Henle desciende mucho, la vuelta presenta el mismo aspecto que la rama descendente; si es corta, con frecuencia pertenece a la porción ascendente (fig. 457). Todo el trayecto flexuoso de los tubos puede considerarse como la porción secretora de la glándula; en tanto que las partes rectilíneas representan la porción excretora o expulsora, bien que en esta glándula la función principal, la filtración sanguínea se efectúa en la cápsula de Bowman.

El epitelio de los tubos flexuosos posee caracteres especiales, acerca de que conviene añadir algo. Según mostramos en la figura 458, el proto-

plasma es francamente fibrilar, componiéndose de bastoncitos (*mitom* de Flemming), sembrados de microsomas (Retzius, 1913). Hacia la superficie

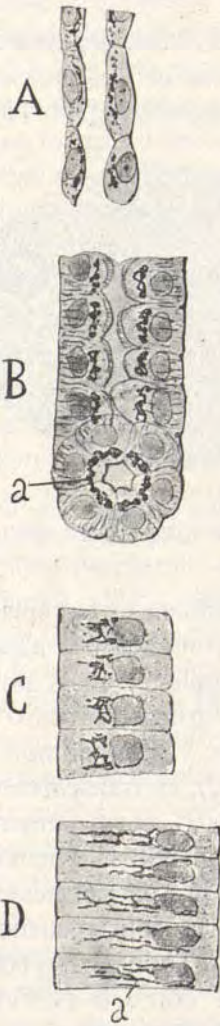


Fig. 459. — Variedades epiteliales de los tubos uriníferos; A, epitelio de los conductos de Henle; B, epitelio de los tubos flexuosos; C, epitelio de los tubos de Bellini; D, epitelio de los gruesos tubos excretorios; a, aparato de Golgi (conejo de pocos días).

libre aparece un sistema de pestañas (*epílllo* de Heidenhain) en continuación con los filamentos del protoplasma. Durante el estado de reposo, este cepillo cortical se regenera; pero cuando la turgescencia celular llega al máximo, la corteza estriada desaparece y prodúcense unos mamelones hialinos, surcados de tal cual filamento protoplásmico disociado, que rellenan la cavidad del conducto (fig. 458). La ruptura de los pedículos de los mamelones provoca la formación de ciertas gotas semisólidas, hialinas, que progresivamente se disuelven en el líquido urinario. La figura 458, tomada de Retzius, da idea de esta curiosa fase secretoria de los corpúsculos en cuestión. Nuestras investigaciones prueban, además, según aparece en la figura 459, B, que en la fase de reposo los elementos de los tubos flexuosos contienen un diminuto aparato de Golgi. Repárese también que el aparato de Golgi se desarrolla y alarga tanto más cuanto más nos acercamos a los tubos gruesos excretorios. Granuloso y rudimentario en los tubos de Henle (A), forma en los contorneados un grupo de asas anastomóticas, y, en fin, en los rectos se modela en red de trabéculas preferentemente longitudinales (D).

Cualquiera que sea el papel desempeñado por las diversas clases de células epiteliales mencionadas, es indudable que no se destruyen durante su actividad funcional, como lo prueba la ausencia de carioquinesis y la de formas degenerativas.

Los vasos renales son abundantísimos. Las arterias provienen de la renal, se reparten en la substancia medular, llevando una dirección diver-

gente, y en los límites de esta zona con la cortical constituyen anastomosándose por inoculación, unas arcadas, de cuya convexidad parten ramitas divergentes, que marchan hacia la cápsula arterias interlobulares por el eje de los espacios interlobulares (laberinto), dando numerosas ramas destinadas a los glomérulos de Malpigio. El *glomérulo* es un pelotón vascular, de forma esférica, situado dentro de la cápsula de Müller, de la cual ocupa la mayor parte (fig. 460, *c*). Los capilares que lo constituyen son flexuosos y tan apretados que es difícil distinguir sus contornos, aun en las preparaciones inyectadas. Comunica el glomérulo por un ramo grueso (*vaso aferente*) con las arterias, y por otro más delgado (*vaso eferente*) con la red capilar intersticial, es decir, con la que rodea los tubos renales y tiene a su cargo la nutrición del parénquima (*e*). A veces, el tubo eferente resulta más recio que los capilares intersticiales, lo que ha servido para que ciertos autores le hayan comparado con una pequeña vena porta (*vena porta renal*), puesto que representa un tallo situado entre capilares-raíces (los del glomérulo) y capilares-ramas (los de la red nutritiva intersticial). Esta apreciación es exagerada, pues el calibre del vaso eferente es igual al de dichos capilares, o discrepa poquísimos. En cuanto al endotelio de la cápsula de Müller, no es atravesado por los vasitos aferente y eferente, sino que los acompaña, saltando de la pared (*hoja parietal*) a la superficie del glomérulo (*hoja visceral*; fig. 460, *b, c*).

Las venas recogen la sangre de la red capilar intersticial por las venas interlobulares que van a parar a las venas arqueadas.

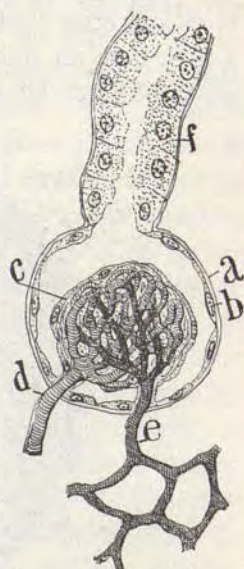


Fig. 460. — Cápsula de Müller y glomérulo de Malpigio; *a*, membrana glandular; *b*, endotelio que la reviste interiormente; *c*, endotelio que rodea el glomérulo; *d*, arteria aferente; *e*, vasito eferente; *f*, epitelio turbio del tubo flexuoso.

e) **Glándulas reticuladas.** — HÍGADO. — Esta glándula resulta de la agregación de infinidad de lobulillos esferoidales alargados, que parecen pender de las ramificaciones de las venas suprahepáticas.

Cuando se practica un corte tangencial del hígado, los lobulillos aparecen como campos redondeados o ligeramente poligonales, de un milímetro poco más o menos de diámetro, y separados por tabiques conectivos, por donde caminan los

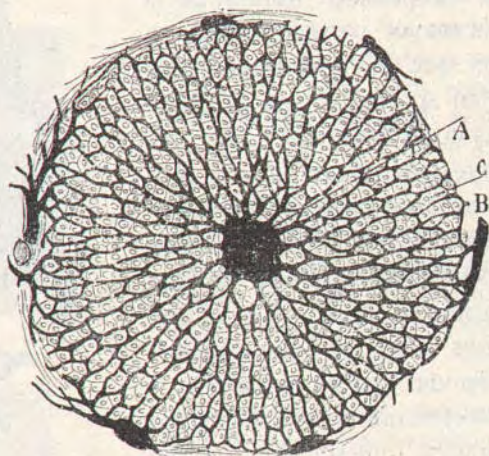


Fig. 461. — Corte de un lobulillo hepático del conejo. Inyección de la vena porta con carmin. A, vena central; C, islotes celulares; B, venas pericelulares procedentes de la porta.

gruesos vasos. Si el corte es axial o paralelo a la dirección de las venas suprahepáticas, los campos lobulares se presentan alargados y de una dimensión mayor (de 1,5 a 2 mm).

Examinado, a buenos aumentos, un corte tangencial de un hígado previamente inyectado, se advierte que la trama vascular entra muy principalmente en su formación. En el centro del lobulillo se ve una rama de las venas suprahepáticas cortada de través (fig. 461, A), de la cual irradia una red tupida, que remata periféricamente en las ramificaciones gruesas (*venas interlobulares*) de la vena porta.

Las mallas de esta redecilla capilar están ocupadas por unos

islotes más o menos alargados o divergentes, de células poliédricas, que representan el epitelio de la glándula hepática (figura 461, C). El tamaño de tales corpúsculos oscila entre 14 y 30 μ ; su forma es poliédrica, pero sin diámetro predominante; sus facetas son planas, excepto las que tocan a los capilares, que son cóncavas, para moldearse al contorno de ellos. El protoplasma es turbio, granuloso a flojos aumentos, pero limpiamente reticulado con fuertes objetivos; contiene en sus mallas glucógeno y, frecuentemente, gránulos de grasa y partículas de una materia colorante amarillenta. Negri ha visto en la rana un legítimo aparato de Golgi. En los mamíferos existe también, pero es difícilísimo de teñir. Alguna vez, empero, lo hemos sorprendido nosotros bajo la forma de cordones y granos pálidos, situados entre el núcleo y la superficie libre (lado del canalículo biliar. Las mitocondrias señaladas por varios autores han sido bien coloreadas por Tello (método de Achúcarro). El núcleo se distingue claramente, yaciendo de ordinario en posición excéntrica; a veces es doble, pero jamás se le halla en vías de carioquinesis. La cubierta celular es difícil de discernir, merced a su delicadeza, por lo que ha sido negada por algunos.

La cavidad glandular de los lobulillos hepáticos se diferencia mucho de la ofrecida por vísceras análogas. En vez de estar representada por conductos gruesos revestidos por varias células completas, lo está por tubitos tan finos que apenas pasan de dos o dos y media μ de espesor; de donde se infiere que sólo una parte muy estrecha de las superficies celulares contribuye a limitar la cavidad glandular. Esta cavidad es tubulosa, finísima, difícil de poner en evidencia en los cortes de hígado inyectado; pero fácilmente demostrable por el método de Golgi (Bohm, Cajal, Retzius, Oppel). Semejantes tubitos, llamados *capilares biliares*, constituyen una red continua de mallas poligonales, extendida desde los gruesos conductos biliares que rodean el lobulillo (fig. 462, d) hasta el contorno mismo de la vena central de éste. En cada malla de esta red se aloja una célula hepática, y los capilares o trabéculas biliares se disponen de tal modo que entre ellos y los capilares sanguíneos media siempre el espesor de un elemento glandular (fig. 464, b).

Algunos conductitos biliares acaban libremente entre las facetas de dos corpúsculos vecinos; este modo de terminar es sobre todo aparente en el centro del lobulillo, es decir, en torno del ramo de la vena suprahepática (fig. 462, *c*). Ciertos autores (Pfeiffer, Kupffer y recientemente Opperl) añaden to-

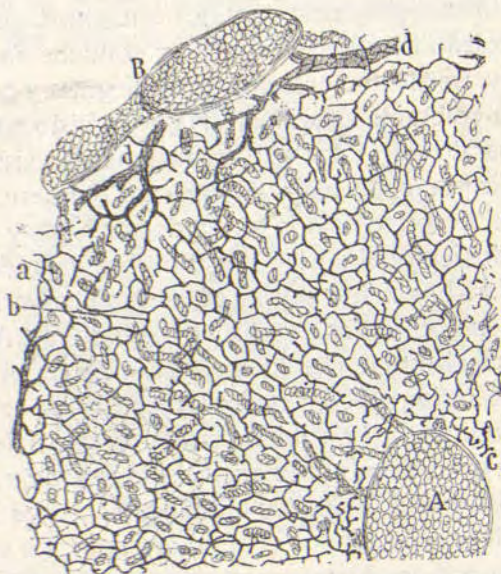


Fig. 462.— Un cuarto de lobulillo hepático cortado de través y cuyos capilares biliares se han impregnado con cromato de plata; A, vena central del lobulillo; B, rama porta perilobular; a, capilares sanguíneos; b, red de capilares biliares; c, fondos de saco biliares rodeando la rama suprahepática; d, conductos biliares gruesos o perilobulares.

davía la existencia de unos divertículos esféricos, yacentes en pleno protoplasma de las células glandulares, y unidos por finos pedículos a los conductos de la red terminal (fig. 464, *c*).

Entre los islotes celulares y los capilares sanguíneos se hallan unas fibras finas, al parecer de naturaleza conectiva. Estas fibrillas, que ya habían sido vistas con el método del cloruro de oro por Rohte y Miura, han sido impregnadas por Opperl, valiéndose de un procedimiento especial, variante del método de Golgi, y por Mall, que los colorea con la fuchina ácida.

Oppel las distingue en gruesas o radiadas, que divergen desde la vena central, pasando por entre los islotes celulares, y finas o reticuladas, que rodean vasos y espacios linfáticos perivasculariales. También Achúcarro las ha impregnado con su método del tanino y plata amoniacal. En la figura 463 damos idea de

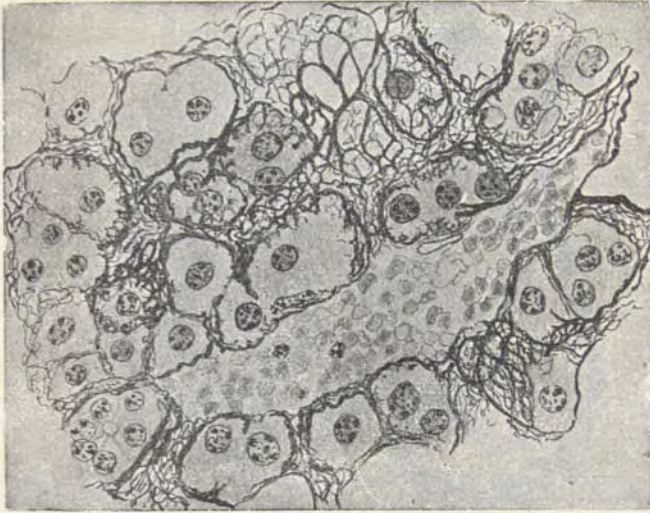


Fig. 463. — Trozo de un lobulillo hepático del hombre. Nótese entre las células glandulares y en torno de vasos una urdimbre de fibras finas anastomosadas. (Dibujo y preparación de Achúcarro. Proceder al tanino y plata amoniacal.)

la malla que rodea cada grupo de corpúsculos hepáticos. Las células de Ehrlich son raras en los lobulillos hepáticos. Como C. Calleja ha demostrado, tales corpúsculos sólo acostumbran a residir en la periferia de aquéllos, no lejos de las venas voluminosas.

En la pared de los capilares se encuentran de trecho en trecho unas células estrelladas (células de Kupffer), a veces provistas de dos núcleos y que, como otras pertenecientes al sistema retículo-endotelial en varios órganos, tienen la facultad de englobar y almacenar restos de hematíes, grasa y otras

substancias circulantes por la sangre, como materias colorantes granulosas (carmin, *trypanblau*).

TESTÍCULO. — Consta esta glándula de dos partes: la *armadura fibrosa* y los *tubos seminíferos*.

La armadura fibrosa está representada por una cápsula (membrana *albugínea*) espesa, blanca y brillante, que envuelve



Fig. 464. — Detalles de los islotes hepáticos y capilares biliares. Coloración con el cromato de plata y subsiguientemente con la hematoxilina; *a*, capilares sanguíneos; *b*, capilares biliares; *c*, vacuolas de secreción; *d*, células hepáticas.

la glándula, espesándose al nivel del borde superior de ésta, donde ofrece un engrosamiento de sección triangular (*cuero de Higmoro*), atravesado por los conductos excretores en red (*rete testis*). De la cara profunda de tal espesamiento parten tabiques conectivos, divergentes, insertos en la superficie interna de la cápsula, que dividen al parénquima en compartimientos alargados o lobulillos seminíferos. A más de tales tabiques, hay en cada lobulillo, separando los conductos seminíferos, un tejido conjuntivo flojo, rico en lagunas plasmáticas y en vasos, y notable por la abundancia de células conectivas. Estas células (*células intersticiales* del testículo) son más gruesas que las conjuntivas comunes; ofrecen forma poliédrica y forman, a menudo, acúmulos o cordones en torno de los

vasos, como las células llamadas del *plasma*. En su protoplasma se advierten comúnmente gránulos grasientos y esferulas de una materia colorante morena. La significación de estas células es muy enigmática. Nussbaum les niega carácter conectivo, identificándolas con aquellos elementos germinales

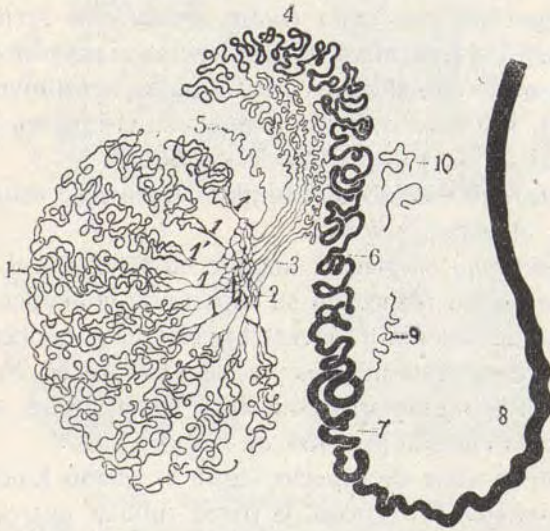


Fig. 464 bis. — Esquema del curso de los tubos del testículo y epidídimo. (Tomado de Szymonowicz). 1, tubos contorneados, distribuidos en lóbulos; 1' tubos rectos; 2, Rete testis; 3, conductos eferentes; 4 y 6, conductos del epidídimo; 5 y 9, conductos aberrantes; 7 y 8, conducto deferente; 10, paradídimo.

del cuerpo de Wolff, de donde se origina el epitelio del testículo y del ovario; para Regaud serían leucocitos modificados. Lenhossék, que las ha estudiado recientemente, señala en ellas, como Reinke, la presencia de inclusiones cristalinas y la de verdaderos centrosomas. La circunstancia de abundar notablemente dichos elementos cerca de los *tubuli*, inclinan a Lenhossék a estimarlos como células destinadas a llevar productos alimenticios al epitelio activo de los tubos seminíferos; después se las consideró como las representantes de una glándula vascular sanguínea, y recientemente se vuelve a pensar en su papel meramente nutritivo.

Los *tubos seminíferos* (fig. 464 bis, 1) son larguísimos, gruesos (de 100 a 180 μ de diámetro), flexuosos y flojamente adheridos entre sí. No son independientes por sus extremos, sino que forman redes de mallas larguísimas y complicadas, cuyo apelonamiento constituye el lobulillo seminífero. Cerca del vértice del lobulillo, los tubos adquieren dirección rectilínea y convergen en uno solo (*tubos seminíferos rectos*; figura 464 bis, 1') el cual, anastomosándose en el espesor del cuerpo de Higmoro con el de los otros lóbulos, constituye una red (*rete testis*; fig. 464 bis, 2), de la que a su vez parten los lóbulos que entran en la formación del *epidídimo*.

La textura de los tubos seminíferos tiene que estudiar una *cubierta* y el *epitelio seminal*.

La *membrana* es gruesa, tingible en rojo por el carmín y estriada según su plano. En su espesor se contienen núcleos aplastados, de sección transversal fusiforme y concéntricos al tubo. La presencia de núcleos y estriaciones revela en la pared la existencia de membranas conectivas superpuestas, separadas por una capa epitelial (fig. 465, a).

El *epitelio* varía de aspecto según el estado funcional del tubo seminífero. En reposo, la pared tubular aparece revestida de tres o cuatro capas de células poliédricas, apretadas, sin diferenciación bien apreciable, ni existencia de fases carioquinéticas; pero en estado de actividad, el epitelio ofrece numerosas variantes de disposición que corresponden a etapas distintas de la espermatogénesis.

La disposición estructural más común es la representada por el dibujo (fig. 465, D). En el interior del tubo seminífero yacen dos especies celulares: los *elementos alargados* y los *poliédricos*.

Los *elementos alargados* (fig. 465, B, b), llamados *espermatoblastos* (Ebner), *células de sostén* (Müller), *células ramificadas* (Sertoli), *células de pie* (Benda), etc., son de forma cónica y convergentes a la luz del conducto; su base se aplica a la pared del tubo seminífero y contiene un núcleo de sección triangular, pobre en gránulos cromáticos, y su extremidad central, más o menos ramificada, continúa con un racimo de

zoospermos en distintas fases evolutivas. Las cabezas de éstos aparecen como adheridas al protoplasma de la célula alargada y presentan el aspecto de núcleos homogéneos, prolongados en forma de hierro de banderilla (rata; fig. 465, *D*).

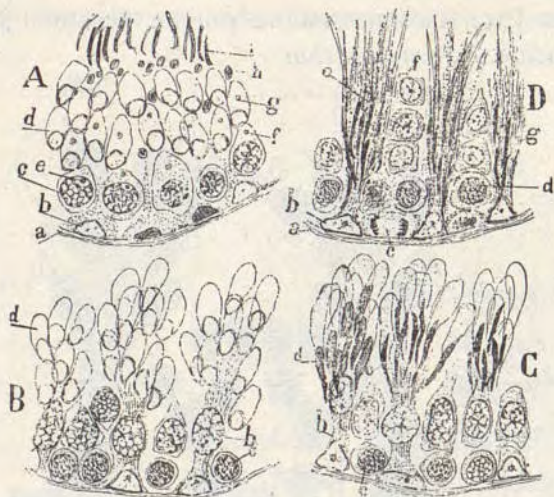


Fig. 465. — Espermatoxénesis de la rata blanca.

- A) Fase en la cual se diferencian las espermatidas; *d*, *b*, células de sostén todavía poco aparentes; *c*, células germinales.
- B) Fase en que las células de sostén han entrado ya en copulación con las espermatidas; *d*, espermatidas; *b*, células de pie o sostén.
- C) Fase en la cual las espermatidas se convierten en zoospermos; *d*, zoospermo embrionario; *b*, célula de sostén.
- D) La fase anterior, pero todavía más adelantada; *e*, cabeza de un zoospermo; *g*, células de sostén con un racimo de espermatozoos.

Los elementos *poliédricos*, llamados células *redondas* por Merkel, *movibles* por Sertoli, etc., son corpúsculos pequeños, casi libres, que se disponen en varias hileras en los intervalos de las células alargadas o de sostén. Estas células representan la estirpe de los zoospermos (figuras 465, *d*, y 466, *B*).

Evolución del espermatozoide. — Estudiada en un gran número de vertebrados e invertebrados, constituye un proceso complicadísimo, que varía algo en cada especie y que ofrece

todavía no pocos puntos oscuros y controvertidos. En la descripción siguiente nosotros expondremos las líneas generales de la espermatogénesis de los mamíferos, según resulta de los trabajos de Benda, Boberi, V. Beneden y principalmente de Meves, que ha consagrado a este tema numerosos y penetrantes análisis. Pasa la célula seminal por los períodos *germinal*, de *crecimiento* y de *maturación*.

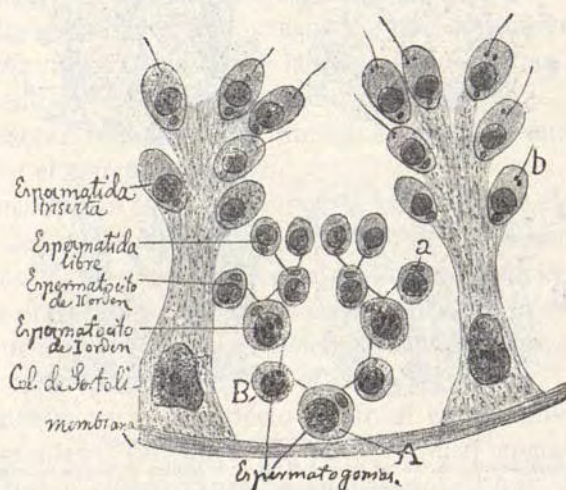


Fig. 466. — Esquema en que se muestra el árbol genealógico de los zoospermos. Las células grandes son los corpúsculos de Sertoli; A, espermatogonia madre; B, espermatogonias hijas; a, idiozoma; b, flagelo de la espermátida.

1. *Período germinal*. — Comprende diversas generaciones celulares, las cuales desembocan en la diferenciación de la *espermatogonia*. La *célula germinal* primitiva, yacente por debajo de la pared del tubo seminífero, prolifera (fig. 465, C), y el resultado de esta proliferación es la formación de las *espermatogonias*, células que se dividen sucesivamente para engendrar, por vía de mitosis, *espermatogonias hijas* (fig. 466, A).

Caracterízase la *espermatogonia* de la primera generación por su gran talla (20 a 22 μ), forma esferoidal o poliédrica, residiendo junto a la pared del tubo seminífero, y ofrecer en su

protoplasma cierta vesícula especial, el *idiozoma*, dentro del cual se contienen los centriolos (fig. 466, A). La descendencia de la primera espermatogonia es algo variable; algunas de estas células hijas son espesas, poseen protoplasma reticulado y núcleo voluminoso, en cuyo interior se aloja un núcleo bien aparente y cromatina reducida a finos gránulos (*espermatogo-*

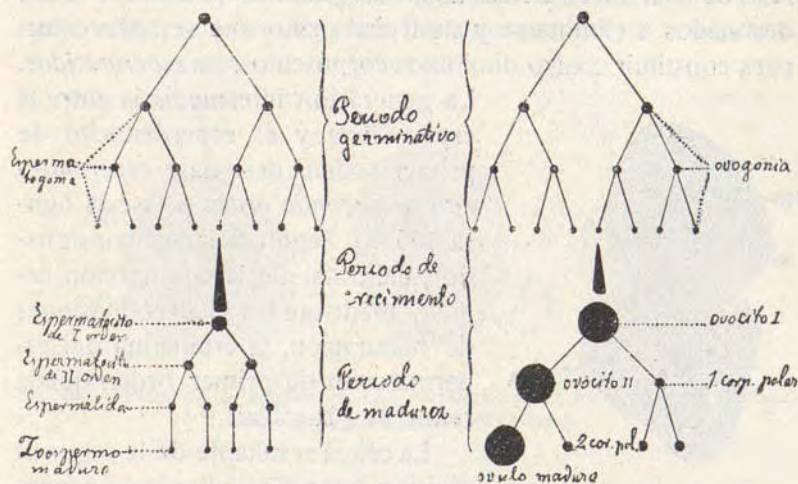


Fig. 467. - Esquema de Boberí, que presenta, en orden cronológico y paralelamente, la genealogía del zoospermo y del óvulo. La figura de la izquierda muestra las divisiones de la célula sexual masculina, y la de la derecha las de la célula femenina.

nias polvorientas de Regaud, fig. 466); otras espermatogonias son pequeñas (12μ), muestran núcleo diminuto, sin nucleolo y provisto de grumos cromáticos gruesos y anastomosados (*espermatogonias de núcleo costroso* de Regaud, fig. 466, B).

2. *Período de crecimiento.* — La espermatogonia pequeña de la última generación crece progresivamente hasta alcanzar 20 a 24 μ . Empujada por las espermatogonias más jóvenes, ocupa en el tubo seminífero posición de cada vez más central, y se dispone en una o dos hileras concéntricas. Su protoplasma exhibe un *idiozoma* voluminoso con dos centrosomas; su núcleo, abultado, contiene armazón cromático robusto. Ahora bien, estas células de gran talla, resultantes del crecimiento de

las últimas espermatogonias, designanse *espermatoцитos de primer orden* (véanse las figuras 466 y 467).

3. *Fase de maduración.* — Así se designa el período durante el cual el *espermatoцитo de primer orden*, dos veces dividido, genera cuatro células de pequeña dimensión, las cuales son homólogas de los *cuerpos polares* del ovocito embrionario en fase de maduración. Mas aquí los glóbulos polares no están destinados a eliminarse y destruirse, sino que se aprovechan para constituir cuatro diminutos corpúsculos: las *espermatidas*.

La generación intermedia entre la espermatida y el espermatoцитo de primer orden, designase *espermatoцитo de segundo orden* (véase la figura 466, a). Según dejamos consignado ya al tratar de la conjugación celular, mediante las citadas divisiones de maduración, la cromatina del espermatoцитo de primer orden queda reducida a la mitad.

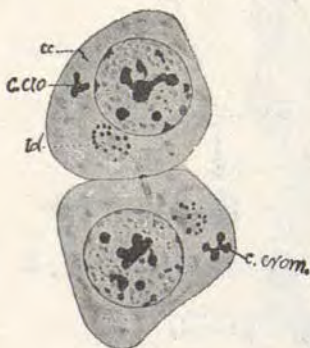


Fig. 468. — Dos espermatidas de cobaya, según Meves; *cc*, centrosomas; *id*, idiozoma; *c.crom.*, cuerpo cromatoide.

La célula resultante de la segunda división toma el nombre de *espermatida*. Caracterízase por su pequeña talla, forma ovoidea, núcleo más o menos excéntrico y, sobre todo, por

poseer, además del núcleo, dos órganos intraprotoplásmicos: el *idiozoma*, compuesto de una vesícula y de granos cromáticos (fig. 468, *id*), y dos *centrosomas*, que aparecen ahora libres en una región especial del cuerpo celular (fig. 468, *cc*). Las espermatidas más jóvenes yacen flotantes en dos o más hileras concéntricas entre las células de pie o de Sertoli; pero las más adelantadas dirígense hacia estos últimos elementos, como atraídos por impulsos quimiotácticos, y se insertan en las expansiones protoplásmicas de aquéllas (figuras 466, *b*, y 65, *d*), donde se convertirán en zoospermos. Contemporáneamente, el cuerpo de la espermatida afecta forma ovoidea, que se alarga progresivamente por estiramiento del protoplasma acumulado en un solo polo. Nótese, según aparece en la figura 466, *b*, que

el núcleo y el *idiozoma* están vueltos hacia la célula de Sertoli o de pie, mientras que los centrosomas, escapados ahora del interior del idiozoma, trasladándose al cabo central del protoplasma. En fin, hagamos notar que la espermatida no sufre ninguna división, convirtiéndose por sucesivas diferenciaciones en zoospermo adulto.

4. *Período de metamorfosis.* — Las transformaciones experimentadas por la *espermátida* hasta convertirse en *zoospermo*

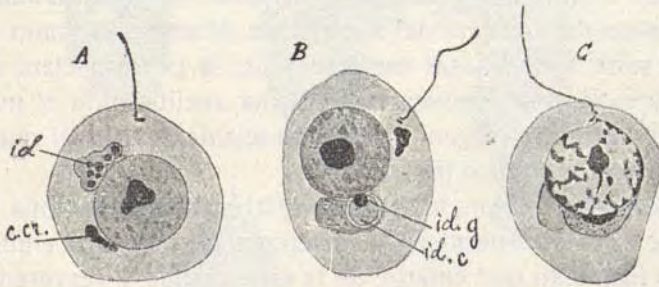


Fig. 469. — Fases de la espermatida para transformarse en zoospermo; *id*, idiozoma; *c.cr*, cuerpo cromatoide. (Según Meves.)

adulto son notablemente intrincadas. A pesar de los estudios penetrantes y porfiados de estos últimos años, este proceso encierra todavía incógnitas no despejadas.

He aquí, de todos modos, la marcha del proceso en un mamífero (cobaya), en donde Meves ha efectuado sistemáticas y bien conducidas observaciones.

Comencemos primeramente por mostrar la estructura de la espermatida. Según aparece en la figura 469, la espermatida del cobaya posee: dos centriolos situados por debajo de la membrana y que emigran del *idiozoma*; el *idiozoma* (*núcleo accesorio*, *archoplasma*, *esfera atractiva*, etc.), vesícula llena de granulaciones oscuras; el *cuerpo cromatoideo*, substancia intensamente coloreable por la hematoxilina y dispuesta en grumos dentellados (fig. 469, *c.cr.*). Hay motivos para sospechar que este cuerpo no es otra cosa que el aparato de Golgi insuficientemente teñido. Duesberg (1912), empero, con ocasión de sus

críticas contra Perroncito, identifica la red de Golgi con el *idiozoma*.

Primer período. — El idiozoma se transforma rápidamente, produciendo estos tres órganos: cierta masa granulosa exterior dispuesta en forma de gorro irregular (fig. 469, *B*); una esfera clara interior, pálidamente coloreable, y un grumo o grano obscuro situado por dentro de esta esfera y sucesivamente ajustado al núcleo (*id.g.*). Este grano obscuro dilátase luego, contorneando el núcleo y generando más tarde el *botón terminal* o *acrosoma* de la cabeza del zoospermo. Mientras el grano obscuro sufre tan curiosas metamorfosis, la porción clara de la esfera extiéndese también en semiluna, recubriendo el núcleo para constituir el órgano que más adelante tomará el nombre de *capuchón cefálico* (fig. 460, *C*).

Al mismo tiempo, la pareja de centrosomas evoluciona. Uno de los centriolos permanece en reposo, pero el otro emite un largo filamento que emerge de la espermatida y representa el esbozo de la cola zoospermica (fig. 469). Más adelante, ambos centrosomas emigran hacia el núcleo, junto al cual residirán durante el segundo y tercer período.

Segundo período. — El núcleo se dirige a un cabo de la espermatida, concentrándose el protoplasma en el polo opuesto, es decir, en el cabo portador del flagelo. Además, aquel grano obscuro, esbozo del acrosoma cefálico, crece notablemente, constituyendo casi todo el polo opuesto al protoplásmico y modelándose en forma de cono (fig. 470). En torno de la porción intraprotoplásmica del flagelo, y, por tanto, en derredor de los centrosomas, surgen después unos hilos finísimos, cruzados en ángulos variados que parecen insertarse en el núcleo. Tales hebras, progresivamente acortadas, aproxímanse entre sí, fúndense en una masa homogénea y dan origen a un forro o manguito transitorio que rodea el filamento intraprotoplásmico de la cola, y que se denominará estuche caudal (fig. 470, *fi*).

Curiosas evoluciones sufren también los centrosomas. El centriolo proximal se aplica íntimamente al núcleo, adquiriendo la forma de bastoncito; por su parte, el centriolo distal se

encorva en anzuelo y se divide en dos segmentos: uno de ellos se resolverá, andando el tiempo, en el *botón terminal* o gránulo

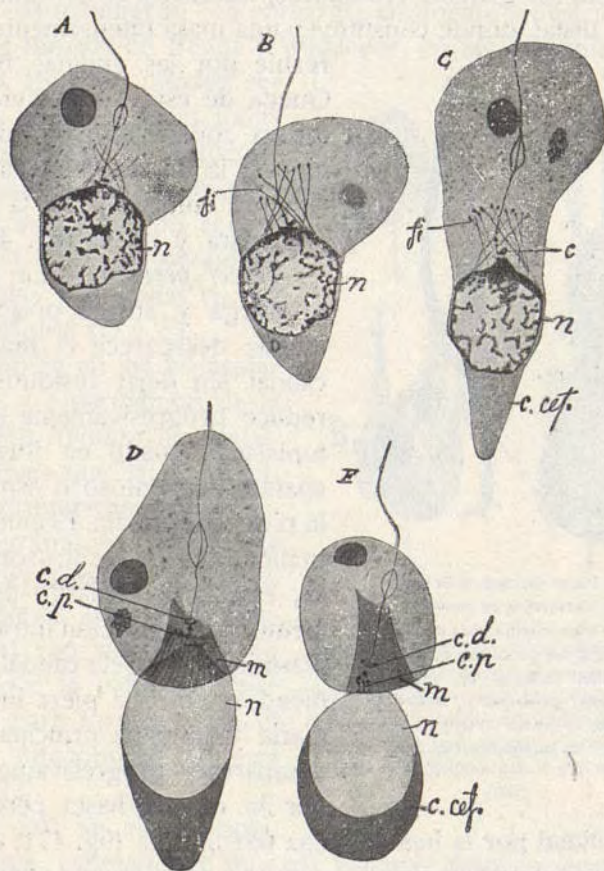


Fig. 470. — Fases de la metamorfosis de la espermatida en zoospermo; *c*, centrosoma; *n*, núcleo; *fi*, filamentos del manguito pericentrosomático; *m*, manguito ya formado; *c.d.*, centrosoma distal; *c.p.*, centrosoma proximal; *c.cet.* capuchón cefálico. (Según Meves.)

los yuxtannucleares del zoospermo adulto (fig. 471, *ce*), emitiendo ciertos filamentos que se pierden en la pieza intermedia; el otro segmento, situado en posición más distal, generará el *disco* o *anillo terminal* (fig. 471, *a*). El protoplasma se

alarga de cada vez más, concentrándose sobre un polo, y, en fin, el núcleo, futura cabeza del zoospermo, se modifica, fragmentando sus grumos cromáticos, los cuales se concentran en el polo distal, donde constituyen una masa intensamente coloreable por las anilinas básicas.

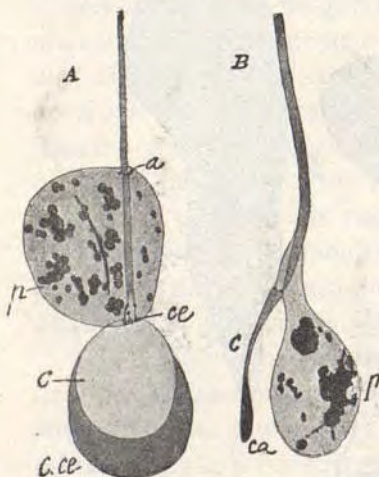


Fig. 471. — Fases últimas de la espermatida para convertirse en zoospermo; A, trozo de espermatida vista de frente; B, trozo visto de canto; a, anillo centrosomático terminal; ce, botones del centrosoma proximal; p, resto del protoplasma; c, cabeza o núcleo zoospermico; c.ce, capuchón cefálico.

Queda de esta guisa dividida la cabeza zoospermica en dos regiones: la *distal*, pequeña, fuertemente coloreable, y la *proximal*, clara y ancha (fig. 471, c).

Tercer periodo. — La cabeza se alarga y aplana progresivamente; desaparece el manguito caudal sin dejar residuos y se reduce progresivamente el protoplasma situado en torno del aparato filamentososo o espiral de la pieza intermedia. El anillo cromático, hijo del centrosoma distal, emigra a lo largo del filamento axial o porción intraprotoplásmica del flagelo caudal, deteniéndose entre la pieza intermedia y la pieza principal, para desaparecer progresivamente, o por lo menos hasta perder su

colorabilidad por la hematoxilina ferruginosa (fig. 471, a).

Durante esta fase producen dos órganos importantes: el *aparato espiral* y la *cola propiamente dicha*, y desaparece el *cuerpo protoplásmico*.

En torno de la pieza intermedia percíbese cierta substancia especial, dispuesta en forma de manguito, y colorable por la hematoxilina. Dentro de esta substancia destaca un hilo espiroideo de vueltas apretadas, que rodean la pieza intermedia, a cuyo contorno presta en el enfoque ecuatorial cierto aspecto granuloso característico (fig. 474, f. *espi.*).

Según dejamos apuntado más atrás, el filamento e

proviene, conforme descubrió Benda, de la concreción de las mitocondrias. Esta procedencia no ha sido bien observada en todos los mamíferos. Sin embargo, conforme muestra la figura 472, tomada de Benda y Waldeyer, en las espermátidas de ciertos animales pueden seguirse todas las fases intermedias entre las mitocondrias independientes diseminadas en el cuerpo celular (A y B) y las mitocondrias asociadas y fundidas en colonia espiral (D y E).

También en los espermátocitos y espermátidas de la *paludina vivipara* ha probado Meves que las mitocondrias, primeramente dispuestas en gránulos y anillos (fase de espermátocito), constituyen esferas (fase de espermátida), se condensan en torno de la pieza intermediaria para formar al fin el forro mitocondrial de ésta (fig. 122).

La cola se alarga notablemente, espesándose de cada vez más desde su punta hasta la pieza intermediaria. Distínguense en ella el forro y un eje sucesivamente adelgazado, que asoma en el vértice para constituir la *pieza terminal* (fig. 474, *p. term.*).

Finalmente, el protoplasma sobrante de la construcción del zoospermo se ladea y pedicula desprendiéndose después más o menos completamente. En el hombre, semejante masa residual desaparece por completo; pero en otros mamíferos, en el cobaya, por ejemplo, subsiste hasta la fase terminal del espermátocito (fig. 475, *pr.*), constituyendo pequeño acúmulo granuloso en torno de la pieza intermediaria. Asimismo son eli-

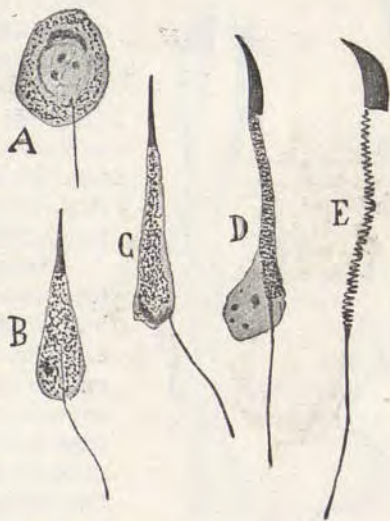


Fig. 472. — Evolución de las mitocondrias del ratón durante la transformación de una espermátida en zoospermo (según Benda y Waldeyer). Los gránulos mitocondriales, sueltos en A B y C, se disponen en series en D, y en la fase E se transforman en un filamento espiral.

minadas las partes no aprovechadas del idiozoma (Branca) y el cuerpo cromatoide especial y cubiertas caudales.



Fig. 473. — A, zoospermos humanos; a, cabeza vista de perfil; d, cabeza vista de frente; b, pieza intermedia; c, cola; C, zoospermo de *salamandra maculosa*; a, cabeza; b, cuerpo intermedio; c, cola; d, membrana espiral

Ondas espermatogénicas (v. Ebner). — En los tubos seminíferos del hombre, toro, cerdo, perro, se verifica algo irregularmente la espermatogénesis, encontrándose juntas diversas fases; pero en la rata, cavia, etc., se presenta con cierta regularidad, desarrollándose por hornadas desde el fondo o cabo de cada tubo hacia su boca, y según una línea esperoidea interrumpida. En un mismo tubo, pues, se hallarán en forma helicoidal todas las fases del proceso espermatogénico (Regaud).

Espermatogénesis en los invertebrados. — Reproduce en esencia el proceso de los vertebrados, dándose igualmente los fenómenos de evolución y maduración de los espermatozoides, así como su copulación con elementos nutritivos o de sostén. Sin embargo, en algunos animales (nematodos, anélidos, etc.), el corpúsculo de sostén es central, y constituye, en el eje del tubo seminífero, una larga masa protoplásmica (*raquis o citóforo*), en la cual se insertan los espermatozoides. En los moluscos y ciertos anélidos, los *citóforos* se muestran multinucleados. En los gasterópodos la célula de sostén yace periféricamente, insertándose en la membrana y asemejándose, por consiguiente, al corpúsculo de Sertoli de los vertebrados.

Zoospermo maduro. — Los *zoospermos* adultos son filamentos movibles, de 60 ó más μ de longitud, que se hallan abundantemente en el líquido que llena los tubos seminíferos, epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales (Unos 60.000 por milímetro cúbico de esperma, en el hombre). Constan de tres partes: *cabeza o núcleo*, *porción intermedia* y *cola*. La cabeza varía mucho de forma y tamaño en las diversas especies animales; en los *zoospermos* humanos es piriforme, algo aplastada, y parece compuesta de una materia cromática, ho-

mogénea, rodeada de una membrana. La cola es larguísima, y va disminuyendo de espesor hasta su punta, que es difícil de

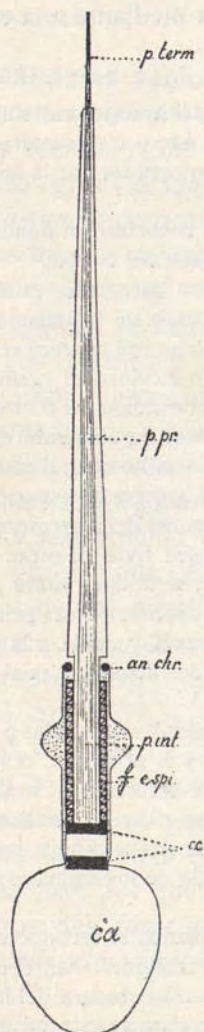


Fig. 474. — Esquema del zoospermo adulto de cobaya, según Meves; *ca*, cabeza; *cc*, centrosomas; *an. chr.*, anillo cromático; *f. esp.*, filamento espiral cortado de través; *p. int.*, pieza intermedia; *p. pr.*, pieza principal.

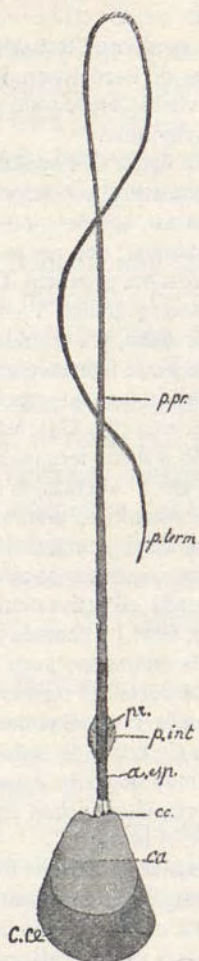


Fig. 475. — Zoospermo adulto del cobaya (Meves); *ca.*, cabeza; *c. ce.*, capuchón cefálico; *cc*, centrosomas; *a. esp.*, aparato espiral; *pr.*, protoplasma; *p. int.*, pieza intercalar; *p. pr.*, pieza principal; *p. term.*, pieza terminal.

discernir, a causa de su extrema delicadeza. La pieza o porción intermedia es el segmento grueso comprendido entre la cola y la cabeza; comienza junto a ésta por ligera estrangulación (cuello) y termina en su unión con la cola mediante una estría, no siempre bien perceptible.

Los modernos trabajos sobre la estructura del zoospermo, singularmente los de Bardeleben, Retzius y Meves, dan a éste una estructura complicada, visible sobre todo en las preparaciones coloreadas por la hematoxilina ferruginosa.

En la figura 474 mostramos el esquema bien conocido, en donde Meves resume sus observaciones sobre el espermatozoo del cobaya.

Repárese que detrás de la cabeza, en la región del cuello, existe una pieza aplastada, que no es otra cosa que el resultado de la metamorfosis del centrosoma proximal. En el hombre este centrosoma aparece resuelto en delicados gránulos. Viene después un segmento incoloro, el *cuello* propiamente dicho, y a seguida el bastón terminal, producción del centrosoma distal. La pieza intermediaria (fig. 474, *p. int.*), posee un filamento espiral, sumergido en una substancia especial, y un cordón axil o central continuado con la cola (fig. 474). Más allá del forro espiral aparece un espacio claro y el anillo o disco terminal, formado por la otra mitad del centrosoma distal (*ant. chr.*). Además, la excrecencia granulosa que rodea la pieza intermediaria constituye una reliquia protoplásmica y se designa *vaina protoplásmica*. En fin, en la cola hay que distinguir la porción o pieza principal, larguísimo segmento construido por el filamento axial y su eje, y la punta, representada exclusivamente por la extremidad del filamento axial (figura 475, *p. term.*) y llamada *pieza terminal*.

En la cabeza aparecen las dos zonas antes indicadas separadas por una línea transversal: el segmento anterior es pálido, y el posterior, donde se concentra la cromatina nuclear, es enérgicamente coloreable. En algunos animales el vértice de la cabeza exhibe el acrosoma o botón cefálico, corpúsculo muy pequeño y puntiagudo, y en torno de ella se dibuja una pálida cubierta, el *capuchón cefálico*, muy desarrollado en los animales y poco visible en el hombre.

En suma, casi todos los órganos de la espermátida se reconocen en el zoospermo, donde han sufrido importantes modificaciones. Así, el núcleo de aquélla conviértese en la cabeza de éste; la porción oscura del idiozoma forma el vértice cefálico o acrosoma; la parte clara de este mismo órgano se transforma en el capuchón cefálico; de ambos centrosomas el proximal produce el bastoncito yuxtannuclear, y el distal, el botón y anillo terminal; el protoplasma genera el filamento y la pieza intermediaria; en fin, los condriomitos del cuerpo celular se transforman en filamento espiral.

En los demás vertebrados la estructura de los zoospermos obedece al

mismo plan, aunque con variantes notables en las dimensiones relativas de cada parte. Así, en la salamandra (fig. 473, C), la cabeza es larguísima, homogénea y modelada en hierro de lanza; la cola es más prolongada aún, y en su torno se arrolla una membrana espiral, dotada de movimientos ondulatorios.

Glándulas vesiculares. — OVARIO. — Un corte de este órgano nos presenta dos zonas: una central, prolongada con el íleo y esencialmente formada por un estroma conectivo rico en vasos gruesos *substancia medular*, y otra periférica, llamada *substancia cortical*, donde se contienen las partes características de este parénquima, es decir, el *epitelio germinal* y las *vesículas de Graaf*.

El *epitelio germinal* forma una capa delgada, que reviste la superficie ovárica y se continúa con el endotelio peritoneal. Las células que constituyen dicha capa son cuboideas, de protoplasma turbio y núcleo relativamente voluminoso. De estos elementos derivan probablemente los óvulos, por lo cual se los designa *epitelio germinal*. La continuidad entre las vesículas de Graaf y este epitelio no aparece en los animales adultos; mas en la época embrionaria demuéstrase fácilmente, notándose que los óvulos constituyen cordones celulares englobados en el extremo ovárico, prolongado con el epitelio germinal, del que representan simples invaginaciones o repliegues (figura 476, b).

Las *vesículas de Graaf* hállanse abundantemente diseminadas en la capa cortical. Las más gruesas residen en las regiones hondas de este estrato, en tanto que las más jóvenes y rudimentarias habitan el plano superficial (fig. 478).

Las fases por que atraviesa el óvulo y vesícula de Graaf son las siguientes: *fases germinal, de multiplicación, de crecimiento o folículo primordial, de vesícula embrionaria, de vesícula adulta y de maduración*.

1.^a *Fase germinal*. — Son los óvulos de stirpe mesodérmica, procediendo de aquel epitelio del celoma que une durante la época embrionaria los cuerpos de Wolff. Este epitelio, situado en la superficie y por dentro de dichos cuerpos, prolifera activamente, se eleva en forma de protuberancia y, final-

mente, pediculándose y separándose progresivamente del cuerpo de Wolff, constituye el ovario. Al principio, este órgano consta de una trama de tejido conectivo embrionario, revestida exteriormente por el epitelio de la cavidad celómica, epitelio que toma el nombre de *germinal*, porque en él se hallan los gérmenes de los futuros *óvulos* y *células foliculares*.

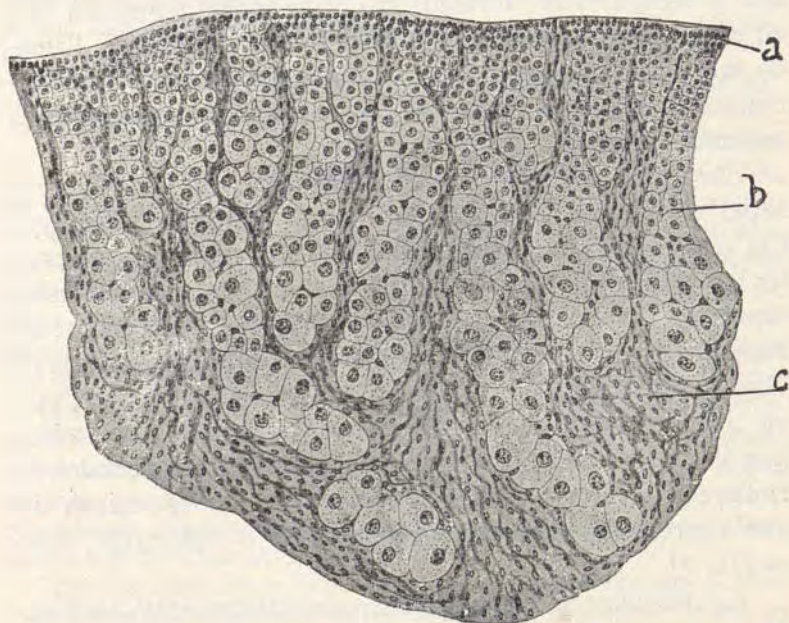


Fig. 476. — Corte del ovario de la gata de pocos días; a, epitelio germinal; b, cordones de Pflüger; c, tejido conectivo intersticial. (Según Prenant.)

En los últimos tiempos de la vida embrionaria, el epitelio germinal es asiento de activa multiplicación; la membrana constituida por tales elementos se repliega hacia el espesor del órgano y se producen largos cordones penetrantes en la trama conectiva, donde se ramifican y anastomosan complicadamente (fig. 476, b). La formación de estos cordones, que se llaman *cordones de Pflüger*, comienza en el embrión de dieciocho días

(conejo), cesando después del nacimiento. Algunos días después del nacimiento sorprendense todavía en el gato cordones en vías de formación, según aparece en la figura 476. En la mujer, la emigración del epitelio germinal se prolonga hasta los dos años. Transcurrido este tiempo, el epitelio germinal cae en reposo; todos los óvulos y células foliculares serán, por tanto, diferenciaciones de los consabidos cordones.

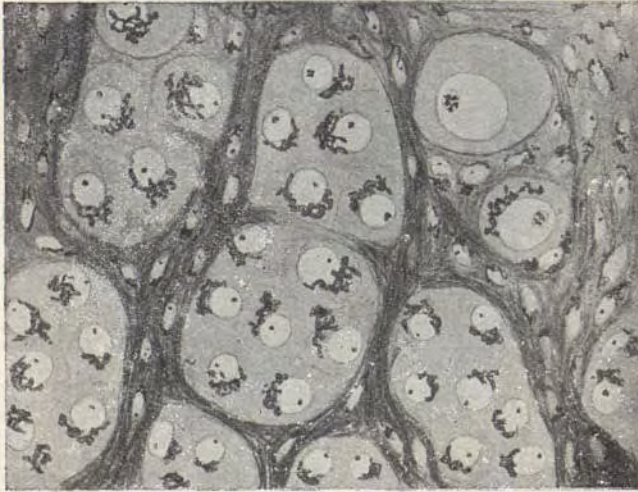


Fig. 477. — Aparato de Golgi en los óvulos primordiales del cobaya. (Según Río-Hortega.)
Método del formol-irano.

2.^a *Fase de multiplicación.* — Iníciase ya en el epitelio germinal, pero se prosigue activamente dentro de los cordones de Pflüger, cuyo caudal celular aumenta notablemente. En un principio no es posible diferenciar los futuros óvulos de los elementos destinados a ser células foliculares; más tarde, los cordones se segmentan en trozos que sucesivamente se redondean, y se distingue ya un corpúsculo central, la *ovogonia*, así como una corona más o menos regular de células pequeñas, que representan los futuros corpúsculos foliculares.

3.^a *Período de crecimiento o de folículo primordial.* — La

ovogonia se desarrolla progresivamente, apareciendo al principio bajo la forma de una célula pequeña, aunque más grande que las del estroma, de forma redondeada o poliédrica, y cuyo núcleo, rico en cromatina, exhibe una disposición reticulada. En torno del óvulo rudimentario se ven tres o cuatro células

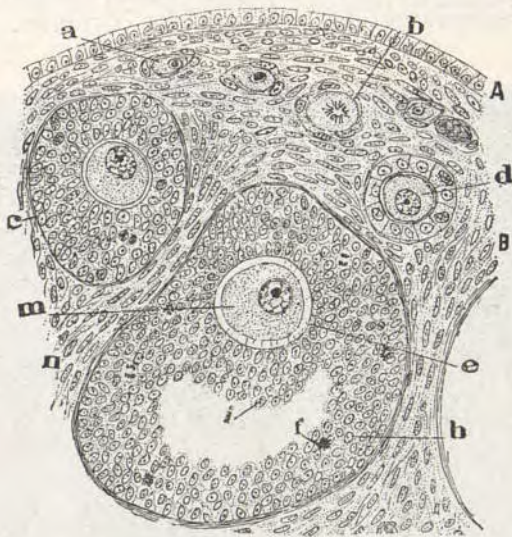


Fig. 478. — Corte del ovario de la coneja. Corte en parafina y coloración en hematoxilina; *a*, folículos primordiales muy jóvenes; *b*, óvulo en mitosis; *d*, otro folículo primordial, pero más avanzado, con una capa epitelial regular; *c*, óvulo con zona granulosa y membrana pellúcida; *m*, óvulo casi maduro con su membrana pellúcida (*e*), con acúmulo ovigero (*i*) y su zona granulosa epitelial periférica (*b*); *A*, epitelio germinal.

aplastadas e irregulares, nacidas por diferenciación de las primitivas germinales, y que representan el primer esbozo de la zona epitelial o granulosa periovariana (fig. 478, *a*, *b*).

Ulteriormente, el núcleo de la ovogonia crece y su red cromática se resuelve en un filamento continuo, como si se preparase a una mitosis; después, este cordón cromático se divide en doce cromosomas regulares, cada uno de los que representa dos bastones cromáticos, pues, según se sabe, el número normal de éstos en las células humanas es de veinticuatro. Dichos dobles cromosomas adoptan forma de anillo,

conforme se observa en todo óvulo que se prepara para el proceso de maduración (véase la *profase* del fenómeno de maduración en la ovogonia, páginas 239 y siguientes), y a veces tales anillos se adelgazan y prolongan, disponiéndose en 8 de guarismo. Después de estas metamorfosis el núcleo recobra su estado de reticulación.

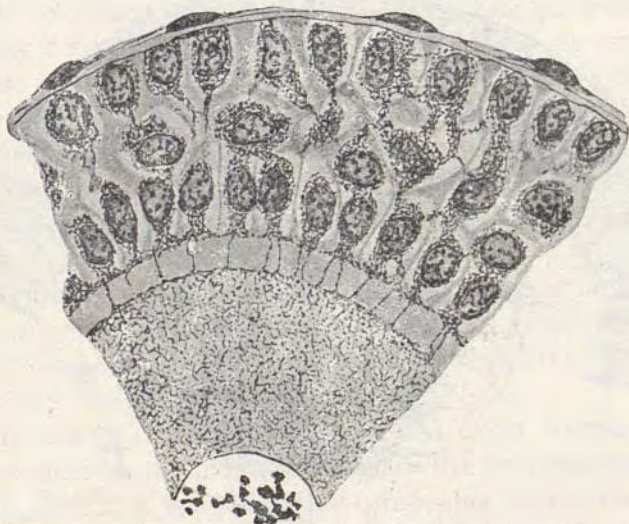


Fig. 479. — Trozo de óvulo y del estrato epitelial folicular del conejo. Detalles de la unión del epitelio folicular con el protoplasma del óvulo. (Según Retzius.)

4.^a *Fase de vesícula embrionaria.* — El óvulo aumenta de volumen y se rodea de dos membranas: una fina y granulosa (*membrana primordial*), que envuelve el protoplasma, al cual adhiere íntimamente, y otra que aparece en un período ulterior. Esta última capa es espesa como una cápsula, y ha recibido el nombre de *membrana secundaria* o *zona pellúcida*. En su espesor se ven finos conductitos radiados, por los cuales, según Flemming, pasarían expansiones protoplásmicas destinadas a poner en comunicación el protoplasma del óvulo con las células epiteliales inmediatas. También Retzius (1913) con-

firma modernamente esta opinión, gráficamente expuesta en la figura 479. Pedro Ramón sostiene parecido dictamen (figura 480). En torno del óvulo las células epiteliales pequeñas se han multiplicado a beneficio de mitosis, engendrando dos o más capas concéntricas de corpúsculos poliédricos, pobres en

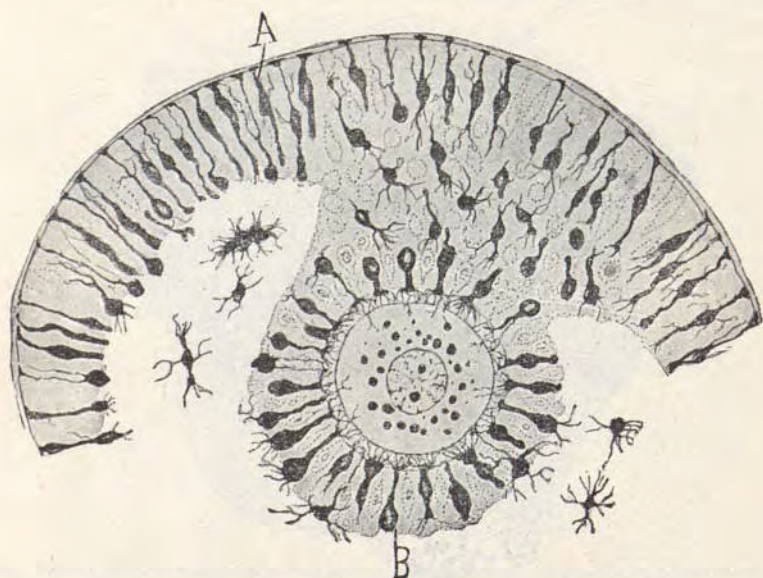


Fig. 480. — Vesícula de Graaf madura; A, membrana granulosa; B, disco polígono. (Método de Golgi en la perra, según P. Ramón.)

protoplasma y estrechamente unidos por sus caras. Del lado del estroma se desarrolla una membrana basal, sobre la cual se extiende una red capilar tupida (fig. 478, c).

Mi hermano (Pedro Ramón), que ha aplicado con fortuna el método de Golgi (1918) al estudio del folículo de Graaf, joven y maduro, ha aprobado que, tanto las células de la membrana granulosa como las del disco prolífero, son de tipo conectivo, afectando figura de huso con expansiones polares terminadas comúnmente por brochas de ramificaciones (véase la figura 480). La configuración bipolar se observa hasta en las células satélites de los folículos primordiales.

5.^a *Fase de la vesícula adulta.* — La vesícula de Graaf alcanza gran desarrollo, creciendo en todas direcciones, y principalmente hacia afuera. La formación epitelial periovarial acrecienta, por mitosis, el número de sus estratos, al propio tiempo que en el seno del epitelio se engendran varios espacios llenos de plasma. Tales espacios, que crecen incesantemente y acaban por confluir en uno mucho mayor, separan dos regiones o zonas epiteliales: la *zona granulosa* o epitelial periférica, situada por debajo de la pared folicular y compuesta de varias hileras de pequeños elementos alargados (fig. 480, A), y el *cúmulo ovigero* o zona epitelial interna, sistema de capas celulares que envuelven inmediatamente el óvulo (*i*). Entre la formación interna y externa se observan siempre uno o varios puentes de corpúsculos epiteliales, especie de cordón umbilical que mantiene el óvulo en su posición.

Entre las células foliculares se notan además áreas claras, más o menos redondeadas, en torno de las cuales adquiere el epitelio orientación radiada. Son depósitos de un material especial, segregados, designados *cuerpos de Exner*.

En cuanto al óvulo maduro, es una célula esférica, de una o dos décimas de milímetro de diámetro. Su protoplasma (*vitelus*) ofrece, a más de granos grasientos, un retículo pálido, inserto de una parte al núcleo y de otra a la membrana primaria. El núcleo (*vesícula germinativa*) es notable por su tamaño (30 a 40 μ de diámetro), su excentricidad, su gruesa membrana acromática, su carencia de red de nucleína (pues sólo presenta algunos granos tingibles apenas por la hematoxilina) y, sobre todo, por la existencia de uno o varios corpúsculos hialinos, colorables por los reactivos de la nucleína y limpiamente contorneados (*nucleolos o manchas germinativas*, fig. 481, f).

Núcleo vitelino. — Los óvulos inmaduros contienen en su protoplasma un corpúsculo especial de naturaleza enigmática: el *núcleo vitelino* de Balbiani. En los invertebrados, singularmente en la araña, preséntase voluminoso y bien acusado, exhibiendo una masa obscura central y una infinidad de láminas concéntricas. En los mamíferos no falta tampoco, residiendo cerca del núcleo y afectando forma esférica y contorno riguroso (figuras 482, c, y 483, a).

Buen número de autores atribuyen al núcleo vitelino origen nuclear; sin embargo, hay animal en que parece representar una diferenciación citoplásmica. En todo caso, la vida de este corpúsculo es efímera; cuando se aproxima la madurez del óvulo, se hincha, fragmenta y disemina, perdiéndose en el seno del protoplasma. Según Bambeck y van der Stricht, su desaparición coincidiría con la creación de granos o reservas alimenticias en el citoplasma, en cuya producción tendría positiva influencia.

Hoy se sabe que el cuerpo vitelino o núcleo de Balbiani contiene una pareja de centrosomas. Por lo cual es muy verosímil que este cuerpo represente el *idiazoma* de las espermatogonias.

Las reservas protoplásmicas son numerosísimas, afectando formas varias (esferas, bastoncitos, placas, etc.), según los animales, y cargándose a menudo de una materia grasienta, coloreable por el ácido ósmico (granos *deutoplasmáticos*).

Aparato de Golgi. — Ha sido estudiado especialmente por Río-Hortega (1913), aunque acerca de su disposición en las diversas etapas del óvulo hallamos ya indicaciones en van der Stricht (1904), y, sobre todo, Sjowal (1906), y Weigl (1912), y Kulesch (1914).

Como aparece en la figura 477, *g*, la disposición de este aparato varía según la fase evolutiva. En la de folículo primordial y antes aún, cuando el ovocito se contiene en los cordones de Pflüger, preséntase localizado en forma de red yuxtannuclear (fig. 477); pero cuando el óvulo, ya modelado, se rodea de acúmulos de corpúsculos epitélicos, los cordones se dispersan por todo el protoplasma, fragmentándose en trozos a veces muy pequeños.

En el óvulo maduro o casi maduro cada grumo disperso exhibe a menudo pequeñas radiaciones. Esta dispersión del material constitutivo del aparato de Golgi ha sido también observada por Weigl (1912), en los ovocitos (método de Golgi y de Kopsch).

Varietades de óvulos. — Por la cantidad y modo de repartición de las reservas nutritivas del protoplasma ovular, se han distinguido muchas categorías de óvulo. Así, Eternod los clasifica en *panlecitos, centrolecitos, telolecitos y metalecitos*.

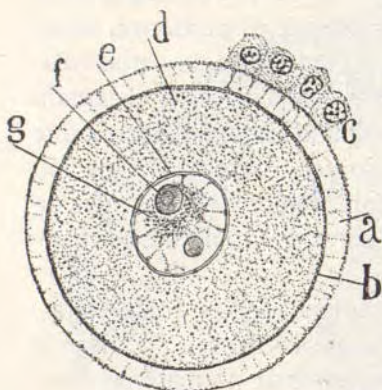


Fig. 481. — Óvulo casi maduro de coneja. *a*, membrana aislable o cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo; *c*, capa epitelial interna que parece enviar expansiones a través de la cápsula.

Los *panlecitos* constan de vitelus formativo y nutritivo mezclado por igual. El núcleo es central (*Anfioxus*).

Los *centrolecitos* poseen deutoplasma central perinuclear, quedando la periferia del soma destinada al protoplasma formativo (ciertos insectos).

Telolecitos designanse los óvulos cuyo protoplasma se divide en dos partes o polos: uno *superior (polo animal)*, formado por un disco de protoplasma desprovisto de reservas donde se aloja el núcleo (*disco germina-*

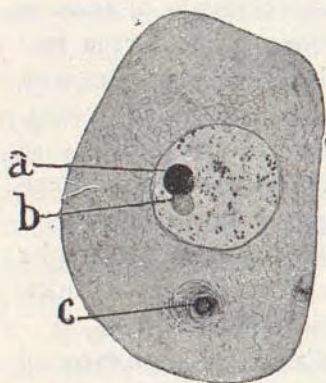


Fig. 482. — Óvulo de la *Tegenaria doméstica*. *a*, nucleolo ordinario; *b*, nucleolo accesorio; *c*, núcleo vitelino o cuerpo de Balbiani.

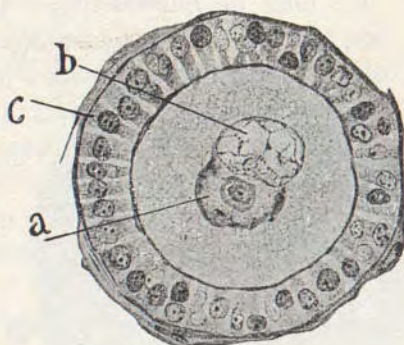


Fig. 483. — Óvulo de murciélago. *a*, núcleo vitelino o cuerpo de Balbiani; *b*, núcleo; *c*, células foliculares (según Branca).

tivo, cicatricula, etc.), y otro *inferior*, representado por abultada masa de protoplasma henchido de granulaciones alimenticias. Semejante disposición polar corresponde al óvulo de las aves, reptiles y peces óseos.

En fin, los *metalecitos* constan de protoplasma formativo con indicios de deutoplasma o granos alimenticios. El núcleo es central. Tal es el óvulo de los mamíferos, que no necesita reservas nutritivas, porque el embrión las hallará de sobra en la placenta. Parecidas clasificaciones hacen Balfour, Henneguy, etc.

El folículo de Graaf está limitado por una membrana delgada, anhistá, reforzada exteriormente por fascículos conectivos y células aplastadas. Sobre ellas residen los capilares, constituyendo una red membranosa apretada. Entre las vesículas de Graaf se ven, a más de fascículos conectivos y capilares, elementos constitutivos del estroma, multitud de células poliédri-

cas, más o menos acumuladas, ricas en gránulos y comparables a las *perivasculares* o a las *intersticiales* del testículo. Su significación y origen permanecen en la obscuridad. Hoy, sin embargo, domina la opinión de que las citadas células intersticiales constituyen una glándula vascular sanguínea, de influjo decisivo en la aparición de los caracteres sexuales secundarios.

6.^a *Fase de maduración.* — Cuando el óvulo alcanza su

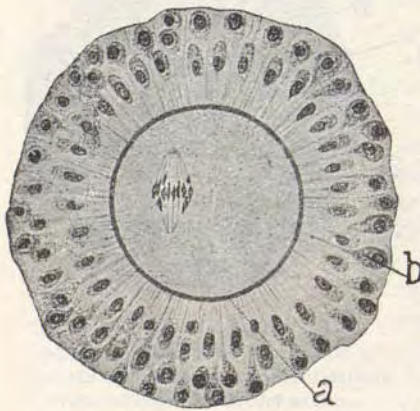


Fig. 484. — Óvulo de ratón en vías de maduración. *a*, zona pellúcida; *b*, células foliculares (según Sobotta).

adultez, la membrana foliular se hace progresivamente superficial, distiéndose notablemente y se rompe. Esta ruptura tiene lugar al nivel de una región de la pared vascular desprovista de vasos y adelgazada (*Estigma*).

Caído en la trompa, el ovocito inicia su maduración, eliminando, según el mecanismo ya estudiado más atrás (pág. 250), la mitad de los cromosomas, y reduciéndose, por tanto, a 12 los 24 con que cuentan

los núcleos de las ovogonias. Por lo demás, los detalles de tal proceso conócense mejor en los animales que en el hombre y demás mamíferos. De todos modos, las investigaciones de Sobotta en el ratón, de van der Strich en el murciélago, de Doorne y Lams en el cobaya, etc., confirman en sus líneas generales las conclusiones sacadas del análisis de la maduración en el *ascaris megalocephalia* y otros invertebrados.

En la figura 484 mostramos una figura de Sobotta en que aparece la primera división de maduración en el ratón. Nótese cómo los anillos cromosómicos se alargan para escindirse en dos mitades. Durante la formación del 2.^o corpúsculo polar la operación se repite.

En tanto que ocurren en el núcleo estos fenómenos, el protoplasma se organiza de cada vez más complicadamente. Periféricamente exhibe una zona estrecha y oscura (*vitellus formativo*), mientras que la parte central, clara y como reticulada, revela gran cantidad de reservas alimenticias (*deutoplasma*). Las mitocondrias, antes poco visibles, se hacen aparentes, disponiéndose en series poligonales, según ha demostrado van der Strich en el óvulo humano.

En fin, en la figura 467 reproducimos el esquema que permite comparar la evolución del ovocito con el espermatocito. Repárese la igualdad esencial de ambos procesos, espermatogénico y ovogénico, salvo el crecimiento mayor del ovocito antes de la eliminación de los cuerpos polares, y la circunstancia de que éstos, a diferencia de los eliminados por los espermatocitos, son elementos atróficos destinados a la destrucción.

Atresias ovulares y cuerpos amarillos. — No todas las ovogonias diferenciadas en los cordones de Pflüger se aprovechan convirtiéndose en ovocitos, a su tiempo emigrados hacia la cavidad de la trompa. La inmensa mayoría de ellas sufre en el ovario, durante la fase de folículo primordial o de folículo adulto, un curioso proceso de atrofia y degeneración que se ha designado *atresia folicular*. Antes de morir, el óvulo sufre la degeneración grasosa o la gránuloproteica. En cuanto a las células foliculares, parecen reabsorberse también. El folículo es invadido por elementos procedentes del conjuntivo o de la teca folicular, y se organiza, reconociéndose bastante tiempo como *folículos atrésicos*, que presentan aspecto distinto, según que se conserve la vítrea reforzada por conjuntivo o no. Según los cálculos de Waldeyer, de 100.000 óvulos contenidos en los ovarios de la niña, sólo llegan a sazón y franquean el pabellón de la trama unos 440.

Cuando una vesícula de Graaf madura se rompe y expulsa el óvulo, el folículo así lesionado sufre un proceso degenerativo especial, que desemboca en la formación de unos cuerpos globulosos de color amarillento, que se designan *cuerpos amarillos*. Este color lo deben a que después de la dehiscencia del

folículo las células de la granulosa que quedan tapizando su pared (Bischoff, Merkel, van Beneden, etc.), las que penetran desde la teca (Kölliker, His, Nägel, etc.) o ambas (Rabl, Colm, etcétera) se multiplican para casi rellenar el hueco, se hipertrofian y se cargan de una materia colorante, *luteína* (especie de lipocromo). Cuando ha habido hemorragia, se suma el color de la hemoglobina y sus derivados, hemosiderina, hematoidina, englobadas por las células o difundidas. Después todo es invadido por el conectivo y vasos, transformándose en cicatrices, que se llaman corpus albicans o candicans. Los elementos del cuerpo lúteo parecen producir una increción de importancia en la secreción mamaria y otros fenómenos del embarazo.

Glándulas de secreción interna. — Caracterizadas por carecer de hueco secretorio y de conducto excretor, estos parénquimas son relativamente poco conocidos. En tal dominio, la fisiología va delante de la histología, porque casi todo lo importante que de las citadas glándulas sabemos, debémoslo a la experimentación fisiológica y a las observaciones clínicas. Rasgos histológicos comunes son: constar de islotes o aglomeraciones de elementos epiteliales, más o menos claramente poliédricos; exhibir una red capilar muy rica y frecuentemente cavernosa y, en fin, alojar entre los islotes una trama conectiva equiparable a la intersticial de las glándulas comunes. Dentro de esta norma estructural, cada tipo de glándula cerrada presenta caracteres propios, a veces acentuadamente específicos

Cuéntanse entre las glándulas cerradas: el *tiroides*, el *timo*, la *suprarrenal*, las *paratiroides*, el *cuerpo pituitario*, la *glándula pineal*, la *intercarotídea*, la *coxígea*, etc. Las mismas glándulas comunes o de conducto excretor, encierran, a veces, conglomerados celulares considerados hoy como órganos de secreción interna. Recordemos entre otros: las *células intersticiales* del ovario y del testículo, y los *islotes de Langerhans* del páncreas. En fin, estiman los fisiólogos que determinados segmentos de las glándulas comunes, por ejemplo, los *conductos flexuosos* del riñón, son susceptibles de elaborar principios destinados a la absorción. Semejantes imbricamientos funcionales hacen imposible, en el orden fisiológico, trazar una línea

divisoria bien acusada entre las glándulas comunes y las de secreción interna propiamente dichas, siendo muy posible que todos los elementos epitelios, de cualquier orden que sean, liberen alguna substancia difusible y provechosa a la economía orgánica. Consignemos sumariamente algunos datos acerca de las principales.

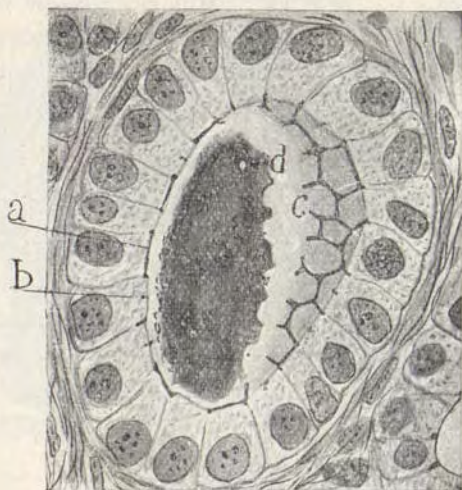


Fig. 485. — Corte de una vesícula del cuerpo tiroideo del conejo (de una preparación de Heidenhain). Método de la hematoxilina ferruginosa. *a*, banda de cierre; *b*, centrosoma de las células epiteliales cuboideas limitantes de cada vesícula.

TIROIDES. — Es el tipo de las vesiculares. En medio de un estroma conectivo ofrece esta glándula vesículas cerradas de 40 a 90 μ de diámetro, llenas de un líquido homogéneo, ligeramente amarillento, cuya consistencia aumenta con la edad, llegando a ser gelatiniforme. La superficie interna de las vesículas está revestida por una sola capa de células cuboides, de anchura muy variable. Entre ellas aparece claramente una banda de cierre (fig. 485, *a*). Negri ha teñido el aparato reticular de Golgi.

En fin, Heidenhain ha mostrado la existencia cerca de la superficie libre celular de un diplosoma característico (*b*).

Una red capilar tupida circuye las membranas vesiculares.

La glándula tiroides es el tipo de las que, por carecer de conducto excretor, vierten directamente en la sangre el producto elaborado. Este producto no ha sido todavía aislado, pero se sabe, merced a los experimentos de Hofmeister, Eisel-

berg, Gley y otros, que ejerce una gran influencia sobre la nutrición, puesto que en los conejos, carneros y cabras jóvenes, la extirpación de aquel órgano produce una suspensión del desarrollo. En el mono y el hombre la falta del cuerpo tiroides determina el mixedema.

Los animales privados de dicho cuerpo se restablecen rápidamente si son alimentados con el jugo o con pedazos de la glándula (Herthoge, Bourneville, Gley, Marañón, Gómez Ocaña, etc.).

PARATIROIDEA. — En 1880 descubrió Sanstrom ciertos acúmulos celulares, macizos, de carácter opitálico, situados a entrambos lados de la glándula tiroidea, junto al lóbulo lateral de ésta y a veces empotrados o embebidos en su espesor (figu-

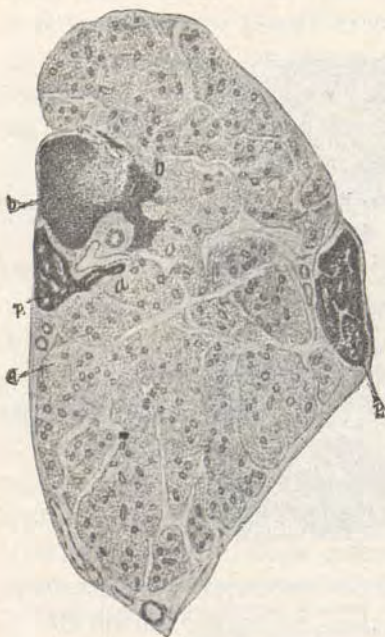


Fig. 486. — Sección transversal del lóbulo izquierdo del tiroides del gato de dos meses (según Kohn); *p*, paratiroidea; *a*, cuerpo tiroides.

ra 486, *p*). Aunque pequeñísimas, estas glandulillas, llamadas *paratiroideas*, gozan de suma actividad, puesto que su extirpación, sobre todo en los carnívoros, provoca graves fenómenos de tetania.

El carácter estructural responde al tipo histológico de la porción cortical de la suprarrenal, pero la presencia en ocasiones de cavidades rellenas de materia coloide y rodeadas de células, la asemejan al tiroides. Trátase de columnas o nidos epi-

télicos anastomosados, exentos de cavidad interior, embebidos en una trama reticular delicadísima, portadora de capilares y bien estudiada por Livini (1909). La figura 487, tomada de Kohn, da idea de la forma y composición de los citados cilindros epitelícos, y revela, sobre todo, la gran amplitud de los

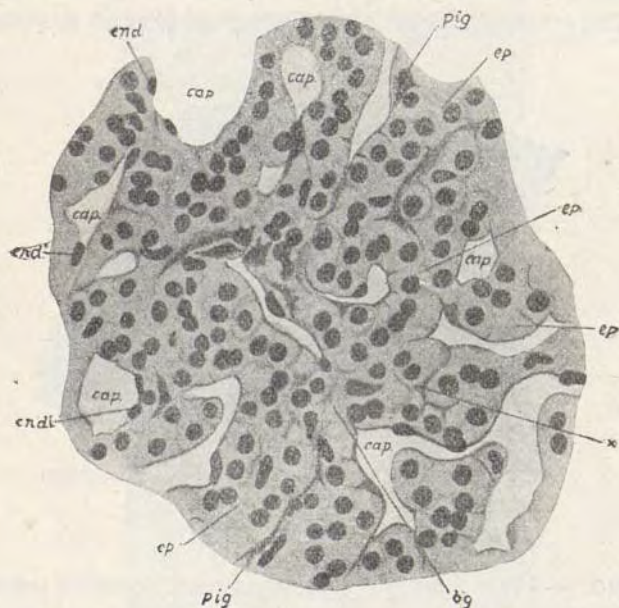


Fig. 487. — Sección de paratiroidea (según Kohn); *ep.*, epitelio secretor; *pig.*, células con pigmento; *cap.*, capilares con dilataciones en seno; *end.*, células endoteliales limitantes de los vasos.

capilares intersticiales (*cap.*), cuyo endotelio reviste casi directamente la superficie de aquéllos (*end.*).

Según Welsch y Rulison, los corpúsculos glandulares difrenciense en dos categorías: *pálidos*, abundantes y ricos en protoplasma, y *cromófilos*, más raros y anchos, portadores de gránulos interiores identificables acaso con el producto de secreción interna. Imagínase por varios autores que los dos citados tipos, entre los que no son raras las transiciones, corresponden a fases fisiológicas de un mismo corpúsculo glandular.

En fin, en el gato y perro jóvenes, las células glandulares revelan un aparato de Golgi bien desarrollado.

Desde el punto de vista embriogénico, tiroides y paratiroides pertenecen a la misma estirpe y se desarrollan de igual manera. Los estudios de Gley, Vincent y Jolly revelan que si se extirpa el tiroides del gato, la paratiroides produce formas vesiculares con tendencia a reconstruir el órgano ausente.



Fig. 488. — Corte de un lóbulo del timo del niño (según Schäfer).

TIMO. — En el hombre y muchos mamíferos es un órgano impar, que reside en la parte inferior del cuello, por delante de la tráquea, prolongándose hasta el interior del tórax y consta de dos lóbulos laterales unidos por un istmo intermedio transversal. Se forma a expensas de un botón o yema epitelial, que crece hacia abajo desde cada una de las bolsas branquiales entodérmicas terceras, aumenta de volumen hasta la pubertad (Hammar, Soderhund y Backmanni, etc.), y se atrofia después.

Una sección del timo (fig. 488) revela que está constituida por dos porciones, una *medular*, más clara, y otra *cortical*, rica en linfocitos, distribuidas en lobulillos, separados entre sí periféricamente por tabiques conjuntivos que penetran desde la cápsula, pero continuos por su parte profunda. La porción medular está constituida por un retículo de células epiteliales que se han tornado estrelladas, con núcleo grande y pobre en cro-

matina (fig. 489), dentro del cual se ven células epiteliales todavía redondeadas, leucocitos, vasos y los *cuerpos concéntricos de Hassall*, formados por células epiteliales que se disponen como en una cebolla en torno de otra hipertrofiada o de masas hialinas o grasientas resultantes de su degeneración. La



Fig 489. — Porción medular del timo humano (feto), según Hammar.

porción cortical muestra un retículo relleno de grandes cantidades de leucocitos que exhiben numerosas mitosis. Al atrofiarse el timo, se transforma en tejido grasiento, en el que se ven todavía trabéculas del tejido primitivo.

El timo disminuye de volumen en la inanición, en el sueño de los animales invernantes, en los embarazos y en las enfermedades, sobre todo a expensas de sus elementos linfoides, y parece tener influencia evidente en el desarrollo de los huesos y en la pubertad.

CÁPSULA SUPRARRENAL. — Trátase de una glándula doble, emplazada sobre la extremidad superior de cada riñón. Es el resultado de la fusión, en los mamíferos, de dos clases de órganos separados en los vertebrados inferiores, representados

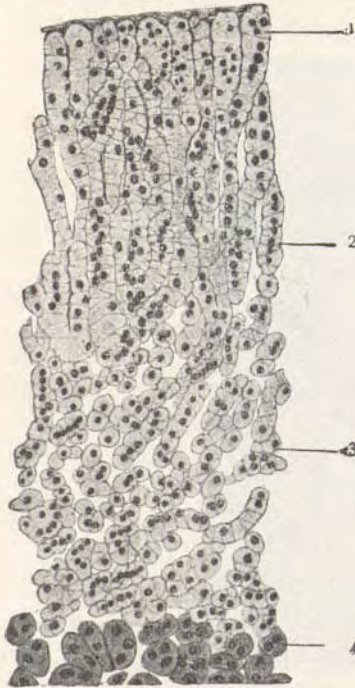


Fig. 490. — Sección de la glándula suprarrenal del murciélago. 1, zona glomerular; 2, zona fasciculada; 3, zona reticulada; 4, substancia medular (según Branca.)

por las dos sustancias que a simple vista se observan en la sección, la *cortical* más clara, amarillenta, y la *medular* roja oscura, envueltas por una cápsula que envía tabiques conectivos al interior, presentando fibras musculares lisas y vasos.

La *corteza* está constituida por células epiteliales que en su parte más exterior se reúnen en glomérulos o globos (*zona glomerular*, fig. 490, 1), continuados hacia el interior por cordones rectos de dirección radial (*zona fasciculada*, figura 490, 2) entrecruzados y anastomosados en forma de red de su parte más profunda (*zona reticular*, fig. 490, 3). Las células, idénticas en las tres zonas, son finamente granuladas en la capa glomerular, presentan gruesas granulaciones birrefringentes lipoides en la fasciculada y, por último, en la

reticular están repletas de un pigmento rojo pardo o amarillento. El método del urano formol permite descubrir (gato, conejo, jóvenes) un pequeño aparato reticular de Golgi, situado en la vecindad del núcleo en todos los elementos glandulares.

La *médula* consta de células poliédricas, a veces estrelladas, reunidas en trabéculas o grupos, que contienen una substancia que se colorea en pardo por el ácido crómico y sus sales

(Henle, 1865), siendo llamadas por esta razón *cromafines* (Kohn) o *feocromas* (Poll); entre ellas existen vasos amplios de tipo sinusoidal, numerosos filetes nerviosos, procedentes del simpático, que las envuelven con sus terminaciones y algunas células nerviosas simpáticas.

La materia elaborada por la glándula suprarrenal, es decir, la *adrenalina*, goza de gran poder constrictor sobre el aparato vascular. A pequeñas dosis, el extracto de la glándula inyectado en los vasos produce brusco aumento de la contracción del corazón y fibras lisas de las arterias, y, por tanto, incremento notable de la presión arterial (Schafer, Langley). Extirpadas las suprarrenales, altérase la nutrición, sobreviniendo gran postración y la muerte. En fin, modificaciones patológicas del parénquima, aún no bien esclarecidas etiológicamente, provocan en el hombre fuerte pigmentación cutánea (*enfermedad bronceada* de Adisson). También debe intervenir en la regulación de los lipoides.

En los peces la porción cortical aislada constituye pequeñas glandulitas (glándula interrenal de los selacios u organitos de Stannius de teleosteos y ganoideos), en tanto que la medular forma numerosos corpúsculos cromafines, que son llamados suprarrenales, aunque no tienen esta situación; de modo que ambas substancias están completamente separadas; en los batracios se ponen en contacto las dos clases de órganos; en los reptiles, comienzan a invadirse recíprocamente; en las aves, se hallan entremezclados cordones corticales con cordones cromafines, y, por último, en los mamíferos la porción cromafine está envuelta por la cortical.

La parte cortical se forma por el crecimiento hacia la profundidad del epitelio del celoma inmediato a la zona genital en forma difusa o de yemas, en tanto que los elementos cromafines son elementos simpáticos modificados (Kohn), llamándose por este motivo las agrupaciones de elementos cromafines *paraganglios*, siendo el más importante de todos el paraganglio suprarrenal; pero existen, además, el carotideo (en la bifurcación de la carótida primitiva), el órgano de Zuckerkandl (sobre la bifurcación de la aorta abdominal) y varios en el curso de los nervios simpáticos.

CUERPO PITUITARIO. — Este órgano piriforme, mitad nervioso, mitad glandular, reside en la foseta de la *silla turca* del esfenoides. Un corte anteroposterior medio permite diferenciar dos *lóbulos o porciones*: la *anterior o lóbulo glandular* (figu-

ra 492, D), y la *posterior o lóbulo nervioso*, en continuación mediante un pedículo, con el *tuber cinereum* del cerebro. Entre ambos lóbulos queda un espacio libre revestido por el epitelio glandular (E), que en el hombre y mamíferos de gran talla



Fig. 491. — Algunos cordones glandulares de la hipófisis humana teñidos por el método de Achúcarro. *a*, células del retículo denso; *b*, idem de retículo laxo; *c*, idem de granulaciones fuertemente impregnadas; *d*, idem pálidas; *v*, vaso (tomada de F. Tello).

se complica, organizándose en sistema de divertículos llenos de líquido. Esta región ha recibido el nombre de *porción intermedia o intestinal (Darmteil*, de ciertos autores alemanes).

a) *Lóbulo nervioso*. — Contiene principalmente, según demostramos hace tiempo mediante el método de Golgi, un plexo nervioso amedulado sumamente tupido, despliegue terminal de cierto haz de axones arribados del cerebro por el citado pedículo. En los huecos de este plexo residen ciertas diminutas neuronas multipolares, de cortos apéndices, sin expansión nerviosa diferenciable, y cuya verdadera naturaleza se ignora todavía. El plexo nervioso intersticial, negado por muchos histólogos, ha sido confirmado mediante los métodos neurofibrillares por Thaon, Gemelli, Gentes, Joris, Pendes (1911), y sobre todo por Tello (1912), que ha dado de sus fibras una buena descripción (hombre), señalando curiosas metamorfosis degenerativas en los extremos axónicos (bolas colosales, pelotones de retoños en torno de vasos, etc.). Algunos autores (Retzius, Berkley, Hortega, etc.) describen elementos de neuroglia. Diversos sabios (Schäfer, Stendell [1913], etc.) señalan además la presencia de mazas hialinas.

b) *Lóbulo glandular*. — Representa la glándula vascular sanguínea del cuerpo pituitario, y se compone de conglomerados y columnas macizas del epitelio, dispuestas al modo de los elementos de la *paratiroides*, en vasta red, cuyos intervalos rellena densa trama conectiva surcada de capilares. Sobre la estructura y cualidades fisiológicas de las células glandulares reina todavía gran incertidumbre. Diversos autores han descrito en ellas granulaciones de propiedades tintóreas y calidad fisiológica diferente. En general distingúense dos categorías: *células cromatófilas*, ávidas de la hematoxilina y anilinas y henchidas de granos, interpretados por algunos autores como mitocondrias, y *células pálidas* o débilmente coloreables por los citados reactivos. Gemelli diferencia todavía las cromatófilas en *acidófilas*, *basiófilas* y *mixtas*, distinción que adopta en principio Schäfer (1913). No faltan autores, como Benda, Saint-Remy y Schäfer, que estiman ambas modalidades corpusculares como fases de la misma función. Mediante el método de Achúcarro, ha encontrado Tello (1), además de los gránulos

(1) F. Tello: «Algunas observaciones sobre la histología de la hipófisis humana.» *Trabajo del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

intraprotoplásmicos bien conocidos, cierto retículo específico muy semejante al neurofibrillar de las neuronas, y del que damos copia en la figura 491, *a*. Sobre la naturaleza de este delicadísimo esqueleto no se decide el autor, inclinándose, no

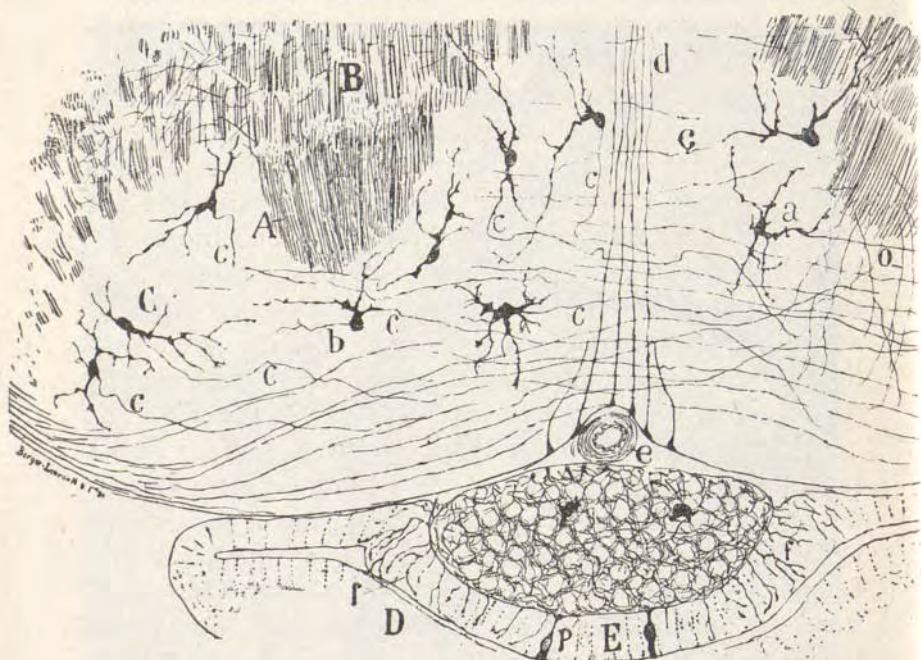


Fig. 492. — Trozo de protuberancia e hipófisis del ratón joven; *D*, lóbulo glandular; *e*, vaso situado encima del lóbulo nervioso; *E*, epitelio de la cavidad o porción intermediaria, donde se ven células fusiformes y terminaciones nerviosas.

obstante, en contra de su naturaleza nerviosa, vista la imposibilidad de colorearlo con los métodos de Bielschowsky y nuestro (para las neurofibrillas). En su interesante Memoria, Tello da también, según mostramos en la figura 491, una excelente imagen del tejido conectivo intersticial, separatorio de los acúmulos glandulares (método de Achúcarro). En fin, Gemelli, Tello y Fañanás observan en los citados elementos una típica red de Golgi, confinada cerca del núcleo y en nada semejante al retículo descubierto por Tello.

c) *Porción intermedia*. — En los animales de pequeña talla, por ejemplo, el ratón, el espacio plasmático existente entre ambos lóbulos es liso, apareciendo revestido por un epitelio prismático monoestratificado (fig. 492, E); mas en el hombre, según dejamos dicho, este revestimiento se complica en repliegues y cavidades vesiculares cerradas, llenas de una materia coloide y de detritus y ruinas celulares.

Nuestras ya antiguas investigaciones (1894) enseñaron que el epitelio de la porción intermedia posee carácter de órgano sensorial, puesto que, además de contener ciertas células, que bien pudieran estimarse homólogas de las epitelicas sensoriales (del órgano de Corti, por ejemplo), sorpréndense también arborizaciones nerviosas libres, terminadas entre los elementos del revestimiento epitelial y procedentes de fibras llegadas del lóbulo nervioso. Gemelli y Tello han confirmado la existencia de estas ramificaciones nerviosas mediante el empleo de los métodos neurofibrillares. Pero sólo este último sabio ha precisado la forma y disposición de los corpúsculos sensoriales, así como sus conexiones con las últimas radículas nerviosas. A parte de las dicotomías interepitelicas, ya observadas hace tiempo por nosotros, describe Tello dentro del epitelio ciertos corpúsculos sensoriales, piriformes, escasos en protoplasma, de esqueleto, neurofibrillar delgado y concentrado en torno del núcleo, y provistos de un pedículo acabado, bien en la frontera profunda del epitelio, bien algo más allá, es decir, en pleno tejido conectivo, a favor de una esfera o bulbo libre. Con este bulbo entran principalmente en contacto las ramas nerviosas aferentes, distribuídas en el epitelio de la *pars intermedia*.

Las funciones de la glándula pituitaria o hipófisis distan mucho de estar esclarecidas. Integrado el órgano por dos lóbulos de origen diverso, el *glandular* procedente del epitelio bucal (bolsa de Rathke), y el *nervioso*, del conducto neural (infundíbulo), de suponer es que su fisiologismo sea también diferente. Como primera aproximación, demostróse hace tiempo por Marie y Marinesco una relación estrecha entre la hipertrofia del cuerpo pituitario y la acromegalia. Pero los fisiólogos

modernos pretenden ir más allá, precisando el papel de cada factor de la citada simbiosis pituitaria. Así Schäfer (1913), que ha consagrado a la fisiología de este órgano varios estudios, asigna al *lóbulo anterior* o glandular un papel esencial en el crecimiento general del cuerpo y singularmente del esqueleto; en tanto que el *lóbulo nervioso* y *porción intermedia* elaborarían ciertos *hormones* capaces de excitar el tono de los músculos lisos y promover la actividad de algunas glándulas, como el riñón y la mamaria (*pituitrina* o *hipofisina*). Sospéchase que este hormón de los músculos de fibra lisa es elaborado por el epitelio de la *parte intermedia*. Los desórdenes de crecimiento, por ejemplo, la acromegalia, el gigantismo, etc., dimanarían de la hipersecreción específica del lóbulo glandular (Fischer, Franck, Schäfer, Hodde, Stendell, Gley, Marañón, etc.).

GLÁNDULA PINEAL O EPÍFISIS. — Encima y detrás del ventrículo medio, delante del tubérculo cuadrigémino anterior, y envuelta en un repliegue de la *pia*, yace la *glándula pineal*, de figura cónica, color rojizo y consistencia blanda. Aunque adherida al cerebro y sujeta a una vía nerviosa transversal (la *comisura interhabenular*), no recibe este órgano fibras nerviosas del encéfalo, sino del gran simpático, al modo de las glándulas vasculares sanguíneas.

Un corte de la epífisis revela tres factores constitutivos: los *islotes epitélicos*, la *trama conectivo vascular* y el *plexo nervioso terminal*.

a) Los *islotes epitélicos* afectan la disposición, tantas veces descrita, de nidos y columnas macizas anastomosadas. Sus células integrantes aparecen gruesas, poliédricas, unas veces pálidas, otras provistas de inclusiones cromatófilas.

Pero además de los corpúsculos glandulares propiamente dichos, los conglomerados epitélicos encierran legítimas neuronas, ya sospechadas por Henle y Hagemann, y descritas detalladamente por nosotros (1895) en los pequeños mamíferos jóvenes. Trátase de elementos multipolares exentos de axon, y cuyas expansiones indivisas o sobriamente divididas acaban en un pequeño abultamiento. El método usado por nosotros (el de Golgi) no permitía determinar las conexiones de tan singu-

lares elementos, ni su morfología verdadera en el adulto. Achúcarro y Sacristán (1913) han cumplido brillantemente este programa, aplicando al argumento los procederes de Bielschowsky,

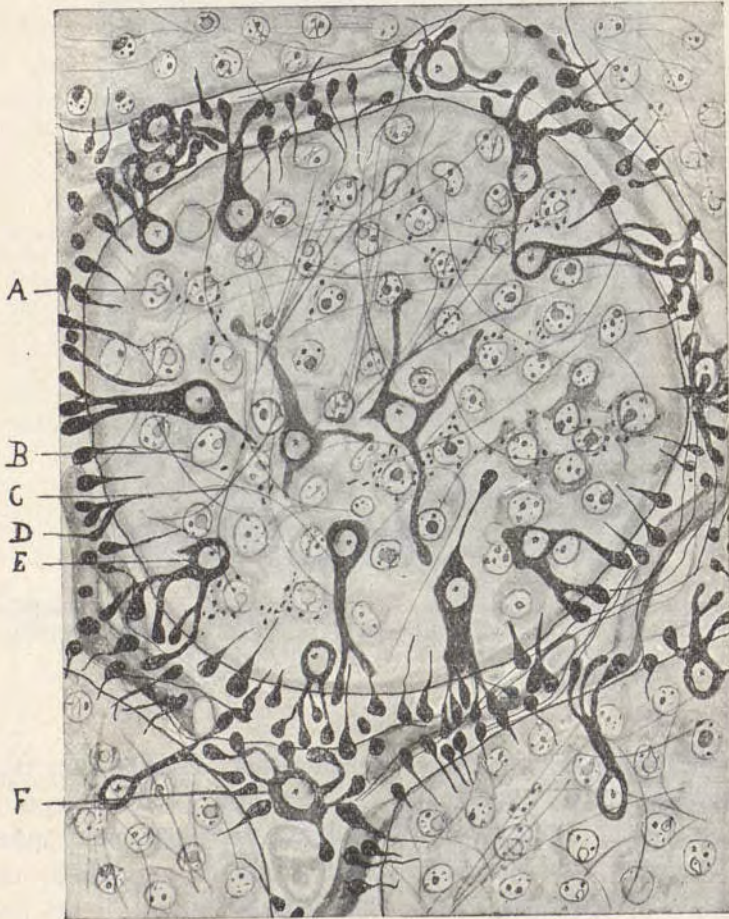


Fig. 493. — Diseño esquemático de la estructura de la glándula pineal humana. El lobulillo pineal, rodeado de los espacios perivascuales, consta de células nerviosas y de células neuróglicas; algunas encierran fibras de estas últimas y granos mitocondriales otras (según Achúcarro).

Achúcarro y el nuestro del nitrato de plata reducido (1). Demuestran estos sabios el contenido neurofibrillar de dichas células y, por tanto, su indiscutible carácter neuronal, y enseñan que sus apéndices divergentes acaban en mazas, a veces

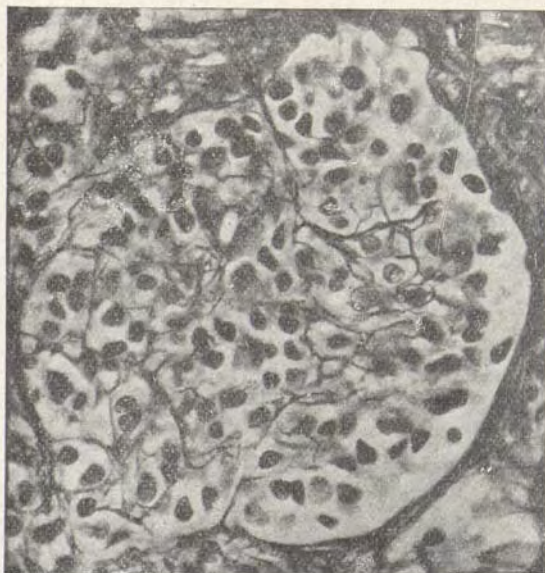


Fig. 494. — Glándula pineal humana. Método al tanino y plata amoniaca. Lobulillo pineal circunscrito por el armazón conectivo que rodea a los vasos. En el espesor del lobulillo se ve un retículo de fibras finas. (Según Achúcarro y Sacristán.)

ramificadas digitiformemente, concurriendo todas las tumefacciones finales sobre las paredes vasculares. Créanse de este modo vastos sistemas de empalizadas nerviosas pericapilares, de cuya disposición da idea el esquema tomado de un trabajo de Achúcarro (1914). Otro factor indubitable del parénquima de la epífisis es la neuroglia, que Achúcarro ha im-

(1) Achúcarro y Sacristán: Zur Kenntnis der Ganglienzellen der menschlichen Zirbeldrüse. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, 1913. Recientemente Hortega ha estudiado las singulares mazas de las citadas células (1923).

pregnado bien, tanto con su método como por el del sublimado-oro (fig. 493). Entre los astrocitos parecen dominar los de tipo fibroso.

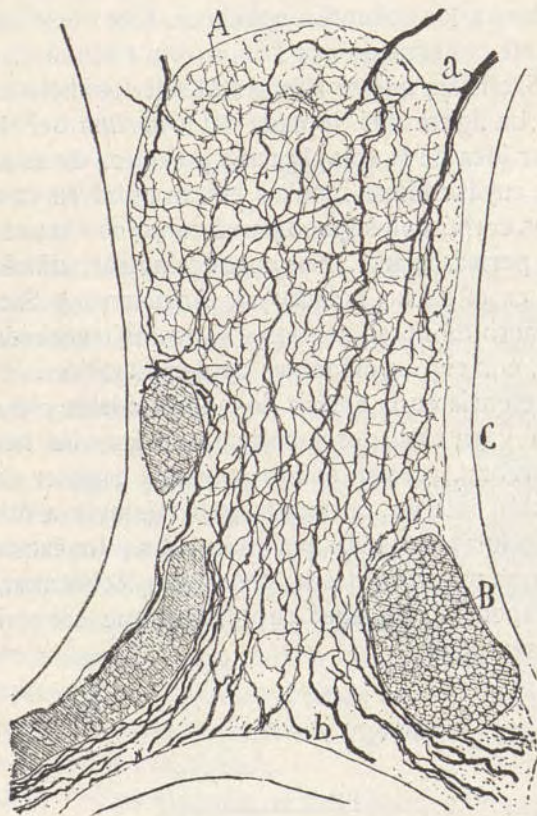


Fig. 495. — Corte frontal del conarium del ratón. (Método de Golgi.) A, plexo intersticial; a, fibras simpáticas que llegan por lo alto; b, fibras arribadas con las arterias inferiores; B, corte de un vaso venoso; C, corteza cerebral interhemisférica.

b) La *trama conectivovascular* es abundante. Además de los capilares aparecen en este estroma leucocitos, células pigmentarias redondas y ramificadas, fibras elásticas, y, sobre todo, un denso retículo intersticial, coloreable por el proceder de Achúcarro, según aparece en la figura 494.

c) Finalmente, un *plexo nervioso intersticial* densísimo, de origen simpático (Henle, Cajal), llegado al parénquima con los repliegues de la *pia*, se esparce por el estroma, aplicándose íntimamente a los acúmulos epitelícos. Este plexo ha sido modernamente confirmado por Dimitrowa, Cionini, Zanca, Achúcarro y Sacristán, que se han servido de los métodos neurofibrilares. La figura 495, tomada del *conarium* del ratón joven, puede dar idea de la complicación y riqueza de esta urdimbre nerviosa, cuyas últimas ramillas entran quizá en contacto, tanto con los corpúsculos glandulares como con las neuronas estrelladas perivasculares. Fenómeno singular, difícilmente explicable, es el hecho notado por Achúcarro y Sacristán, del gran número de fibras nerviosas varicosas o acabadas en bolas colosales, con signos evidentes de degeneración.

La presencia en la epífisis de tan formidable plexo nervioso simpático y su total desvinculación de las vías nerviosas de origen cerebral, prestan sólido apoyo al carácter de glándula de secreción interna, atribuída generalmente a este órgano, Pero las células nerviosas perivasculares y los factores neuróglícos, cuyas mitocondrias ha observado Achúcarro, ¿qué papel desempeñan? He aquí problemas que sólo el porvenir podrá desentrañar.

CAPÍTULO XVI

TEJIDO VASCULAR

El tejido vascular es la trama especial de que están construídas las paredes de los tubos sanguíneos y linfáticos. En esta trama se asocian, en proporciones varias para cada especie vascular, tres tejidos simples: el epitelial, el conjuntivo y el muscular. El principal de tales factores es el epitelial, que jamás falta, constituyendo una membrana continua consigo misma, a la manera del endotelio de las serosas. Sobre esta membrana fundamental, y en aquellos parajes en que los tubos sanguíneolinfáticos reclaman mayor resistencia, elasticidad o contractilidad, se depositan estratos de tejido conectivo y muscular que complican la simplicidad originaria.

El sistema vascular comprende tres variedades histológicas: el *tejido capilar*, el de los *vasos gruesos* (venas y arterias) y el de los órganos glanduloides *vásculosanguíneos* o *vásculolinfáticos* (bazo y ganglios linfáticos).

CAPILARES. — Los capilares se distinguen en sanguíneos y linfáticos.

Sanguíneos. — Los sanguíneos son tubos delgados, ordinariamente microscópicos, residentes en la trama de los órganos que enlazan las raicillas venosas con las últimas ramitas arteriales, y llevan el líquido nutritivo a la intermediación de las células.

Los capilares se entremezclan a todos los tejidos, excepto al cartilaginoso y al epitelial. Yacen comúnmente a cierta distancia de las células, envueltos en una ganga conectiva. El *diámetro* de estos órganos varía mucho en los diversos tejidos, y según el estado de plenitud o de vacuidad, pues se atemperan

a la cantidad de sangre que los atraviesa; puede evaluarse, sin embargo, en 8 a 30 μ . Los capilares más delgados residen en el pulmón, retina y tejido muscular, y los más gruesos en el hígado, tejido óseo, etc. La *forma* del capilar es la de un cilindro más o menos aplastado. A veces, la superficie se presenta abollada, con ensanchamientos cavernosos (capilares de los ganglios nerviosos y de los músculos rojos del conejo).

Los capilares se anastomosan en su itinerario, constituyendo redes cuya forma recuerda la disposición de los elementos histológicos a que se asocian. La angostura de la malla guarda relación con la actividad funcional del tejido: los más activos, como el glandular, nervioso y muscular, poseen redes apretadas y próximas a las células, mientras que los pasivos, como el óseo, fibrocartilaginoso, tendinoso, etc., presentan mallas amplias y escasos capilares.

Visto un capilar al microscopio, después de coloreado por el carmín, nos presenta el aspecto de un tubo hialino, homogéneo y sembrado de núcleos elipsoideos y aplastados. Para percibir los límites celulares y persuadirse de que cada núcleo corresponde a una individualidad celular, es preciso recurrir al nitrato de plata, que tiñe el cemento de unión, presentándonos campos irregularmente romboidales con el eje mayor paralelo al del capilar.

En los capilares delgados toda la estructura consiste en esta membrana endotelial, pero en los gruesos hay, además, por fuera del epitelio, una capa de materia amorfa sembrada de núcleos (*túnica adventicia capilar*).

Observaciones de Kolosow parecen establecer la existencia, entre las células endoteliales, de filamentos de comunicación. Entre ellos, el cemento flojo y distensible dejaría pasar fácilmente los glóbulos blancos de la sangre. Por lo demás, estos puentes habían sido ya sospechados por nosotros hace muchos años. Véase nuestro *Manual de Histología*, página 236, 1885.

Los estudios de Ebbecke (1914), Cotton, Slade y Lewis (1917), Dale y Richards (1918) y Krogh (1918) demostrando por diferentes caminos la independencia en la contracción de los capilares con relación a las arteriolas y resucitando experimentos de Roy y Graham-Brown (1879) y Steinach

y Kahn (1903) han llamado la atención sobre una antigua observación de Rouget (1873); para este sabio existirían en torno de los capilares núcleos alargados, en la dirección del vaso, con un protoplasma provisto de expansiones que abarcan el capilar; considera tales células semejantes a las musculares lisas de los vasos mayores. S. Mayer (1902) volvió a ver estas células con la coloración vital, con el azul de metileno, y, finalmente, Vimtrup (1922) ha repetido las observaciones de Mayer y hasta parece haber sorprendido el cambio de forma durante la contracción.

Linfáticos. — Éstos son más gruesos e irregulares que los sanguíneos y constituyen también redes complicadas yacentes en el espesor de los tejidos. La *forma* del capilar es irregularmente cilíndrica, con numerosas dilataciones y estrecheces. De la red emergen muchas veces, en sentido perpendicular al plano de la misma, expansiones prolongadas y terminadas en fondo de saco, como sucede, por ejemplo, en las vellosidades del intestino. Las redes linfáticas se entremezclan ordinariamente a las sanguíneas, pero a menudo, en ciertas mucosas, aquéllas ocupan un plano distinto y más superficial que éstas (figura 496).

No todos los tejidos poseen capilares linfáticos; los más ricos en éstos son los tejidos glandular y conectivo, y singularmente el que constituye el dermis de todas las mucosas y serosas. Es dudosa la existencia de linfáticos en los tejidos óseo, nervioso y fibrocartilaginoso y en el interior de los músculos voluntarios; con mayor razón faltarán en los epitelios y tejido cartilaginoso hialino, que carecen de vasos sanguíneos. Las membranas fibrosas, tales como el periostio, aponeurosis y pericondrio, los contienen, aunque en pequeña cantidad.

Las citadas redes constituyen el origen verdadero de los vasos linfáticos, no existiendo las comunicaciones directas con las serosas, lagunas conectivas, espacios perivasculares del sistema nervioso, etc., que ciertos autores han descrito, dando por seguro que el sistema linfático es la continuación de las grandes cavidades esplácnicas e intersticiales. Dichas redes de origen alójanse entre los elementos histológicos, y desaguan, tras curso más o menos largo, en vasos linfáticos más gruesos, también anastomosados, caracterizados por las válvulas que presentan en su curso y por su aspecto moniliforme. En fin, de

la reunión de estos vasitos nacen los tallos más robustos que acompañan a las arterias y venas. La estructura de los capilares linfáticos es idéntica a la de los sanguíneos: constan también de una membrana endotelial delgada y sumamente dilatable; el contorno de las células que la forman es notablemente flexuo-

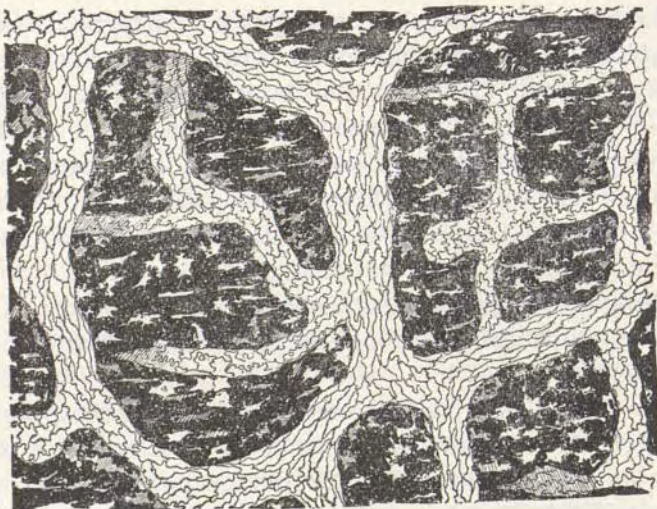


Fig. 496. — Red linfática de la cara superior del centro frénico del conejo. Impregnación con el nitrato de plata, previo pincelamiento del endotelio pleural. El fondo negro fórmanlo los haces conectivos, y en él resaltan multitud de células estelares del tejido conjuntivo sub-epitelial.

so, como dentellado, carácter que las distingue de las endoteliales sanguíneas (fig. 496). Algunos autores suponen que estos dentellones sólo se ven en las células epiteliales retraídas o, en otros términos, en los capilares vacíos (Klein y, recientemente, Muscatello).

Desarrollo de los capilares. — Cuando se observan al microscopio las expansiones membranosas de la cola de renacuajo o el epiplón mayor de un conejo o gato recién nacidos, se advierten, al lado de redes capilares completas, otras que se hallan en vías de formación. El nuevo capilar nace siempre de

uno preexistente, y se inicia bajo la forma de una expansión protoplasmática sólida, nacida, en ángulo casi recto, del plano de un corpúsculo endotelial (fig. 497, A). Esta expansión, que se parece a una espina en sus comienzos, crece rápidamente hasta juntarse con algunas de las llegadas en dirección opuesta;

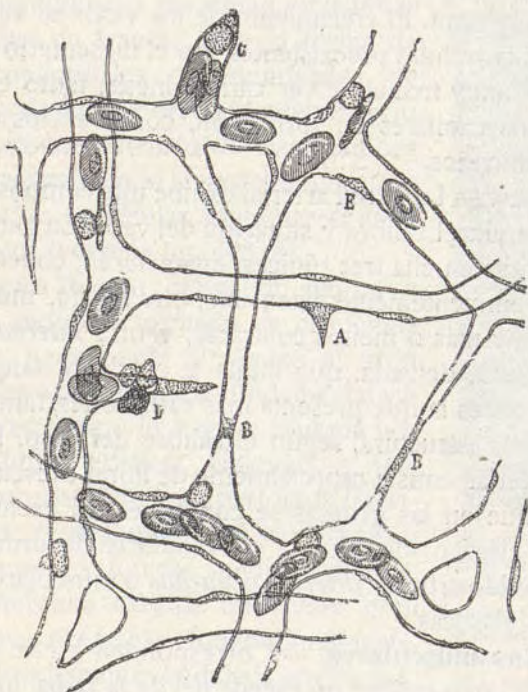


Fig. 497. — Capilares sanguíneos en vías de crecimiento de las expansiones membranosas de la cola del renacuajo. Examen en vivo; A, punta de crecimiento; B, puentes protoplásmicos sin ahuecar; D, punta de crecimiento por donde se extravasa un hematíe y dos leucocitos.

fórmase así un cordón intervascular, primero sólido, pero que no tarda en ahuecarse a impulsos de la corriente sanguínea que bate insistentemente sus extremos.

Todas las fases de este curioso proceso se pueden observar en una misma preparación; así, se ven a menudo cordones canalizados a medias, es decir, tabicados aún por un tapón pro-

toplasmático que tiembla a impulsos de la corriente (fig. 497, *B*) y numerosas puntas más o menos macizas (*A*, *C*), algunas de las que (*D*), por consecuencia de la blandura de la pared, dejan escapar algunos leucocitos y hematíes. Terminada la canalización, se individualiza el protoplasma, segmentándose en territorios endoteliales, cada uno de ellos correspondiente a un núcleo del cordón. El crecimiento de los vasos se verifica por escisión de las células preexistentes. En el mesenterio y epiplón del gato es muy frecuente ver carioquinesis, tanto en los núcleos de los capilares en formación, como en los completamente terminados.

ARTERIAS. — La pared arterial exhibe una composición algo variable, según el calibre y situación del vaso. En general, pueden admitirse en ella tres túnicas: una *externa*, conectiva o adventicia y eminentemente extensible; otra *media*, músculoelástica, friable y más o menos contráctil, y otra *interna*, elástico-endotelial, lisa, delgada, que limita la corriente sanguínea. La túnica media es la que presenta más variaciones, tanto en espesor como en estructura, según el calibre del vaso. En las pequeñas arterias consta especialmente de fibras musculares lisas, mientras que en las gruesas se compone casi exclusivamente de tejido elástico; de aquí la conveniencia de distinguir dos tipos de tejido arterial: *arterias pequeñas* o musculares, *arterias gruesas* o elásticas.

Arterias musculares. — Corresponden a este tipo todas las arterias cuyo calibre no excede del de la radial (pedia, radio palmar, facial, hepática, etc.).

La *túnica externa* consta de fascículos conjuntivos orientados en todas direcciones, pero principalmente en la perpendicular al eje del vaso. Los fascículos están separados por células conectivas aplanadas y por numerosas redes elásticas, que se concentran particularmente en la parte más interna de la adventicia. Las fibras elásticas se orientan en gran parte transversalmente al eje vascular, por lo que aparece en los cortes transversales bajo la forma de un punteado brillante (figura 498, *d*). En algunas arterias (dorsal del pene, esplénica, mesentérica, renal, uterina, etc.), ofrece también la túnica exter-

na algunas fibras musculares lisas, longitudinalmente dispuestas.

La *túnica media* está construída por un cemento homogéneo o ligeramente estriado, en cuyo seno hállanse englobadas algunas redes elásticas finas y, sobre todo, un considerable número de fibras musculares lisas transversalmente orientadas. Los cortes longitudinales presentan estas fibras seccionadas de través, bajo la forma de campos poligonales o redondeados, de extensión desigual e irregularmente agrupados. Los más extensos de estos campos (que corresponden a la porción gruesa o ecuatorial de las células musculares) exhiben núcleos (véase la fig. 498, *b*).

La *túnica interna* ofrece de dentro a fuera: el endotelio formado de elementos laminares ligeramente abultados al nivel del núcleo; una substancia fundamental vagamente estriada a lo largo y cruzada por algunas fibras elásticas delicadas, y una membrana elástica gruesa, perforada (*membrana fenestrada*), que sirve de valla separatoria entre las túnicas media e interna. Esta membrana elástica, que tiene gran tendencia a plegarse longitudinalmente, aparece fuertemente ondulada en los cortes transversales.

Arterias elásticas. — A este tipo corresponden todas las gruesas, desde el calibre de la humeral en adelante.

La *adventicia* se presenta en estas arterias rica en tejido conjuntivo y fibras elásticas. Entre los haces más externos alójanse a menudo células adiposas y vense acá y acullá algunos capilares sanguíneos (*vasa vasorum*). Las fibras elásticas se concentran a veces en tan gran número junto a la túnica media, que casi se justifica su individualización en una nueva capa (*elástica* de Henle).

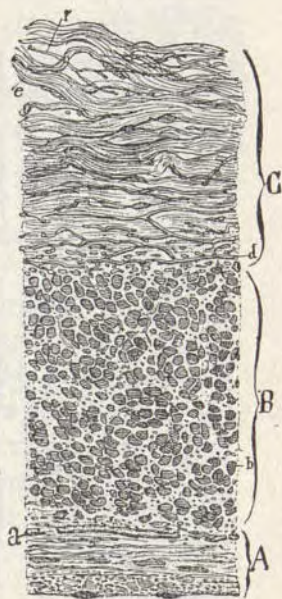


Fig. 498. — Corte longitudinal de la arteria facial; A, capa interna; B, capa media; C, capa externa; a, membrana elástica perforada; b, corte de una fitro-célula muscular; d, fibras elásticas de la capa externa; e, fascículos conectivos de la capa externa.

La *túnica media* es notablemente espesa, constituyendo en gran parte la pared vascular. En ella se advierte, a más de la materia amorfa ya mencionada y las redes elásticas entremez-

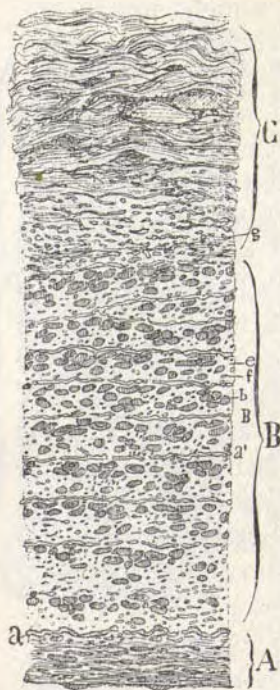


Fig. 499. — Corte longitudinal de la arteria subclavia; A, capa interna; B, media; C, externa; a, membrana elástica más interna; a', membranas elásticas más delgadas de la capa media; b, fibra muscular cortada de través; e, materia amorfa; f, sección de una fibra elástica; g, fibras elásticas de la capa externa.

cladas de escasas fibras musculares transversales, multitud de membranas elásticas fenestradas, gruesas, dispuestas concéntricamente, pero a cierta distancia, limitando espacios anulares rellenos por los otros elementos (fig. 499, a). Cuanto mayor es el calibre de la arteria, más abundan las membranas y las fibras elásticas y menos los elementos contráctiles. Según Bardeleben, a más de las fibras musculares transversales, hallaría-se también en el límite interno de esta túnica un estrato longitudinal de las mismas.

La *túnica interna* ofrece espesor mucho mayor que en las pequeñas arterias y comprende de dentro a afuera: primeramente, el endotelio; más hacia afuera, una zona espesa, finamente estriada a lo largo con todo los caracteres de los fascículos conjuntivos: en ella yacen sumergidas células estrelladas, análogas a las corneales, provistas de un núcleo alargado u ovoideo (*capa subepitelial, porción estriada* de la *interna* de Kölliker); más hacia afuera adviértense numerosas fibras elásticas finísimas y dispuestas en redes de mallas longitudinales, y por último, en contacto con la túnica media hállase la membrana elástica fenestrada, que se distingue de las de aquella por su mayor robustez y por sus plegaduras longitudinales (fig. 499, a).

VENAS. — Consta también la pared de estos vasos de tres

túnicas, cuya disposición, a diferencia de la de las arterias, varía poco con los distintos calibres. En cambio, puede afirmarse que cada vena, por razón de su posición y de las particulares funciones que desempeña, presenta una estructura particular.

En general, cabe afirmar que la *túnica adventicia* es la más gruesa e importante, componiéndose de fascículos conectivos, redes elásticas y algunas fibras musculares longitudinales; que la *media* consta de substancia amorfa cruzada por redes elásticas y escasas fibras musculares transversales, y que la *interna* resulta de la asociación de un endotelio de células alargadas, con una materia estriada a lo largo y algunas redes elásticas delicadas.

GANGLIOS LINFÁTICOS. — Son órganos globulosos u ovoideos, de consistencia perenquimatosa, situados en el trayecto de los vasos linfáticos gruesos y especialmente constituídos de tejido citógeno o adenoideo.

Cuando se examina al microscopio un corte ganglionar previamente descargado, a beneficio del pincel, de los leucocitos que llenan sus espacios cavernosos, se nota que toda la trama ganglionar se reduce a dos partes: el *estroma conjuntivo* y las *formaciones citógenas*.

Estroma. — Imagínese una cápsula conjuntiva rodeando completamente el ganglio, de la cual parten interiormente trabéculas fasciculadas, ya acintadas, ya cilíndricas, divididas y subdivididas repetidas veces para separar un sistema de cavidades irregulares ampliamente comunicantes entre sí. Semejantes trabéculas, que están construídas de fascículos y células iguales a las del tejido conectivo laxo, son más gruesas y hállanse más distantes unas de otras en la región cortical del ganglio, donde alojan las prolongaciones más voluminosas del tejido citógeno (folículos linfáticos). A menudo está el estroma reforzado por fibras musculares lisas, y siempre encierra fibras elásticas y arterias y venas voluminosas (fig. 500, A).

Substancia adenoidea. — La formación citógena o adenoidea yace en las cavidades del estroma, constituyendo un sistema de cordones irregulares, macizos y anastomosados entre sí, los cuales, después de llenar casi todo el espesor del ganglio,

se terminan en la zona cortical por gruesas dilataciones libres, de forma globulosa o piriforme. A las expansiones citógenas anastomosadas del centro ganglionar se las conoce con el nombre de *cordones medulares*, y con el de *folículos linfáticos*, o el de *nódulos corticales*, a las porciones libres ensanchadas

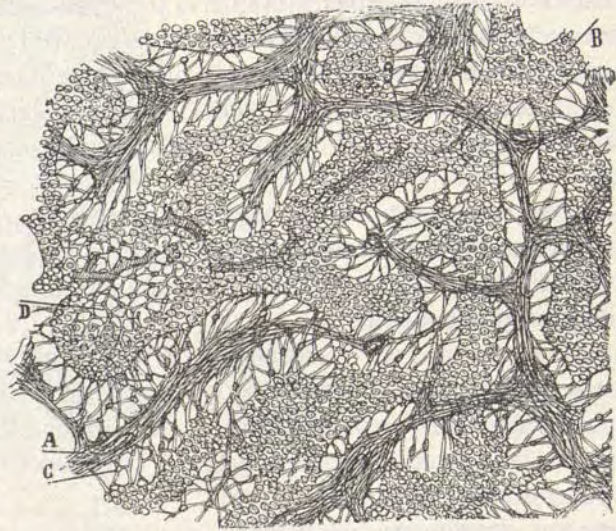


Fig. 500. — Corte, tratado por el pincel, de la región medular de un ganglio de carnero; A, tabique conjuntivo o del estroma; B, cordón medular anastomosado en red; C, fibras conectivas del sistema de suspensión; D, red filamentosa de un cordón medular en que el pincel arrastró casi todos los elementos englobados en ella.

de la misma substancia resistentes en la zona cortical. El diámetro de los folículos oscila generalmente entre 0,5 y 1 mm., y el de los cordones medulares entre 0,02 y 0,1. Existen, por lo demás, grandes variantes de dimensión en los diversos animales. El centro de los folículos generalmente aparece más claro por estar formado preferentemente sólo de retículo y células formadoras de leucocitos, por lo que se llaman *centros germinativos*.

La trama de los folículos linfáticos, así como la de los cordones medulares, está formada, en todo su espesor, de tejido

citógeno (véase la página 355 y siguientes), es decir, de una fina red conectiva, cuyas mallas están rellenas por corpúsculos redondeados. Contiene, además, numerosos capilares sanguíneos, cuyas paredes espesas, reforzadas por una túnica adventicia, reciben la inserción de los finos fascículos citógenos.

Espacios linfáticos. — Entre el estroma y las masas citógenas descritas existen unos espacios cavernosos, continuos en todo el grosor del ganglio, en los cuales desaguan los linfáticos aferentes y toman origen los eferentes. La disposición de estas oquedades es tal, que, a pesar de su complicada extensión, jamás las trabéculas del estroma tocan las formaciones adenoideas. A fin de conservar una situación siempre central en las lagunas del armazón, las partes citógenas hállanse sostenidas por delicadas trabéculas de tejido conjuntivo, las cuales, partiendo de la superficie de los folículos y de los cordones medulares, con cuya delicada red conectiva se continúan, vienen a insertarse y perderse en los haces conjuntivos del estroma. Este sistema de *suspensión*, unas veces está representado por fascículos rectos, insertos casi perpendicularmente en las superficies próximas del estroma y cordones citógenos, y otras por hacecillos ramificados, y aun anastomosados en red de flojas mallas (véase la figura 500, C). Cada uno de estos finos fascículos, así como todas las superficies limitantes de los espacios linfáticos, se hallan revestidos de un delicado endotelio, como se muestra claramente en los ganglios linfáticos inyectados con nitrato de plata. Los núcleos que se advierten pegados a las trabéculas del *sistema de suspensión* en los cortes pincelados de ganglio pertenecen a las células endoteliales que las revisten. Por lo demás, este endotelio es simple continuación del de los vasos linfáticos aferentes y eferentes, como los espacios que limitan representan también una verdadera dilatación cavernosa de la cavidad de los mismos.

El ganglio posee generalmente una disposición reniforme. Por el lado de la convexidad penetran en número de dos a cuatro los vasos linfáticos aferentes y por la depresión o íleo ganglionar emergen los eferentes, que son siempre menos numerosos. La corriente linfática se derrama primero en el siste-

ma cavernoso perifolicular, arrastra a su paso muchos de los elementos citógenos que quizá atravesaron, merced a sus movimientos activos, el endotelio de los cordones adenoideos, y alcanzan, por fin, concentrándose, la región del íleo y la cavidad de los linfáticos eferentes (fig. 501, *F*).

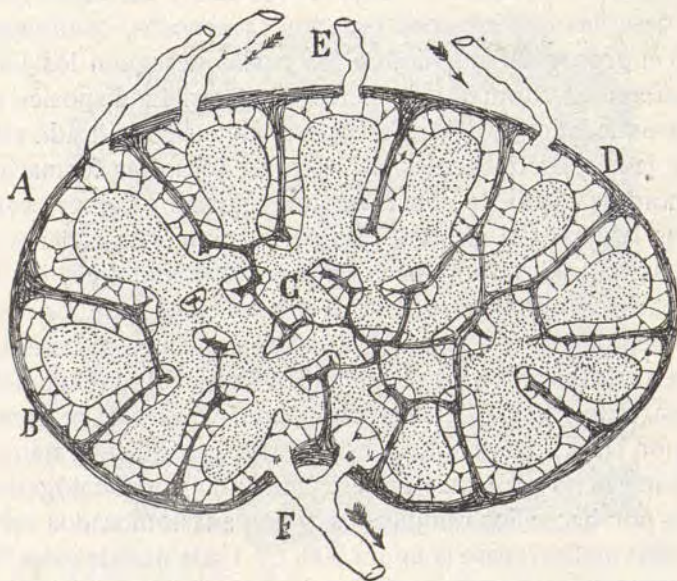


Fig. 501. — Esquema de la estructura del ganglio linfático y de las relaciones de éste con los vasos aferentes y eferentes; *A*, cápsula y tabiques conectivos; *B*, folículos de tejido citógeno; *E*, vasos linfáticos aferentes; *F*, vaso linfático eferente; *C*, cordones linfáticos de la sustancia medular.

BAZO. — Esta víscera consta también muy principalmente de tejido citógeno, sólo que sus trabéculas, en vez de estar, como en los ganglios, bañadas por la corriente linfática, lo son por la sanguínea. De aquí el nombre de *glándula linfáticosanguínea* que le dió Frey.

Estroma. — Está representado, en primer término, por una cubierta de tejido conectivo laxo (fig. 502, *C*), entremezclado de fibras elásticas y reforzado por elementos musculares lisos, la cual, después de aferrar todo el órgano, se continúa al nivel

del íleo con las túnicas adventicias de los vasos esplénicos. De la superficie interna de la cápsula parten trabéculas conectivas (figura 502, *T* y *T'*), que se ramifican y anastomosan entre sí, limitando un sistema de cavidades comunicantes, donde se alo-

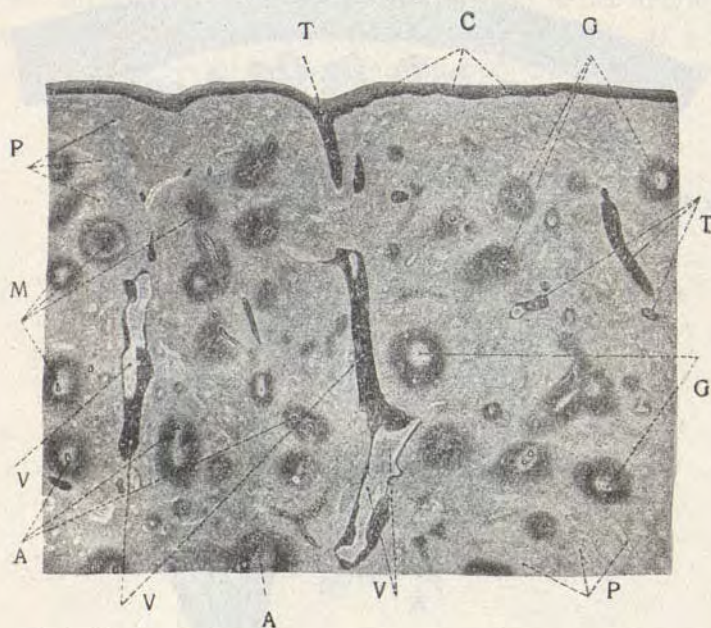


Fig. 502. — Bazo de un ajusticiado de 22 años. (Tomada de Sobotta; *C*, cápsula; *T*, arranque de una trabécula; *T'*, trabéculas seccionadas; *V*, trabéculas con venas; *P*, pulpa; *M*, corpúsculos de Malpighio; *G*, centros germinativos de los corpúsculos; *A*, arteria central del corpúsculo.

jan los elementos de la pulpa o barro esplénico. Estas trabéculas, que conducen las arterias y venas (fig. 502, *V*) desde el íleo, encierran también fibras conectivas, musculares y elásticas. Las fibras musculares de las trabéculas abundantes en el perro y gato son raras en el hombre.

Pulpa. — Rellena todos los grandes huecos existentes entre las trabéculas (fig. 502, *P*) y aparece en la sección del órgano como una sustancia blanda, rojoparduzca. En ella habremos de considerar las ramificaciones arteriales con los corpúsculos de Malpighio, los senos venosos y los cordones.

Al penetrar en la pulpa las ramas de las *arterias* trabeculares (sígase el esquema de la fig. 503) van envueltas en una vai-

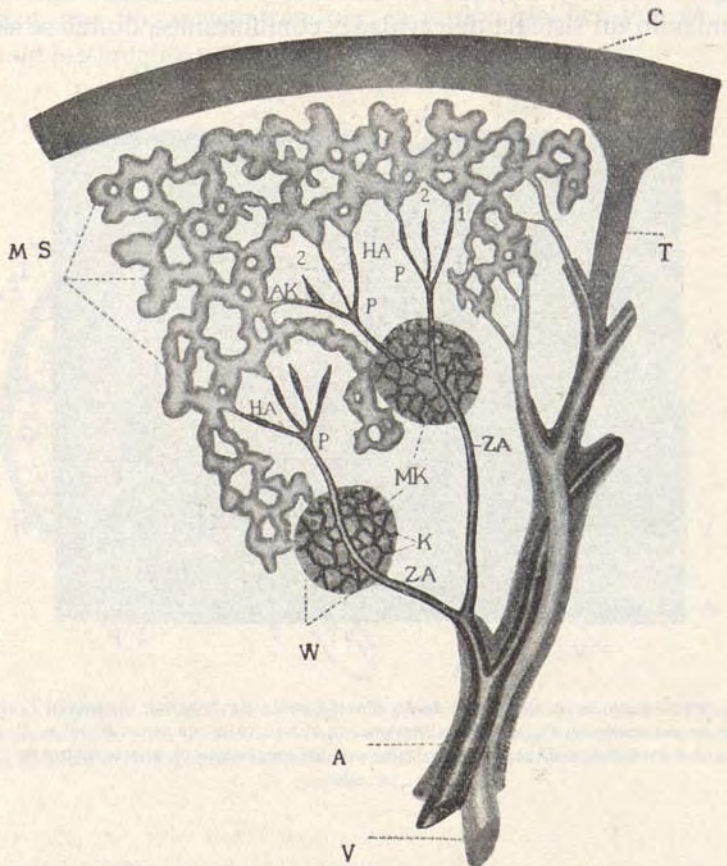


Fig. 503. — Esquema del bazo humano de Szymenowicz; A, arteria, y V, vena en una trabécula central del corpúsculo de Malpighio MK; P, arterias *peniciladas*; HA, arterias con vaina; AK, capilares arteriales que terminan en los senos 1 o en las mallas del retículo 2; MS, senos venosos; W, pulpa blanca.

na conectiva (A); pero en cuanto su calibre desciende a 1 ó 2 décimas de milímetro, la adventicia se carga de leucocitos, tomando el aspecto del tejido adenoide; en los roedores (cavia), el tejido adenoide forma una vaina continua a lo largo de la

arteria, pero en el hombre y otros animales es discontinua, constituyendo de trecho en trecho unos engrosamientos esféricos o fusiformes de 0,2 a 0,7 mm., llamados *corpúsculos de Malpigio (MK)*, que en los cortes pueden compararse en un todo con los folículos linfáticos, mostrando en su interior la sección del vaso a que pertenecen (fig. 502, A y 504, a), y con frecuencia un centro germinativo (fig. 502, G). En su espesor,

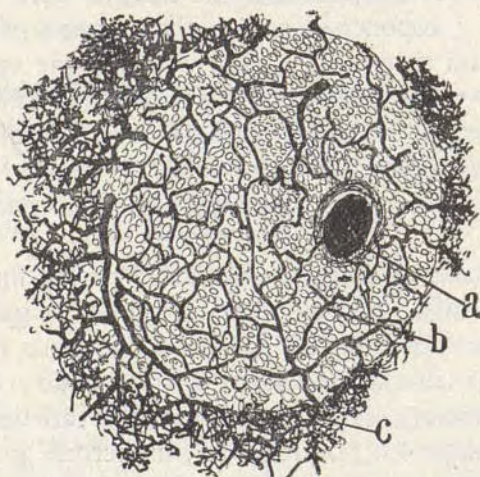


Fig. 504. — Corte de un corpúsculo de Malpigio del bazo del conejo. Inyección vascular por el carmin.

la arteria emite ramas que engendran una red capilar continua en la periferia del corpúsculo con la del retículo. Después de los corpúsculos, las arterias continúan su camino, dividiéndose repetidamente para formar las arterias *penicilneas* (fig. 503, P), que poco antes de terminarse refuerzan su adventicia con fibras longitudinales, formándose una vaina poco extensible (figura 503, HA). Las últimas ramificaciones se continúan con los senos venosos o con el retículo de la pulpa.

Los *senos venosos* (venas capilares de otros autores; figura 503, MS) constituyen un sistema de lagunas sanguíneas anastomosadas unas con otras en forma de red apretada, que ocupa

una gran parte de la pulpa, estando rellenas las mallas por los cordones del retículo y originándose de este modo dos redes que se adaptan entre sí, de modo que no quedan espacios. De los senos surgen las venitas que llevan la sangre a las venas trabeculares. Las células endoteliales que los tapizan tienen un núcleo saliente en el seno envuelto en protoplasma y en la pared se alargan en forma de bastones estriados, que para algunos serían contráctiles; por fuera de ellas, las fibras del retículo se refuerzan y disponen en anillos. Para algunos (Weidenreich) constituyen un sistema de vasos cerrados que enlazarían las arterias y las venas, mientras que para otros (Mollier) las paredes formadas por el propio retículo serían incompletas, existiendo amplias comunicaciones entre los senos y el retículo, que podrán disminuir o aumentar según el estado de contracción.

Los *cordones de la pulpa* (fig. 502, P) están formados por un retículo celular y fibroso, semejante al de los ganglios linfáticos. En él se encuentran los siguientes elementos, que al exprimir los cortes salen con la sangre, constituyendo el *barro* esplénico: 1.º, hematíes; 2.º, leucocitos de todas las variedades; 3.º, restos de hematíes; 4.º, plaquetas; 5.º, numerosas granulaciones incoloras con movimiento browniano, para unos, restos de hematíes y para otros, fases de formación de las plaquetas; 6.º, células gigantes, y, por último, en los jóvenes y después de pérdidas sanguíneas, eritroblastos y hematíes nucleados.

Todos estos elementos tienen gran semejanza con los de la médula ósea, y no parece aventurado suponer que en el bazo, como en esta última, se engendran glóbulos rojos y algunos tipos de leucocitos. Pero al lado de esta actividad creadora hay que admitir una función de destrucción y desintegración de los hematíes. Pruébanlo la gran cantidad de pedazos hemoglobínicos que pululan por el barro esplénico y la existencia constante de leucocitos portadores de desechos globulares.

CAPÍTULO XVII

TEJIDO TEGUMENTARIO

Desígnase *tejido tegumentario* a la trama membranosa que reviste las superficies limitantes del organismo, y que resulta de la mezcla del tejido epitelial con el conectivo y vascular.

Es preciso distinguir desde luego dos clases de tegumentos: el *cutáneo* y *el de las mucosas*.

PIEL

La piel es una cubierta elástica, semitransparente, que tapiza las superficies exteriores del cuerpo y se continúa con las mucosas o tegumento interno, al nivel de las aberturas naturales.

El color de esta membrana varía según las razas, desde el negro al blanco, pasando por el moreno y el amarillento. El espesor del tegumento es también harto variable: delgado en la mejilla, brazo, pene, etc., alcanza algunos milímetros de espesor en la planta del pie y pulpejo de los dedos. Sus superficies no son lisas: la externa, aparte de los pelos y del lanugo que la erizan, exhibe numerosas eminencias circuidas por surcos poligonales; en la planta del pie y palma de la mano las elevaciones superficiales adquieren disposición de crestas paralelas u ondeadas, en cuyas cúspides se advierten los orificios de las glándulas sudoríparas.

Por su cara interna, la piel se adhiere íntimamente a las aponeurosis, cartílagos y huesos, menos en ciertos sitios en que aparece como despegada de estos órganos, mediante extensas cavidades serosas (*boisas serosas subcutáneas*).

Examinando un corte perpendicular de la piel, se advierten, aun a simple vista, dos zonas: una semitransparente y superficial, el *epidermis*; otra más opaca y gruesa, el *dermis* o *corion*.

a) **Dermis.** — Esta formación resulta de la agregación y entretejimiento del tejido conectivo, los vasos sanguíneos y linfáticos, las glándulas sudoríparas y sebáceas y los folículos pilosos. El principal factor es el tejido conectivo laxo, el cual, por ofrecer densidad diversa en sus distintos planos, se ha dividido en dos estratos: *dermis superficial* y *tejido conectivo subcutáneo*. Este último contiene comúnmente en sus mallas células adiposas, y toma la designación de *panículo adiposo* (véase *tejido adiposo*).

Dermis superficial. — Consta de hacecillos conectivos orientados en todos sentidos, aunque dominando el perpendicular a la piel. Entre estos hacecillos yacen las células fijas y emigrantes, y una gran cantidad de fibras elásticas, ya sueltas, ya anastomosadas, fácilmente revelables por el ácido acético.

El *dermis superficial* se subdivide en *papilar* y *reticulado*, es decir, en externo e interno.

El *dermis papilar* ha recibido esta designación por las papilas que accidentan su cara externa en contacto con el *epidermis*. Las papilas son elevaciones mamelonadas (fig. 505, c), ora simples, ora compuestas, es decir, formadas por un grupo de pezoncitos sostenidos en un pedículo común, las cuales están construidas por un tejido conectivo fino y apretado, donde se distribuyen la mayor parte de los vasos y nervios de la piel. Divídense las papilas en vasculares y nerviosas, según que contengan un asa capilar o un corpúsculo de Meissner. La longitud de tales apéndices oscila entre 200 μ (planta del pie, palma de la mano, glande) y 35 a 40 μ (cara, nariz, etc.); su posición no pocas veces es seriada, dejando intervalos lineales correspondientes a los surcos de la piel.

El *dermis reticulado* posee una textura más floja, dependiente de la mayor longitud de los haces, así como de la relativa holgura de las lagunas conectivas. Esta zona, casi desprovista de capilares y de nervios, posee muchas fibras elásticas y

sirve de lazo de unión entre el dermis papilar y el tejido conectivo subcutáneo (fig. 505, C).

El dermis papilar es sumamente vascular: la base de las papilas ofrece una red capilar de anchos vasitos, de la cual surge

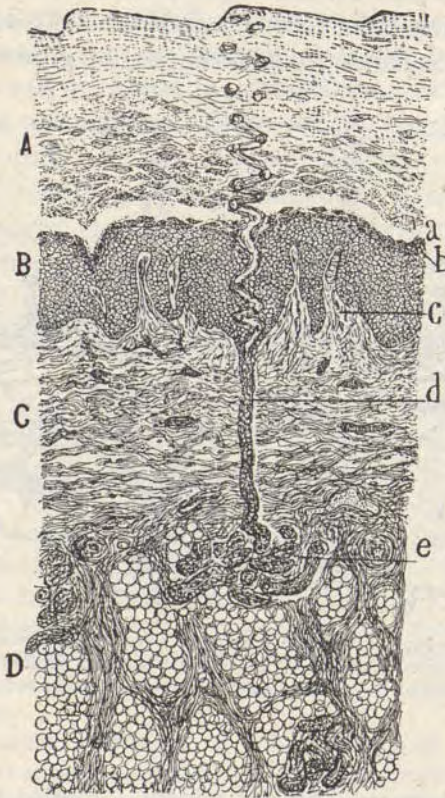


Fig. 505. — Corte perpendicular de la piel del pulpejo de un dedo. A, epidermis córneo; B, cuerpo de Malpigio; C, dermis superficial; D, tejido conectivo subcutáneo con lóbulos adiposos; a, estrato lúcido; b, zona granulosa; c, papila; d, conducto excretor de una glándula sudorípara; e, glomérulo terminal de ésta.

un asa para el espesor de aquellas elevaciones; por debajo de la red sanguínea reside la terminal linfática, enlazada inferiormente con otra red más laxa y de vasos más gruesos, yacentes en el corion reticular o profundo. Un capilar linfático, termi-

nado superiormente en fondo de saco, se prolonga hasta la mitad de la altura papilar.

Tejido conectivo subcutáneo. — Se compone de gruesos haces entrecruzados y de no menos amplias lagunas conectivas, que sirven para dar movilidad a la piel. En muchos puntos, estas lagunas están rellenas por lobulillos adiposos (tejido adiposo subcutáneo), y además por los glomérulos de las

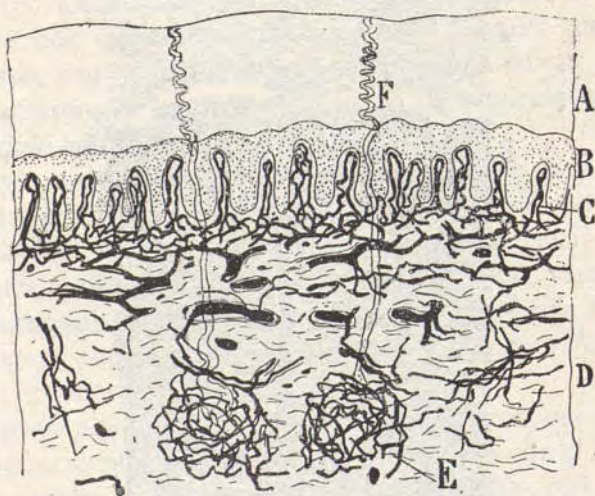


Fig. 506. — Corte de la piel del pulpejo de un dedo. Inyección por el carmin de los capilares sanguíneos. A, epidermis; B, dermis; C, capilar de una papila; D, capilares del dermis reticular; E, capilares del glomérulo de una glándula sudorípara; F, conducto excretor de la misma.

glándulas sudoríparas, bulbos pilosos y fondos terminales de las glándulas sebáceas (fig. 505, D). Cada uno de estos órganos posee una red capilar especial, continuada hacia afuera con la sanguínea del corion superficial, y hacia adentro con la tupida que rodea las células adiposas (fig. 506, E).

Epidermis. — Es la capa semitransparente, formada de tejido epitelial pavimentoso, que reviste exteriormente el dermis, con el cual se enlaza íntimamente. El epidermis rellena los huecos que resultan entre las papilas, suavizando exteriormente todas las desigualdades del corion, aunque no tanto que las

grandes series de papilas y profundos surcos del dermis no se traduzcan por elevaciones correspondientes en la superficie epidérmica.

Se compone el epidermis de dos capas principales: el *epitelio córneo*, constituido de células aplanadas exentas de protoplasma y núcleo, es decir, transformadas en queratina, y el *cuerpo mucoso* o capa de Malpigio, donde se hallan elementos epiteliales vivos provistos de protoplasma, núcleo, membrana y filamentos comunicantes. El grosor del cuerpo de Malpigio es casi uniforme, bien que algo más delgado, donde la piel es fina (labios, mejillas, párpados); mientras que el epidermis córneo varía mucho en espesor, guardando relación con la intensidad y frecuencia de los roces y presiones que tienden a desgastarlo; así, en la mejilla no pasa de 3 a 4 centésimas, en tanto que en el pulpejo de los dedos se acerca a un milímetro.

Tocante a los detalles estructurales del epitelio, nada diremos aquí; la descripción dada en las páginas 274 y siguientes nos dispensa de insistir nuevamente sobre el particular.

El color de la piel en el pezón y la areola de la mama, en el escroto, labios mayores, márgenes del ano y algunos otros sitios de los individuos de la raza blanca, débese a la presencia de granulaciones de un pigmento llamado *melanina*, en el interior de las células, del substrato profundo o germinal y del substrato medio, así como en células hipodérmicas fusiformes o estrelladas existentes en el dermis o entre las células epiteliales del cuerpo mucoso.

Este pigmento, considerado al principio como de origen hemático, transportado al epitelio por las células emigrantes, *melanoforos*, se considera hoy por muchos como de origen autóctono, es decir, formado en las mismas células epiteliales *melanoblastos*, según Bloch, por la acción de una oxidasa sobre un amino-ácido, la dioxifenilalanina (*Dopa*), que llegaría a la células desde la sangre en estado de profermento, siendo para otros procedente del núcleo (Jahrish, v. Szily), del nucleolo (Rössle) y otras sustancias.

APÉNDICES CUTÁNEOS. — PELOS. — El pelo cubre casi toda la superficie cutánea, sufriendo variaciones de color, cantidad y longitud, según la región, el sexo y la raza. Su forma es, en general, cilíndrica; en el pelo rizado es acintada. Por su longi-

tud y espesor se distinguen las variedades siguientes: 1.^a, el cabello o pelo largo, cuya longitud oscila entre 50 cm. a un metro, y que reside, sobre todo, en el cuero cabelludo; 2.^a, el pelo corto, cuya longitud no suele pasar de 3 ó 4 cm., y habita en la axila, órganos genitales, región esternal, etc.; 3.^a, el *lanugo* o vello, cuya longitud varía entre 2 a 12 mm., y reside en las mejillas, manos, brazos, etc.; 4.^a, el pestañoso o cerdo-so, representado por pelos rígidos, espesos, cortos, que bordean los párpados, forman las cejas y protegen las aberturas del oído externo y nariz.

El tejido del pelo comprende dos partes principales: el folículo o bolsa epidérmicoconectiva que lo contiene y el pelo propiamente dicho.

Folículo piloso. — Representa una bolsa formada de los mismos componentes que la piel: el *epidermis córneo*, el *cuerpo de Malpigio* y el *dermis*. De todos estos factores, sólo el epidermis córneo se continúa realmente con la raíz del pelo. Es forzoso, pues, pasar revista a estas tres formaciones cutáneas del folículo que, de fuera a dentro, son: la *capa conjuntiva*, la *vaina epitelial externa de la raíz* o cuerpo de Malpigio y la *vaina epitelial interna de la raíz* o epitelio córneo.

a) *Vaina conjuntiva.* — El tejido conectivo del dermis se prolonga alrededor del folículo piloso, constituyendo una membrana fibrosa densa, bien separada hacia afuera del tejido conectivo laxo o subcutáneo. Un corte fino de esta membrana permite reconocer tres estratos: el fibroso externo, el fibroso medio y la capa vítrea o basal.

El *estrato externo* es delgado, y consta de hacesillos conectivos, dispuestos en redes generalmente longitudinales, y cuyas lagunas contienen células conjuntivas fijas, estrelladas y en un todo semejantes, por sus expansiones y anastomosis, a los corpúsculos de la córnea. Entre los haces, y particularmente en el límite externo del estrato, se advierten muchas fibras elásticas.

El *estrato interno* es más espeso y denso que el externo; sus haces, poco aparentes, se asocian en membranas cilíndricas apretadas; las células, de núcleos alargados transversalmente,

han sido por algunos consideradas como musculares (Bonnet); en realidad, son elementos conectivos, aplastados y dotados de expansiones colorables por el cloruro de oro (fig. 507, A).

La *membrana vítrea* o basal es una capa brillante, homogénea, de 2 a 3 μ de espesor, que separa limpiamente la vaina conjuntiva de la formación epitelial del folículo; el carmín la tiñe de un rosa pálido y resiste a los ácidos y álcalis. Por arriba, la membrana vítrea se confunde con el dermis más superficial; hacia abajo, se adelgaza acabando al nivel del remate de la vaina externa de la raíz. Es probable que dicha capa vítrea represente un producto secretorio del cuerpo de Malpigio o vaina externa epitelial del folículo (fig. 507 a y 508 b).

b) *Vaina epitelial externa de la raíz*. — Con este nombre se designa una prolongación follicular del cuerpo de Malpigio o porción viva del epidermis, la cual se adelgaza de arriba abajo, hasta terminar libremente enfrente de la papila (figura 508, c). Consta de varios estratos de células granulosas, provistas de núcleo y unidas entre sí por hilos comunicantes. El estrato más externo presenta corpúsculos alargados comparables a los de la capa germinal de la piel; los estratos medios exhiben elementos poliédricos, y el interno células aplanadas, pero sin granos de eleidina. En el cabo inferior de la vaina externa, las hileras celulares se reducen a dos y luego a una, en la cual se observan signos inequívocos de atrofia.

c) *Vaina epitelial interna de la raíz* (fig. 507, C). — Es una formación epitelial diáfana, incolorable por el carmín, ávida

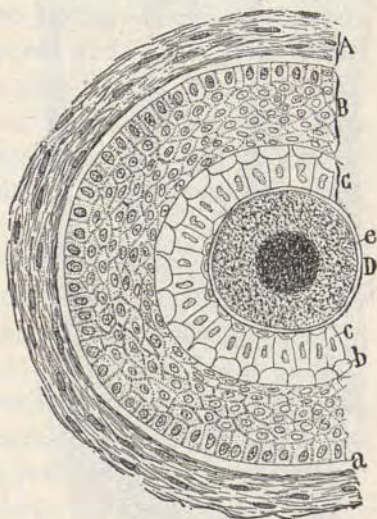


Fig. 507. — A, vaina conectiva del folículo piloso; B, vaina externa de la raíz; C, vaina interna de la misma; D, pelo; a, membrana vítrea o basal; b, vaina de Henle; c, vaina de Huxley.

del ácido pícrico y continuada con la zona córnea del epitelio cutáneo.

No tapiza esta vaina toda la raíz del pelo, sino exclusivamente su parte media e inferior; hacia arriba, sus elementos se disgregan, dejando en torno del pelo un espacio vaginal, donde se vierte la secreción sebácea; por abajo se confunde con las células más inferiores y periféricas de la raíz del pelo.

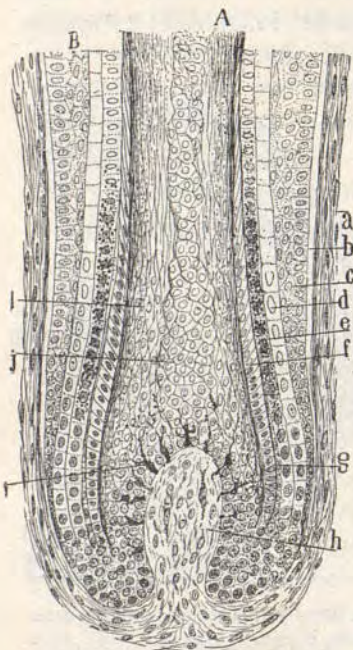


Fig. 508. — Corte longitudinal del folículo piloso. A, pelo; B, folículo piloso; a, vaina conjuntiva; b, capa vítrea; c, vaina externa de la raíz; d, capa de Henle; e, capa de Huxley; f, cutícula del pelo; g, cutícula de la vaina; h, papila del pelo; i, células pigmentarias de la raíz; j, región medular de la raíz; l, región cortical de la misma.

Esta cubierta epitelial consta de tres zonas: la de Henle, la de Huxley y la cutícula de la vaina. Estas zonas, confundidas en lo alto, bajo un aspecto casi homogéneo, resultan bien deslindadas en la porción media e inferior del folículo piloso.

Capa de Henle. — Es una membrana homogénea, de 6 a 8 μ de espesor, situada inmediatamente por debajo de la vaina externa del folículo. Por abajo, esta capa posee células cuboideas, con granulaciones de queratohialina, provistas de núcleo; pero a medida que éstas ocupan planos más superficiales, pierden el núcleo, se alargan en sentido longitudinal y adquieren un aspecto homogéneo y brillante.

Esta nueva apariencia se debe a su transformación en queratina. Vistas de plano tales células, muestran, a veces, unos resquicios o junturas, por los cuales se insinúan algunos apéndices de los corpúsculos de la zona de Huxley (fig. 508, d).

Capa de Huxley (fig. 508, e). — Es concéntrica a la anterior

y más espesa, constando alguna vez de dos hileras celulares. El aspecto de las células de esta capa varía con la altura que ocupan; cerca del bulbo piloso se diseñan bajo la forma de unos corpúsculos cuboideos, granulosos y oscuros, los cuales, a medida que ocupan planos más superficiales, se cargan de tal cantidad de esferas de eleidina, que es casi imposible discernir el núcleo y protoplasma; más arriba aún, las células se alargan divergiendo hacia la raíz, pierden la eleidina, se queratiniza el protoplasma, y el conjunto de la vaina toma la apariencia de la capa de Henle. Una diferencia la separa, no obstante, de esta zona: la persistencia de los núcleos, los cuales pueden descubrirse hasta en el tramo superior de la vaina de Huxley, bajo la forma de vesículas pálidas, encogidas e incolorables por el carmín.

Cutícula de la vaina. — Cuando se examina la raíz de un pelo seccionada a lo largo, se advierte una banda estrecha y brillante entre el epidermis del pelo y las células de Huxley. Esta capa, queratinizada en casi toda su extensión y difícil de resolver en sus células componentes, es la *cutícula de la vaina*. En el bulbo piloso está representada por una fila de elementos cúbicos, enanos, de 5 μ de largos por 3 de gruesos. Su núcleo es pequeño, elipsoideo y fuertemente colorable por los reactivos de la cromatina. Dichas células se queratinizan a nivel más inferior que las de Huxley, transformándose en escamas imbricadas. La cutícula alcanza aquí un espesor de 2 a 2 $\frac{1}{2}$ μ (figura 508, g).

Tanto la vaina de Henle como la de Huxley y la cutícula se continúan inferiormente con las células indiferentes o embrionarias de la raíz del pelo. Esta parte del bulbo, que podríamos llamar región germinal, consta de pequeñísimos elementos poliédricos, sumamente juntos, pobres en protoplasma y provistos de núcleo casi siempre en vía de mitosis. Las zonas periféricas de este foco germinal proliferan incesantemente, produciendo corpúsculos que, empujados sucesivamente hacia arriba y diferenciándose progresivamente, engendran las vainas de Huxley y de Henle y la cutícula. En cuanto a la porción interna de la región germinal o indiferente, tiene a su cargo, como

luego veremos, la formación y crecimiento de la raíz del pelo.

Pelo. — Consta de *raíz o bulbo, tallo y extremo periférico*. El tallo posee una forma uniformemente cilíndrica; el cabo periférico está a menudo deshilachado o hendido, y la raíz, que reside en un hoyo del epidermis, se engruesa por su extremo inferior, que está provisto de una foseta destinada a recibir la papila. Trataremos del bulbo piloso y luego del tallo, pues la estructura varía notablemente en estas dos partes.

1.^a *Bulbo.* — Es el ensanchamiento ovoideo en que termina la raíz por su extremo profundo. En los pelos gruesos y adultos, esta dilatación ofrece en su parte inferior una fosa cónica, semejante al fondo de una botella, donde se insinúa la papila, excrecencia conjuntivovascular de la túnica fibrosa del folículo. En los pelos atróficos y en la mayor parte de los delgados, el bulbo carece de depresión terminal y, por consiguiente, no hay papila.

Las células del bulbo piloso son pequeñas, poliédricas y poseen un núcleo esférico, que llena casi todo el cuerpo celular. Los corpúsculos que contornean la papila difieren de los otros por su forma primitiva y por cierta orientación convergente (fig. 508, *i*).

Cuando se observan atentamente cortes longitudinales de bulbo de cabellos negros o castaños, se advierte que entre los elementos de la hilera epitelial inferior o limitante yacen unas células oscuras, fusiformes o estrelladas, con todas las apariencias de corpúsculos conjuntivos melánicos. Por sus expansiones periféricas, que son delgadas y a veces ramificadas, se insinúan entre los elementos del bulbo, y por su cuerpo o gruesa extremidad tocan la superficie papilar. Semejantes elementos, conforme han demostrado las observaciones de Riehl, Aeby, Kölliker y las nuestras, son células conectivas emigrantes, las cuales vienen del tejido conectivo inmediato, penetran en el bulbo, y, cogidas y arrastradas por las células epiteliales pilosas, se fragmentan y desecan en la región cortical del pelo. A estos desechos melánicos, difundidos irregularmente por el tallo piloso, y a la melanina producida por las células epiteliales se debe el color del cabello, color que varía desde el gris

al negro, pasando por el rojo, el rubio y castaño, según la cantidad de melanina (1). El color blanco de plata se debe a la presencia de burbujas de aire entre las células y a la falta simultánea de melanina.

2.º *Tallo piloso*.—Consta de tres capas epiteliales concéntricas, a saber: la cutícula o epidermis del pelo, la capa cortical y la capa medular.

Cutícula.—Cuando se examina un pelo a lo largo, se nota que está recubierto de unas células anchas, delgadísimas, más o menos cuadriláteras e imbricadas, de modo que el borde inferior de las de arriba es subyacente al superior de las de abajo. El aspecto de estas líneas de imbricamiento recuerda en un todo el dibujo del tallo de una palmera (fig. 509, C).

Hacia abajo, en la región del bulbo, la cutícula consta de células gruesas, cuboideas, continuadas con la región germinal o porción indiferente de la raíz. Estas células son al principio horizontales, pero no tardan en aplanarse e imbricarse por consecuencia de la posición, cada vez más oblicua, que, con relación al eje del pelo, van tomando. Hasta cerca de la mitad de la raíz conservan el núcleo; luego desaparece éste, se queatiniza el protoplasma y la célula se transforma en finísima escama transparente (fig. 508, f).

Capa cortical del pelo.—Procede de la porción periférica de la región germinal o indiferente del bulbo piloso. Las células, al principio poliédricas y pequeñas, se alargan longitudinalmente y ostentan núcleos muy visibles; a medida que alcanzan planos más superficiales, el núcleo palidece y el protoplasma toma un aspecto filamentososo; finalmente, los hilos de queratina del cuerpo celular se disponen longitudinalmente, pasan

(1) En Junio de 1886, fecha en que publicamos el tercer cuaderno de nuestro *Manual de Histología*, cuaderno en que se contenía el tejido piloso y sanguíneo, creíamos haber sido los primeros en descubrir el origen conectivo de las células melánicas del bulbo piloso. Estábamos equivocados, pues informes posteriores nos enseñaron que semejante interpretación había sido ya dada por Riehl en 1884 (*Vierteljahrscr. f. Dermatol. u. Syph.*, 1884), y por Aeby en 1885 (*Med. Centralbl.*, núm. 16). El trabajo de Kölliker fué muy posterior al nuestro (1885). De todos modos, esta coincidencia en las conclusiones de trabajos hechos independientemente, fortalece considerablemente la verosimilitud de la doctrina que acabamos de exponer.

de una célula a otra, y borran casi, con su aspecto brillante, la presencia del cemento intercelular (fig. 508, *l*).

Cuando estos corpúsculos corticales abordan la región del tallo, sufren una retracción que los convierte en prismas filamentosos sumamente delgados, pierden el núcleo, y el cemento de unión se presenta longitudinalmente surcado por series de granos melánicos y de burbujas de aire (fig. 509, *B*).

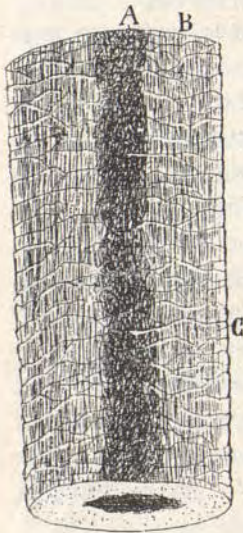


Fig. 509. — Trozo de un pelo examinado por su superficie. *A*; región medular; *B*, región cortical; *C*, células imbricadas de la cutícula del pelo.

Médula del pelo. — De las células del bulbo que cubren el vértice de la papila proceden los elementos medulares. Distingúense de los corticales por su dirección, que es transversal, por su forma poliédrica más corta, por su núcleo elíptico dirigido de través (al revés del de las células corticales en que yace a lo largo del pelo), por no contener materia melánica intercelular y, sobre todo, porque su protoplasma, en buena parte queratinizado, aunque finamente reticulado, no se transforma en hebras gruesas, brillantes y longitudinales. No es raro ver estas células asociadas en grupos o familias superpuestas, separadas a favor de una prolongación transversal de materia cortical. Es de notar que, tanto el núcleo como el aspecto granuloso del protoplasma, se conservan hasta mayor altura que en los

elementos corticales; no obstante, hacia la mitad de la raíz, las células se achican, el núcleo se atrofia y el protoplasma se coarruga y queratiniza (fig. 508, *j*).

A veces, la substancia medular termina por una especie de fondo de saco dentro de la raíz, por manera que el resto del tallo piloso es sólido y homogéneo: esta es la regla general en el vello y en casi todos los cabellos jóvenes, cualquiera que sea su color. En los pelos gruesos y viejos, la materia medular se carga de pequeñísimas burbujas de aire, que pueden inva-

dir toda la porción central del tallo, produciendo la impresión de un cilindro lleno de granulaciones melánicas. Entre estas pequeñísimas burbujas no puede reconocerse el menor vestigio de las células medulares.

Los pelos carecen de vitalidad en su tallo, pero no así en el bulbo, encima de la papila, cuyos elementos blandos y protoplasmáticos son asiento de activa proliferación. Nútrense estas células por inhibición de los plasmas de la papila, y así se observa que cuando ésta falta o se atrofia, el pelo cesa de crecer.

El crecimiento del pelo se verifica desde la papila hacia la superficie cutánea. En este movimiento, sólo el bulbo y la vaina interna de la raíz toman participación; la externa, continuación de la capa malpigiana del epidermis, permanece indiferente, sirviendo como lecho o canal de deslizamiento de la raíz del pelo.

Desarrollo y regeneración del tejido piloso.— Del tercero al cuarto mes iníciase en el feto la formación de este tejido. Comienza en las cejas y cuero cabelludo por pequeños tubérculos o grumos celulares que surgen en la cara profunda del cuerpo de Malpigio de la piel. Estos grumos adquieren la configuración de apéndices piriformes, algo más anchos en su porción profunda que en su región superficial. En torno de ellos aparece un tejido mucoso construido a expensas del dermis, que será con el tiempo la capa conjuntiva del folículo, y penetrará, deprimiéndola, en la parte más profunda de la porción ensanchada para constituir la papila (fig. 510). En la masa celular del apéndice piriforme se inicia una diferenciación en dos zonas: una periférica (vaina externa de la raíz) y otra central, de forma cónica, con la punta dirigida hacia fuera, que no es otra cosa que el pelo embrionario y su raíz. Desde muy temprano, sobre todo en los pelos táctiles de los mamíferos, la masa epidérmica que formará las vainas de la raíz atrae las fibras nerviosas (1) sensitivas.

(1) Véase Cajal: «Acción neurotrópica de los epitelios». *Trab. del Lab. de Inv. biol.*, tomo XVII, 1920, y F. Tello: «Genése des terminaisons motrices et sensitives. II. Terminaisons dans les poils de la souris blanche. *Trav. de Lab. der Rech. biol.*», tomo XXI, 1923.

Este pelo rudimentario sufrirá a su vez una diversificación en dos capas: una clara y brillante, situada periféricamente y



Fig. 510.—Corte de la piel de un embrión de ratón de 15 mm. (Tomada de Tello.) *a, b, c y d*, gérmenes pilosos en distintos momentos evolutivos; *p*, aglomeración de células mesodérmicas que constituye el germen de la papila (*Pap*).

correspondiente a la vaina interna de la raíz; otra interna, más oscura, que será el pelo propiamente dicho. Al propio tiempo, y antes que el pelo brote, el tejido conectivo inmediato se

vasculariza y en el bulbo piloso penetra una papila provista de capilares sanguíneos.

El pelo, una vez formado, tiene una duración limitada, y tarde o temprano cae por desaparición de la papila y absorción de toda la parte profunda del bulbo y sus cubiertas. Cuando se practica un corte del cuero cabelludo del hombre adulto, encuéntrase siempre al lado de pelos robustos cabellos atróficos a punto de desprenderse.

Estos cabellos carecen de bulbo, es decir, de germen epitelial piloso, y yacen en una masa espesada, constituida por la vaina externa de la raíz o cuerpo de Malpigio del pelo. Debajo del pelo atrófico, dicha vaina se prolonga y se termina en un abultamiento redondeado, que no tarda en ser deprimido en fondo de botella por una nueva papila dérmica. En el espesor de este cordón epitelial macizo y subpiloso es donde, a beneficio de diferenciaciones, se engendrará el nuevo folículo piloso, así como el pelo de regeneración, que brotará en cuanto el caduco se desprenda.

UÑAS.—Las uñas son órganos laminares, cuadrilongos, formados exclusivamente por el epidermis córneo de la piel, engruesado y condensado de un modo especial. Alójase este tejido en un surco semicircular, más hondo por detrás que por los lados, ofrecido por el epidermis de la cara dorsal de los dedos.

Consta la uña de dos formaciones: la *córnea* o superficial, y la *matriz* o cuerpo de Malpigio.

La *formación corneal* consta de muchas capas de células aplastadas, transparentes y duras, que contienen un núcleo discoideo más o menos atrofiado. Examinadas estas células en fresco, no dejan ver ningún detalle; pero si se las trata primero con la potasa o la sosa, se hinchan y redondean como las células epidérmicas, revelando una membrana y vestigios de un núcleo. Nótanse, al nivel de los bordes celulares, ciertas asperezas y granulaciones que nos parecen vestigios de los filamentos de unión.

El *cuerpo malpighiano* de la uña presenta los caracteres del de la piel, con el que se continúa al nivel de los surcos latera-

les de aquélla y de la extremidad del dedo. Únicamente es de notar que el epitelio interpapilar no forma, como en la piel, mamelones irregulares, sino crestas anteroposteriores, que se alojan en espacios interpapilares de la misma dirección. A consecuencia de esta disposición, los cortes anteroposteriores de la uña muestran el epitelio unido en línea recta con el dermis, en tanto que las secciones transversales ofrecen la configuración en serreta propia de la piel. Las células son poliédricas, y más pequeñas y granulosas cerca del dermis que en las capas superficiales. Los filamentos comunicantes son gruesos y sumamente numerosos, particularmente en la proximidad del epidermis córneo, donde, como hacen notar Unna y Kölliker, dan en las secciones perpendiculares la apariencia de inclusiones granulosas intraprotoplásmicas. De aquí el error de Ranvier, que tomó dicho aspecto como indicio de la presencia de su pretendida *oniquina*.

La zona córnea de la uña puede compararse, por su dureza, transparencia y brillantez, al *estrato lúcido* de la piel. Falta la capa córnea superficial, es decir, la formada de escamas brillantes sin núcleo. No sucede lo mismo en la época embrionaria: sobre la uña propiamente dicha se halla una córnea floja, análoga al epidermis superficial cutáneo y designada *eponiquión*; pero del quinto al sexto mes de la vida fetal se desprende y queda la zona lúcida al descubierto, salvo en una pequeña porción por delante del surco posterior, en que se continúa con el epidermis córneo de la piel. El epidermis córneo de la piel reviste también parte de la superficie profunda del borde libre anterior y se llama *hiponiquión*. La capa granulosa sólo existe en la *lunula*. Las manchas blancas que en ocasiones presentan las uñas se deben a burbujas de aire.

MUCOSAS

Las mucosas son ciertos tegumentos internos, de origen comúnmente entodérmico, comunicantes con la piel al nivel de las aberturas naturales, y constituídos por un epitelio transpa-

rente y un dermis recorrido por numerosas glándulas que humedecen constantemente la superficie libre.

El aspecto de las mucosas es el de membranas grisáceas, elásticas, semitransparentes, humedecidas por las secreciones y, particularmente, por la mucina.

A la manera de la piel, tienen que considerar las mucosas una superficie libre y otra adherente. La cara libre se presenta erizada de eminencias, unas veces largas y filamentosas, como en el intestino (vellosidades), y otras gruesas y cortas (papilas). Entre las papilas son notables las que se observan en la superficie de la lengua, las cuales, por su morfología, han recibido nombres diversos: *fungiformes* cuando se trata de eminencias redondeadas, cortas, sostenidas por un cuello breve y no muy estrecho; *circunvaladas* o *caliciformes* cuando constituyen una eminencia semiesférica separada del resto por un canal circular hondo; *filiformes* cuando la elevación es cilíndrica, prolongada y se termina en un pincel de papilas secundarias. La superficie profunda de las mucosas está adherida, mediante hacedillos conjuntivos, a las cubiertas de los órganos circundantes (músculos, glándulas, etc.).

Atendiendo a la disposición del epitelio que las reviste, las mucosas pueden agruparse en dos clases: *mucosas de epitelio pavimentoso estratificado*, como son la bucal, faríngea, esofágica, conjuntival, de los órganos genitales externos, vías urinarias, conducto auditivo externo, etc., y *mucosas de epitelio alargado*; a saber: la nasal, intestinal, tráqueo-pulmonar, órganos genitales internos, etc.

a) MUCOSAS DE EPITELIO APLANADO O PAVIMENTOSO. — Se asemejan mucho a la piel, y como ésta poseen un epidermis pavimentoso estratificado y un dermis, tanto más grueso cuanto más rica en glándulas es la mucosa.

El *epidermis* consta en las mucosas más espesas, tales como la bucal y esofágica, de diez o doce hileras de células aplastadas, distribuidas en tres zonas principales: la *inferior* o *germinal*, compuesta de una sola fila de corpúsculos turbios, cuboideos o prismáticos, escasos en protoplasma, y provistos de núcleo casi siempre en vías de mitosis; la zona *media*, consti-

tuída por cuatro o seis hileras de elementos gruesos, granuloso, poliédricos, tanto más aplastados cuanto más superficiales, y unidos entre sí por hilos comunicantes bien perceptibles, y la zona clara o *superficial*, la más espesa, edificada de varias hileras de corpúsculos complanados, transparentes, de protoplasma casi hialino, colorable por el ácido pícrico, y portador de un núcleo aplanado y atrofiado. Por superficiales que sean las células, el núcleo no falta jamás, lo que distingue perfectamente el epidermis córneo de la piel del aplanado superficial de las mucosas pavimentosas.

En ciertas mucosas delgadas el número de células epiteliales se reduce, experimentando éstas algunas variantes morfológicas que conviene conocer. Así, en la *vejiga urinaria* sólo existen tres filas de elementos: la *profunda*, que resulta de la alineación de células alargadas o prismáticas y representa la *capa germinal* de otras mucosas; la *media*, que consta de corpúsculos poliédricos con excavaciones inferiores para adaptarse a los corpúsculos germinales; y la *superficial*, que está formada de elementos aplanados o de escamas transparentes, las cuales, según Dogiel, ofrecerían la particularidad de enlazarse con las células subyacentes a beneficio de una verdadera sutura, es decir, a favor de alvéolos, en cuyo interior penetrarían ciertos apéndices de los elementos de la capa segunda. Entre las células superficiales existirían, además, hilos comunicantes.

En la *conjuntiva*, y sobre todo en el *epitelio corneal anterior*, se ven igualmente pocos estratos: el *profundo*, constituido por elementos alargados, provistos inferiormente de una chapa brillante, descompuesta en filamentos paralelos, como la de la zona germinal de la piel; uno o más *medios*, formados de células gruesas, poliédricas, ahuecadas interiormente para adecuarse a los extremos de los elementos subyacentes; y el *superficial*, construido de tres o más hileras de células fuertemente aplastadas, transparentes, con núcleo en vías de atrofia. Todas estas células están unidas entre sí, como señalamos nosotros, por hilos comunicantes de una gran delicadeza (1).

(1) Cajal: «Contribution à l'étude des cellules anastomosées, etc.» *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Hist.* Bd. III, 1886.

El *dermis* está constituido como en la piel por haces conectivos, pero aquí son laxos, por regla general, con abundantes fibras elásticas en varios sitios (vagina, vejiga, etc.). En la vejiga existe a trozos una muscular mucosa que divide el dermis en dos zonas, superficial y profunda o conjuntivo submucoso. Las glándulas por lo común son poco abundantes.

En la periferia se continúa el dermis o la submucosa con la capa muscular del órgano, de dos estratos, anular y longitudinal (vagina) o tres, longitudinal, anular y longitudinal (uréter, vejiga). A esta sigue una capa fibrosa (vagina) o serosa (vejiga).

b) MUCOSAS DEL EPITELIO ALARGADO. — Como todas ellas, residen en partes profundas poco expuestas a roces y colisiones, el epitelio suele ser de una sola capa, y representa verosíblemente la zona germinal de la piel. En cambio, el dermis adquiere notable desarrollo, albergando en sus huecos numerosas glándulas y vasos. El tipo de tales mucosas es la intestinal, de la que vamos a hacer una exposición sucinta.

Intestino. — Las paredes intestinales tienen que considerar un epitelio interior, un dermis surcado de glándulas y las túnicas musculares (fig. 513).

1.º El *epitelio* es prismático con chapa, y por haber sido estudiado en otra parte (páginas 281 y siguientes) no lo detallaremos aquí.

Recordemos, no más, que sus células son prismas, en general de seis facetas; que de sus extremos o polos, el superficial o secretor está barnizado por una cubierta o chapa estriada, y el inferior, penetrante en el dermis, se estira a menudo en apéndice inserto en una membrana basal subyacente (figura 514, *D*).

Tengamos presente, además, que entre los corpúsculos de chapa se hallan acá y allá, irregularmente diseminados, elementos caliciformes (fig. 514, *B*). En fin, repitamos aún que la mucina depositada en el cáliz es elaborada por ciertos granitos coloreables por el proceder de Heidenhain correspondiente a las granulaciones vivientes de las glándulas (figuras 511 y 512, *b*).

El aparato de Golgi de las células caliciformes coloréase bien en el intestino del perro y gato jóvenes con ayuda del proceder del uranoformol, el cual impregna también en pardo rojo claros todo el protoplasma celular. Merced a esta singular selección (de que carecen los elementos de chapa), es dable seguir en un mismo corte todas las fases recorridas por los corpúsculos caliciformes, desde el estado de descanso al de expulsión de su contenido granular (fig. 511).

Estas fases son: *a) Estado de descanso*: Expulsada la secreción, cae la célula en una situación de atrofia, mostrando soma delgado, puntiagudo, hacia la superficie libre y en posesión de un diminuto y granular retículo

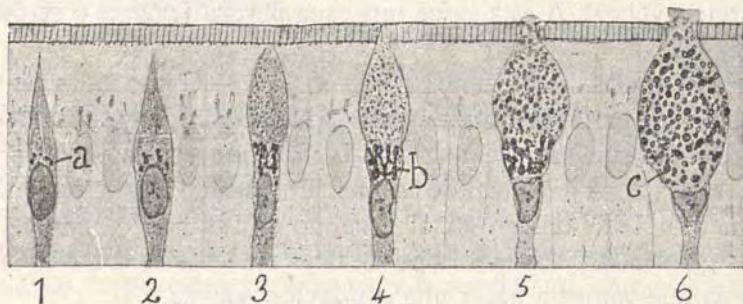


Fig. 511. — Diversas fases funcionales de las células caliciformes del intestino. Gato joven. Proceder del urano-formol; 1, fase de descanso; 2 y 3, fase de regeneración incipiente; 4 y 5, fases de secreción; 6, fase terminal o de excreción; *a*, aparato de Golgi atrófico; *b*, aparato de Golgi dipetrótico.

de Golgi (1). *b) Estado regenerativo*: El soma aumenta en volumen, enriqueciéndose la red de Golgi con nuevos lobulillos y cordones (2), mientras que las granulaciones del protoplasma se multiplican y espesan (3). Al final de esta fase (4) el aparato de Golgi se hipertrofia, ocupando un segmento especial del cuerpo celular, a menudo ensanchado en huso. *c) Estado de gruesas esférulas*: La porción supranuclear del soma se dilata en vientre voluminoso (5), apareciendo en su interior numerosas y recias esferas de zimógeno; el aparato de Golgi alcanza el sumo de la hipertrofia, y, en fin, ábrese la chapa para dar salida al producto elaborado (fig. 511, 5). *d) Fase de expulsión*: El núcleo adquiere forma triangular, descendiendo de plano, y el vientre del cáliz vierte su carga secretoria en el intestino. En fin, la red de Golgi disgregada parece expulsarse parcialmente con el producto secretorio (6).

Además de los elementos típicos, se han encontrado en ciertos animales (rana, conejo de Indias, etc.) células epiteliales cuyo protoplasma encierra granitos de un fermento proteico

que atrae las grasas saponificadas del intestino y las transforma en grasas neutras (Nicolas). En ciertos animales (rana, tritón), vense también unas células esferoidales, cargadas de granitos, que, por su parecido con los leucocitos, se han tomado por corpúsculos emigrantes. Mitosis no se ven jamás en el epitelio intestinal; por lo cual Bizzzero opinaba que la reparación de este epitelio corre a cargo de las células de las glándulas de Lieberkühn. Para comprender esto, es preciso suponer que, a cada célula intestinal descamada, sigue un movimiento de avance del epitelio de la vellosidad, así como del que tapiza las glándulas tubulosas, a partir del paraje en que se verifica la mitosis.

2.º El *dermis intestinal* es espeso y presenta dos subzonas: la papilar y la glandular.

La *zona papilar* toma este nombre de la presencia de unas expansiones cónicas, paralelas, digitiformes, que prestan un aspecto veloso a la superficie intestinal. Un corte de la vellosidad permite distinguir varias zonas concéntricas: 1.º, la membrana basal, capa fibrosa espesa, perforada o discontinua y sembrada de núcleos, la cual limita exteriormente la trama conectiva de la vellosidad y sirve de punto de inserción a las expansiones descendentes del epitelio (fig. 514, E); la *zona músculovascular*, compuesta de una red capilar sanguínea continuada inferiormente con dos vasos, uno arterial y otro venoso, y reforzada por fuera por un plano de fibras musculares lisas, por cuyas contracciones la vellosidad puede encogerse y alargarse; y una *zona axial o central*, donde se alberga un grueso capilar linfático terminado en fondo de saco en lo alto de la vellosidad. Todas estas partes hállanse trabadas por finos hacecillos conectivos asociados a escasas células estrelladas o

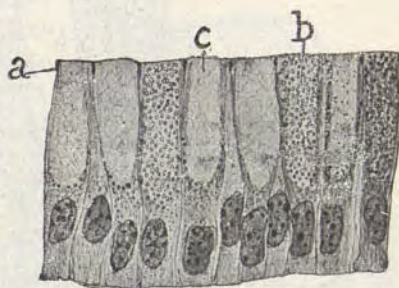


Fig. 512. — Epitelio caliciforme de la entrada de las glándulas pépsicas del perro; a, banda de cierre; b, célula con granulaciones de mucinógeno; c, célula en que el mucinógeno se ha convertido en mucina. (Hematoxilina de Heidenhain.)

fusiformes. El centro de la vellosidad, particularmente en su porción superior, encierra un grupo de células ganglionares

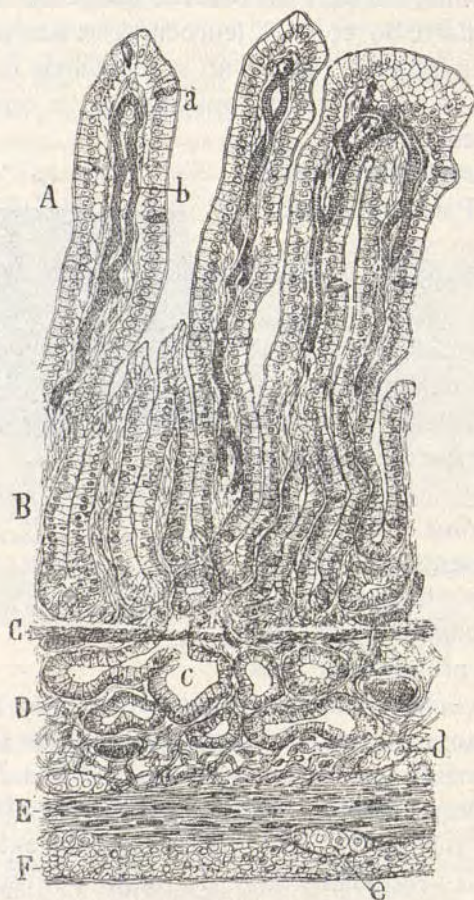


Fig. 513. — Corte transversal de las paredes del duodeno del conejo de Indias. Coloración por la hematoxilina; A, vellosidades; B, capa glandular superficial o de las glándulas de Lieberkühn; C, túnica muscular de la mucosa; D, capa glandular profunda o de las glándulas de Brunner; E, capa de las fibras musculares circulares; F, fibras musculares longitudinales a, una célula caliciforme; b, red vascular; c, glándula de Brunner; d, ganglio del plexo de Meissner; e, ganglio del plexo de Auerbach.

estrelladas, indicadas por Drasch y detalladamente descritas por nosotros. Un plexo nervioso fino, continuado con el

periglandular vecino, suministra arborizaciones terminales a los corpúsculos musculares de la vellosidad (fig. 517, *b*).

La *zona glandular* es muy espesa y se subdivide en dos capas: glandular superficial y glandular profunda o tejido conectivosubmucoso. Estos planos conectivoglandulares están separados entre sí a favor de una membrana de fibras musculares lisas, *muscular mucosa* (figura 513, *C*), formada por dos, tres o cuatro estratos de fibras, siendo siempre circular el más interior.

El *plano glandular superficial* se compone de un tejido conectivo intercalar fino, rico en células fijas emigrantes, y de numerosas glándulas tubulosas o de Lieberkühn. Estas glándulas se disponen de un modo paralelo y acaban en un fondo de saco que, algunas veces, como se veía en la preparación que copia la figura 515, *C*, se muestra bifurcado. El conducto glandular es un simple tubo, sin ramificaciones colaterales.

El *plano glandular profundo* consta: de un tejido conectivo flojo, compuesto de gruesos fascículos entrecruzados, y de tres especies de glándulas: las glándulas de Brunner, los folículos solitarios y las glándulas de Peyer.

Las *glándulas de Brunner* residen en el duodeno y pertenecen en realidad a las tubulosas compuestas, aun cuando se las considera generalmente como arracimadas. El conducto excretor es ancho y casi recto mientras circula por la capa glandular superficial; pero en cuanto atraviesa la muscular mucosa, se estrecha súbitamente, descomponiéndose en tres o más tubitos oblicuos u horizontales, que penetran en los divertículos glandulares o porción secretora de la glándula.

Estos divertículos son alargados y poseen una membrana

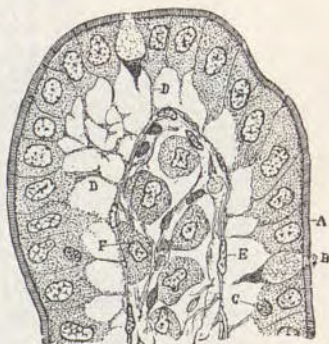


Fig. 514. — Corte axial de una vellosidad intestinal del conejo de Indias. Sección, previa inclusión de parafina; A, célula epitelial con chapa; B, célula calciforme; D, expansión profunda de una célula epitelial; E, núcleo de la capa fibrosa o membrana basal; F, células ganglionares del centro de la vellosidad.

propia y una hilera epitelial gruesa, formada de corpúsculos claros, limitantes de la lva glandular. Como en las glándulas salivares, mucosas, etc., de cada tubo central parten numerosos

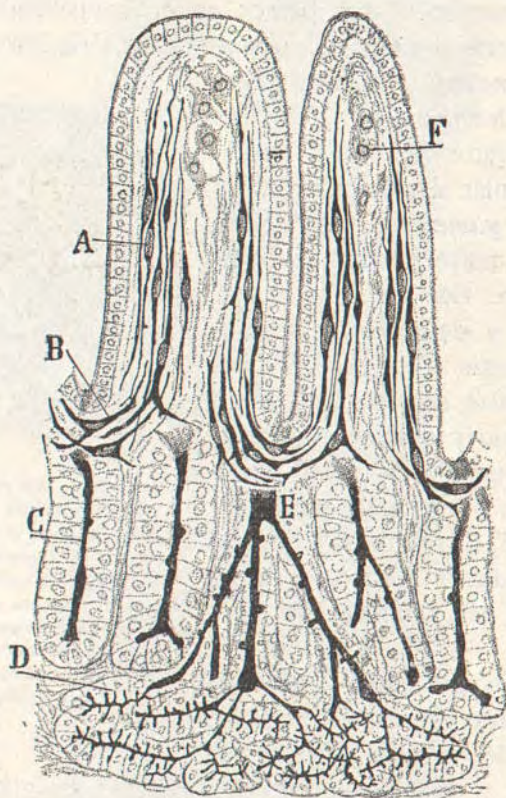


Fig. 515. — Corte de las vellosidades y glándulas del intestino del conejo de Indias de pocos días. A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta; C, interior de una glándula de Lieberkühn; D, acini terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

tubos colaterales, insinuados entre las caras laterales de los elementos epitélicos, y terminados en fondo de saco, sin alcanzar nunca la membrana propia (fig. 512, D). Semejante disposición, demostrada primeramente por nosotros con el cromato

argéntico (1), aproxima singularmente las glándulas de Brunner a las llamadas *salivares serosas*. En ciertos casos, la glándula de Brunner consta de tres o más lobulillos, cuyos conductos excretores rectos se ajustan en un tronco común antes de desaguar en el intestino (fig. 515, *E*); en fin, las células epiteliales de estas glándulas encierran un aparato de Golgi bien desarrollado y constante.

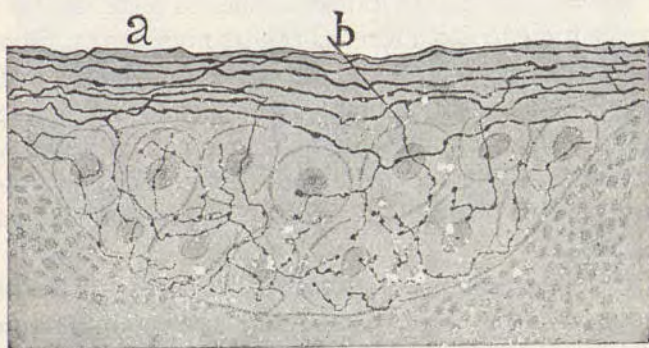


Fig. 516. — Corte transversal de un ganglio del plexo de Auerbach del intestino del conejo de Indias; *a*, haz nervioso de paso; *b*, ramas colaterales terminadas libremente en el ganglio.

Los *folículos solitarios* y *glándulas de Peyer* no son otra cosa que ganglios linfáticos simplificados, yacentes, primero en el dermis papilar, rechazando las glándulas de Lieberkühn, y después por debajo de la muscular mucosa, entre ésta y la capa de fibras musculares circulares. Los folículos solitarios representan grumos aislados de tejido citógeno, enteramente idéntico al de los folículos de los ganglios linfáticos, frecuentemente con su centro germinativo, mientras que las glándulas de Peyer son órganos más voluminosos, de 2 a 12 cm. de largo, colocados longitudinalmente en la parte opuesta a la inserción del mesenterio, resultantes de la reunión de un gran número de tales folículos. Por lo demás, las relaciones establecidas entre estos folículos o masas linfoides y los vasos linfáticos, coinciden enteramente con lo que sabemos de los ganglios.

(1) Cajal: *Los ganglios y plexos nerviosos del intestino*. Madrid, 1893.

3.º *Túnica muscular*. — Por debajo del dermis profundo o tejido conectivo submucoso, se halla una gruesa capa de fibras musculares lisas, dividida en dos planos: superficial o de fibras longitudinales; profundo, mucho más grueso o de fibras circulares. Estas fibras son robustas y están unidas por un cemento homogéneo surcado por el plexo nervioso terminal. En estos últimos tiempos, Boheman, Bruyne y otros, han creído ver puentes comunicantes, análogos a los de los corpúsculos tegumentarios, entre las células musculares. En nuestras preparaciones al cromato de plata, semejantes puentes nos han parecido meras espinas que, saliendo del protoplasma de una célula, se pondrían en contacto con la de los vecinos elementos. Tampoco el método de Ehrlich, que colora intensamente las fibrocélulas, revela las pretendidas hebras comunicantes.

Entre la capa de fibras musculares circulares y la de fibras longitudinales, yace el plexo de Auerbach, centro automotor del intestino, formado por una red de haces nerviosos simpáticos, en cuyos puntos nodales residen acúmulos de células nerviosas (figuras 513, *e*, 516).

Cada ganglio de Auerbach muestra dos clases de células: 1.ª Unas son pequeñas (fig. 518, *A*, *E*) y están provistas de un cilindro-eje o fibra del plexo susodicho y de apéndices protoplásmicos, cortos, groseros, verrugosos y acabados libremente dentro del ganglio. Tales corpúsculos, señalados por Dogiel, se colorean bien por el método de Ehrlich, pero no por el de Golgi. 2.ª Células más grandes, probablemente menos numerosas, cuyas expansiones, todas largas, ingresan en los cordones interganglionares, ignorándose su paradero (*B*). Contra el parecer de Dogiel, nosotros no hemos podido convencernos de la existencia de tales células de axon y de prolongaciones protoplásmicas; todas las expansiones parecen tener igual carácter, y es imposible seguirlas hasta su terminación. Así, que juzgamos sumamente improbable la hipótesis del sabio ruso, quien supone que las citadas expansiones, menos el axon, representan fibras sensitivas y se distribuyen en las vellosidades intestinales. 3.ª Fibras finas y medianas de paso, que van de un

ganglio a otro, suministrando en torno de las células ramitas nerviosas colaterales y terminales. 4.^a Fibras gruesas gigantes, llegadas acaso de la médula, que se dividen y subdividen en

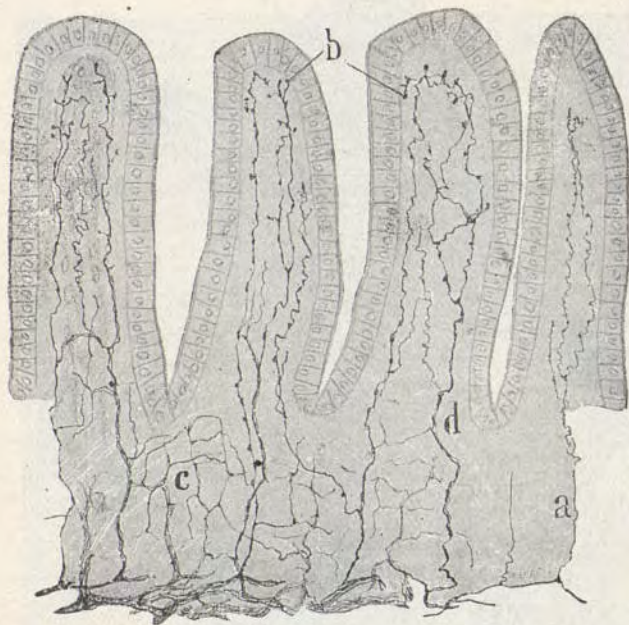


Fig. 517. — Plexos periglandular e intravelloso del intestino del ratón de pocos días; a, filamento ascendente nacido de un haz del plexo de Meissner; b, terminaciones libres a favor de una varicosidad; c, plexo nervioso que rodea las glándulas de Lieberkühn.

los ganglios, suministrando ramificaciones pericelulares para una gran parte de los focos de Auerbach (1).

(1) Para más detalles véase el trabajo de La Villa: «Las células y fibras nerviosas del intestino.» *Rev. trim. micr.*, núm. 3. 1897.

En los contornos de los ganglios y al nivel de las mallas del plexo se ve también un gran número de células trianguladas o estrelladas, cuyas expansiones varicosas y muy ramificadas penetran entre los haces de fibro-células y acaso se terminan en las mismas. Las expansiones de tales células, llamadas *Cajal'sche Zellen* por Dogiel, que las ha confirmado en el conejo de Indias, parecen todas de la misma naturaleza; a menudo, adosándose unas a otras, engendran un plexo secundario de mallas longitudinales.

Entre las fibras musculares circulares y el tejido conectivo submucoso, es decir, por debajo del plano glandular profundo,



Fig. 518. — Ganglio del plexo de Auerbach del intestino del conejo. Método de Ehrlich. A, células de axon único y largo; B, células al parecer provistas de muchos axones (según La Villa).

se halla otro plexo, menos rico que el anterior, llamado *plexo de Meissner* (fig. 520, C). En sus puntos nodales residen también acúmulos de células ganglionares, y de sus haces nervio-

sos proceden las fibras destinadas a las glándulas y vellosidades intestinales. Las células nerviosas parecen todas de aquella variedad cuyas prolongaciones carecen de diferenciación en

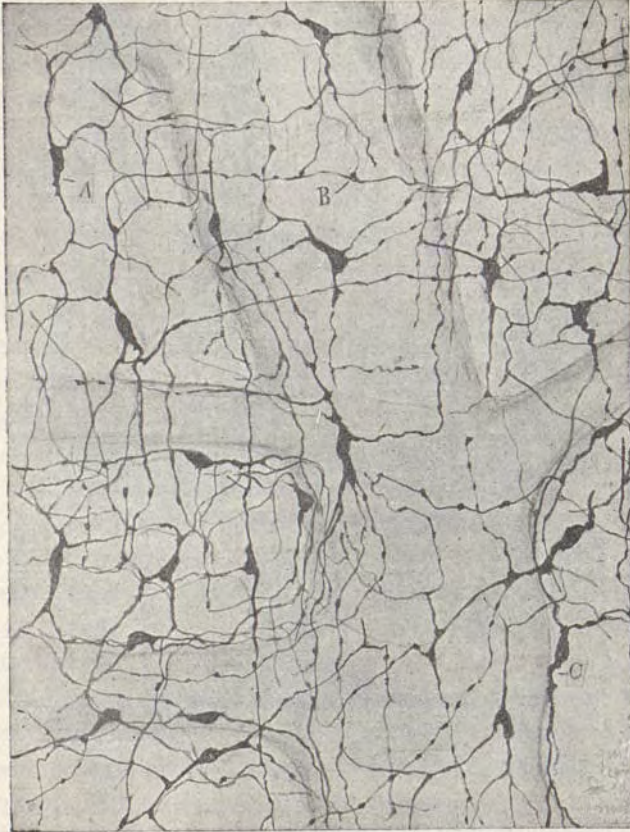


Fig. 519. — Células estrelladas pequeñas perigangliónicas e intersticiales del intestino del conejo. (Método de Ehrlich.) A, células estrelladas; B, brazo anastomótico aparente entre dos células; C, célula marginal perigangliónica.

nerviosas y protoplásmicas. Tales expansiones van de un ganglio a otro, siendo imposible determinar su paradero ni con el método de Golgi ni con el de Ehrlich.

En fin, la periferia de los ganglios de Auerbach, así como

los intersticios entre los paquetes de fibrocélulas, contienen infinidad de corpúsculos fusiformes o estrellados, descubiertos por nosotros merced al azul de metileno (fig. 519, A). Tales

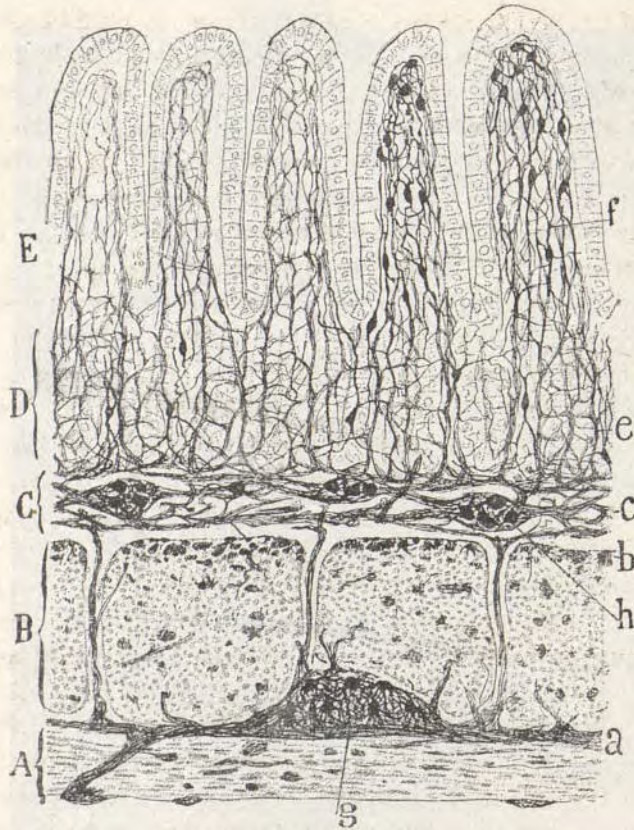


Fig. 520. — Esquema del sistema nervioso del intestino delgado; A, capa de fibras musculares longitudinales; B, fibras musculares transversales; a, g, plexo de Auerbach; C, tejido conectivo submucoso con el plexo de Meissner; D, capa de las glándulas de Lieberkühn; E, vellosidades.

elementos, que reproducimos en la figura 519, constituyen plexos de hebras varicosas, cuyas relaciones con las fibras musculares no hemos podido establecer. También Dogiel y La Villa han confirmado la presencia de tan singulares elementos.

Por la descripción que acabamos de hacer de la mucosa

intestinal tomada como tipo, se distinguen en ella los siguientes estratos, a partir del interior del intestino: 1.º, epitelial; 2.º, dérmico o membrana propia; 3.º, muscular mucoso; 4.º, conjuntivo submucoso; 5.º, muscular anular; 6.º, muscular longitudinal, y 7.º, seroso. Veamos ahora las modificaciones que ofrecen otras mucosas. El *intestino grueso* posee la misma estructura, con sólo descontar las vellosidades, que no existen; parece como si se hubieran soldado, quedando alargadas, por consiguiente, las glándulas de Lieberkühn, bien desarrolladas, así como los folículos solitarios y las tunicas musculares.

En el *estómago*, la estructura de las paredes coincide también con el intestino. Faltan las vellosidades, y el dermis glandular comprende un solo plano, el de las glándulas pépsicas, por encima de la muscular mucosa. En la página 762 han sido expuestas las diferencias que existen entre las glándulas de las distintas porciones del estómago y del duodeno. Entre las tunicas musculares, superficial y profunda, yace asimismo un plexo rico en ganglios comparable al de Auerbach. Otro plexo más fino, del cual provienen las ramitas nerviosas de las glándulas pépsicas, se halla por debajo del plano de fibras circulares, es decir, en el tejido conectivo, subglandular. El plexo nervioso que rodea las glándulas pépsicas se termina por ramitos libres apoyados exclusivamente sobre la cara externa de las células secretoras.

En la *tráquea y bronquios*, el epitelio es cilíndrico, de varias filas, con pestañas y células caliciformes, la muscular mucosa sólo se presenta en algunos trechos, estando substituída en su mayor parte por una capa de fibras elásticas longitudinales; en la submucosa hay grasa y glándulas mixtas, y, finalmente, el músculo ha sido reemplazado por el cartilago; sólo los sitios en que falta éste, en los bronquios, se ven fibras musculares anulares.

En el *conducto deferente, trompa y útero*, también de epitelio cilíndrico, no hay muscular mucosa ni membrana elástica que separe dermis y submucosa, y la robusta muscular presenta, por dentro de las capas anular y longitudinal, otra longitudinal en conducto deferente y más en útero.

CAPÍTULO XVIII

TEJIDO SEROSO

Las serosas son membranas cerradas, de origen mesodérmico, situadas sobre órganos móviles y compuestas de dos tejidos simples: el epitelial y el conjuntivo. La trama particular que resulta de la asociación de estos tejidos en todas las serosas constituye el *sistema o tejido seroso*. Sus superficies interiores, lubricadas por mayor o menor cantidad de líquido albuminoide, hállanse ordinariamente en mutuo contacto.

Residen las serosas en todos los parajes del organismo donde hay dos superficies orgánicas móviles y contiguas, cuya frotación conviene disminuir. Cuando no son órganos voluminosos los que deben frotarse, sino pequeñas porciones de tejidos, en lugar de grandes serosas, existen pequeñas cavidades de deslizamiento, que son las lagunas del tejido conjuntivo laxo. A beneficio de estas lagunas se mueve la piel sobre las aponeurosis, el globo ocular sobre los órganos vecinos, los músculos sobre sus cubiertas, etc. Entre las pequeñas cavidades del tejido conectivo y los grandes espacios serosos viscerales y articulares existen transiciones de forma y de estructura; de modo que si cabe considerar aquéllas como serosas rudimentarias, cabe también estimar los últimos como lagunas conectivas ampliadas y transformadas.

La pared de las serosas, aunque continua consigo misma, consiente una distinción en dos hojas: una *parietal* y otra *visceral*. La parietal tapiza la parte fija o continente; la visceral, el órgano móvil o contenido. La primera es densa, fibrosa, poco adherente y refuerza las paredes de las cavidades esclác-

nicas. La segunda es más delicada y transparente, adhiriendo íntimamente a los órganos que reviste. Estos órganos nunca son revestidos por completo por la hoja visceral; quedan siempre parajes por los que, sin obstáculo alguno, pueden llegar a los mismos los tejidos de relación interorgánica (vasos y nervios). Al nivel del paso de estas partes vectoras, la hoja visceral se reúne con la parietal, constituyendo a menudo repliegues o ligamentos.

Poseyendo las serosas una textura muy semejante, es difícil clasificarlas según un criterio histológico puro. Más fáciles y aplicables parecen los principios anatómicos y topográficos. Bichat agrupaba las serosas en dos clases: *serosas propiamente dichas* y *serosas sinoviales*. Colocaba entre las primeras las esplácnicas, y subdividía las segundas en verdaderas o falsas, según se tratara de las articulares o de las bolsas subcutáneas. Henle, con mejor acuerdo, fundó su clasificación en el concepto estructural, separando las serosas en: *verdaderas* o *completas* y *falsas* o *incompletas*, caracterizadas por carecer en todo o en parte del epitelio (subcutáneas y tendinosas). Nosotros nos atendremos a este ordenamiento.

Serosas verdaderas o esplácnicas. — Compréndense en este grupo: el peritoneo, las pleuras, el pericardio, la vaginal o testicular, la aracnoides y las articulares. Expondremos primero los caracteres histológicos comunes a estas membranas, y después los referentes a algunas de ellas.

Toda serosa contiene dos capas: la *conjuntiva* y la *endotelial*. La conjuntiva está constituida por hacecillos colágenos, finos, entrecruzados en todos sentidos, dirigidos paralelamente a la superficie, y unidos flojamente por cierta cantidad de materia amorfa semilíquida. Estos hacecillos constituyen una capa aislada y coherente en los ligamentos (omentos, epiplones), que enlazan la hoja parietal con la visceral; pero se confunden en los demás casos con el tejido conectivo subseroso. A los hacecillos supradichos se asocian, en proporciones variables, fibras elásticas finas y vasos capilares dispuestos en red o malla membranosa. Ciertos autores admiten (Bizzozero, por ejemplo), entre el tejido conectivo y el endotelio, una capa análoga

a las membranas basales de otros epitelios. Dicha capa ofrecería aspecto granuloso o ligeramente estriado.

El epitelio es aplanado y de una sola capa, excepto en las serosas articulares, donde muestra, en ciertos puntos, verdadera estratificación. Las células son poligonales y sus contornos, flexuosos e irregulares, ofrecen a menudo, después de

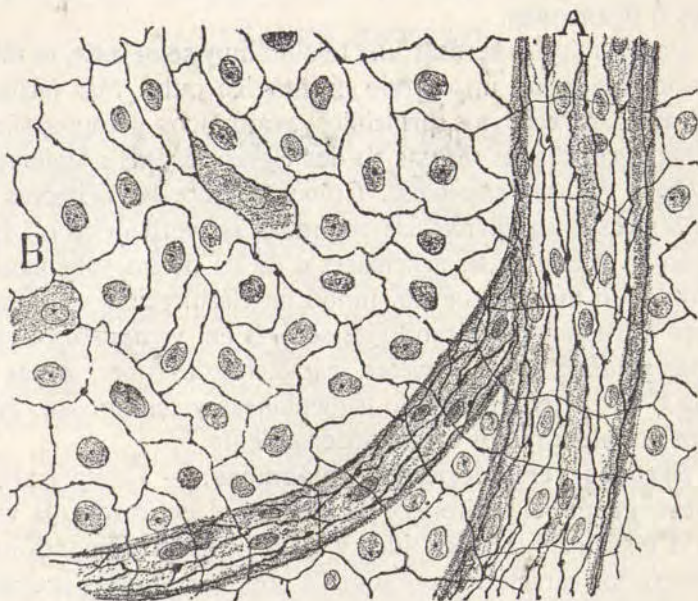


Fig. [521. — Endotelio del mesenterio de rana. Coloración con el nitrato de plata y carmin
A, endotelio de un capilar sanguíneo; B, endotelio del mesenterio.

la coloración negra por el nitrato de plata, puntos negros (estomas de los autores). Cuando una serosa se estira antes de ser impregnada, las células se despegan por sus bordes, menos por ciertos puntos, donde quizá existen hilos de comunicación, como los que demostramos en el epitelio posterior de la córnea. Estos puentes han sido posteriormente señalados por Kolosow, que los ha teñido por el método del tanino y ácido ósmico.

La serosa peritoneal ofrece, además de la textura general

indicada, una disposición especial al nivel del epiplón mayor. Este repliegue presenta el aspecto de una redcilla de mallas apretadas y desiguales. Visto al microscopio, se advierte que cada trabécula está constituida por fascículos de tejido conectivo y células aplanadas. Las trabéculas más espesas llevan un vaso capilar, contienen a menudo células grasientas y constan



Fig. 522. — Endotelio peritoneal que tapiza la cara inferior del centro frénico del diafragma del conejo. Coloración por el nitrato de plata; *a*, células epiteliales pequeñas yacientes al nivel de una depresión; *b*, células más grandes correspondientes a la eminencia formada por un haz tendinoso.

de numerosos fascículos superpuestos. En torno de las trabéculas, por delicadas que sean, pasa el endotelio peritoneal, recubriéndolas a la manera del epitelio peritendinoso.

Serosas falsas. — Las *serosas falsas*, tales como las *peritendinosas* y las *subcutáneas*, ofrecen una capa conectiva difícilmente aislable de los tejidos próximos, y poco rica en vasos y fibras elásticas. El endotelio es discontinuo y está representado por células conectivas aplastadas, que revisten un número mayor o menor de fascículos limitantes. Estas serosas representan la transición entre las esplánicas y las cavidades del tejido conectivo.

Ciertos autores han supuesto la existencia de comunicaciones entre las serosas y los vasos linfáticos. Cítanse, entre otras, ciertas aberturas que, según Ludwig, Schweiger-Seidel y Ranvier, se hallarían en el centro frénico del diafragma, y merced a las cuales la cavidad peritoneal se continuaría con los capilares linfáticos de este músculo.

Tales aberturas se presentarían, en las impregnaciones por el nitrato de plata, cerradas flojamente por un tapón de leucocitos (Ranvier); pero el

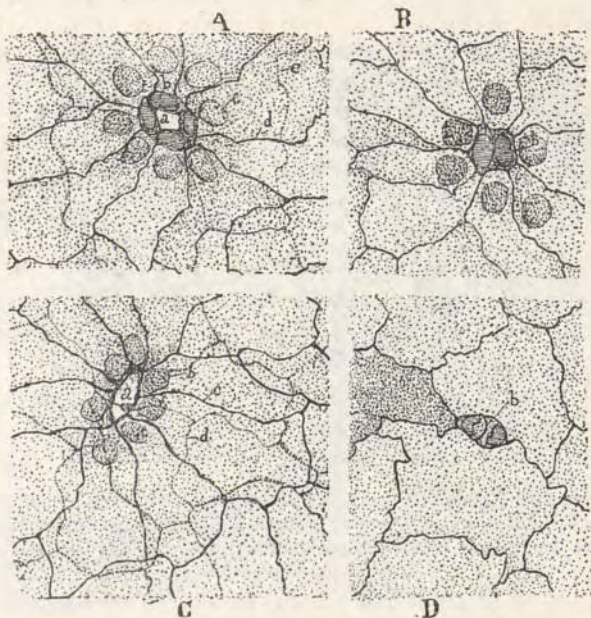


Fig. 523. — Membrana retroperitoneal de la rana. Impregnación por el nitrato de plata.

examen atento del centro frénico nitrado, prueba que los pequeños elementos dispuestos en islotes y que han parecido leucocitos, son sencillamente células epiteliales (fig. 522, a), unidas por un cemento abundante y sin relación de continuidad con los linfáticos. Por lo demás, la talla y la extensión superficial de los endotelios guarda relación con el grado de distensión de la serosa: en las partes salientes del diafragma las células son anchas y delgadas; en los huecos o fosetas, el endotelio se achica al par que se engruesa, como sucede en los islotes mencionados, los cuales corresponden a espacios o resquicios interfasciculares tendinosos (figura 522, a).

Más positivas son las comunicaciones descubiertas por Dogiel y Schweigger-Seidel entre la cavidad peritoneal y la gran cisterna linfática de la rana. Esta cisterna es un depósito linfático situado delante de la columna vertebral por detrás del peritoneo parietal posterior. El septo o pared que separa ambos espacios posee dos endotelios: uno posterior o linfático, compuesto de grandes células poligonales de bordes irregulares, y otro anterior o peritoneal, formado por elementos endoteliales, más o menos alargados y dispuestos frecuentemente en estrellas. Examinando atentamente las aberturas de comunicación, se advierte que corresponden siempre al foco resultante de la convergencia de las células endoteliales. En las aberturas más anchas, el hueco carece de células limitantes; pero en las más estrechas se ven tres o más corpúsculos pequeños, oscuros, casi exentos de protoplasma, que bordean el orificio (fig. 523, A, b).

Finalmente, se reconocen también algunos poros herméticamente cerrados, y que acaso representen comunicaciones en vías de construcción (figura 523, B, D, b).

Las comunicaciones serosolinfáticas que acabamos de exponer, no tienen carácter general; hasta hoy sólo se han descubierto con certeza en el peritoneo de los batracios.

FIN

The end

El estudio de las estadísticas de los países de América Latina y el Caribe, en el período comprendido entre 1950 y 1960, muestra un avance considerable en la recolección y publicación de datos estadísticos. Este avance se debe a la creación de organismos especializados en el campo de la estadística, a la mejora de los métodos de recolección de datos y a la mayor conciencia de la importancia de la información estadística para el desarrollo económico y social de los países de la región.

En el período mencionado, se han establecido o fortalecido numerosos institutos de estadística, que han comenzado a publicar regularmente estadísticas de carácter general, como las de población, actividad económica, comercio exterior, etc. Además, se han desarrollado programas de cooperación técnica entre los países de la región y con organismos internacionales, como el Fondo Monetario Internacional y el Banco Interamericano de Comercio Exterior, para mejorar la calidad y la cobertura de las estadísticas.

El estudio de las estadísticas de los países de América Latina y el Caribe, en el período comprendido entre 1950 y 1960, muestra un avance considerable en la recolección y publicación de datos estadísticos. Este avance se debe a la creación de organismos especializados en el campo de la estadística, a la mejora de los métodos de recolección de datos y a la mayor conciencia de la importancia de la información estadística para el desarrollo económico y social de los países de la región.

El estudio de las estadísticas de los países de América Latina y el Caribe, en el período comprendido entre 1950 y 1960, muestra un avance considerable en la recolección y publicación de datos estadísticos. Este avance se debe a la creación de organismos especializados en el campo de la estadística, a la mejora de los métodos de recolección de datos y a la mayor conciencia de la importancia de la información estadística para el desarrollo económico y social de los países de la región.

FE DE ERRATAS

La precipitación de la impresión ha ocasionado algunos descuidos, errores y erratas, cuya corrección dejamos al buen juicio del lector. Algunas de ellas merecen señalarse:

| Página. | Línea. | DICE | DEBE DECIR |
|---------|---------|--|--|
| 96 | 4 | 30 g | De 1 a 10 g. |
| 96 | 16 | 40 cc. | 400 cc. |
| 115 | 10 | Weigter. | Weigert. |
| 117 | 27 | Heidenhain. | Heidenhain. |
| 118 | 1 | plomo. | romo. |
| 118 | 3 | tinitrofenol. | trinitrofenol. |
| 121 | 3 | Bömer. | Böhmer. |
| 121 | 18 | Heidenhain. | Heidenhain. |
| 124 | 34 y 36 | Heidenhain. | Heidenhain. |
| 125 | 12 | Mayory. | Mallory. |
| 125 | 22 | May-Grünwal. | May-Grünwald. |
| 125 | 22 | Papenheim. | Pappenheim. |
| 125 | 28 | Bialschowsky. | Bielschowsky. |
| 128 | 17 y 18 | | { Agua destilada 70 cc. { Formalina neutra . . . 30 » { Bromuro de amoniaco 3 g. |
| 159 | 12 | <i>miofrillas.</i> | <i>miofibrillas.</i> |
| 210 | 11 | Balbianit. | Balbiani. |
| 222 | 29 | Schneider. | Schleicher. |
| 226 | | { En las figs. 113, 114, 115, etc., } { se dice (según Flemming). } | { Según Flemming y Pre- { nant.) } |
| 236 | 17 | axiomático. | acromático. |
| 236 | 34 | Strssburger. | Strasburger. |
| 248 | 39 | hemípteros. | difteros. |
| 248 | 43 | Weinmann. | Weismann. |
| 250 | 34 | ocular. | ovular. |
| 264 | 7 | Nitrato de urano de 1 a 5 g. | De 1 a 0,5. |
| 264 | 19 | Formol 6 g. | Formol de 10 a 16 g. |
| 319 | 20 | 172 | 173 |
| 376 | 6 | Cohmein. | Cohnheim. |

Otras muchas erratas, sobre todo en lo tocante a la ortografía de los nombres propios, se han deslizado. El lector las subsanará.

RE DE ERATAS

La impresión de este libro se ha hecho en el taller de imprenta de la Biblioteca Nacional de España, en Madrid, en el mes de mayo de 1900.

| Nombre | Edición | Valor | Observaciones |
|--------------------|---------|-------|---------------|
| Alfonso X el Sabio | 1256 | 10 | |
| Alfonso XI | 1258 | 10 | |
| Alfonso XII | 1265 | 10 | |
| Alfonso XIII | 1268 | 10 | |
| Alfonso XIV | 1270 | 10 | |
| Alfonso XV | 1272 | 10 | |
| Alfonso XVI | 1274 | 10 | |
| Alfonso XVII | 1276 | 10 | |
| Alfonso XVIII | 1278 | 10 | |
| Alfonso XIX | 1280 | 10 | |
| Alfonso XX | 1282 | 10 | |
| Alfonso XXI | 1284 | 10 | |
| Alfonso XXII | 1286 | 10 | |
| Alfonso XXIII | 1288 | 10 | |
| Alfonso XXIV | 1290 | 10 | |
| Alfonso XXV | 1292 | 10 | |
| Alfonso XXVI | 1294 | 10 | |
| Alfonso XXVII | 1296 | 10 | |
| Alfonso XXVIII | 1298 | 10 | |
| Alfonso XXIX | 1300 | 10 | |
| Alfonso XXX | 1302 | 10 | |
| Alfonso XXXI | 1304 | 10 | |
| Alfonso XXXII | 1306 | 10 | |
| Alfonso XXXIII | 1308 | 10 | |
| Alfonso XXXIV | 1310 | 10 | |
| Alfonso XXXV | 1312 | 10 | |
| Alfonso XXXVI | 1314 | 10 | |
| Alfonso XXXVII | 1316 | 10 | |
| Alfonso XXXVIII | 1318 | 10 | |
| Alfonso XXXIX | 1320 | 10 | |
| Alfonso XL | 1322 | 10 | |
| Alfonso XLI | 1324 | 10 | |
| Alfonso XLII | 1326 | 10 | |
| Alfonso XLIII | 1328 | 10 | |
| Alfonso XLIV | 1330 | 10 | |
| Alfonso XLV | 1332 | 10 | |
| Alfonso XLVI | 1334 | 10 | |
| Alfonso XLVII | 1336 | 10 | |
| Alfonso XLVIII | 1338 | 10 | |
| Alfonso XLIX | 1340 | 10 | |
| Alfonso L | 1342 | 10 | |

Este libro es propiedad de la Biblioteca Nacional de España, y no puede ser vendido ni prestado sin el consentimiento de la misma.

ÍNDICE DE MATERIAS

| | Páginas. |
|---|----------|
| PRÓLOGO DE LA PRIMERA EDICIÓN | V |
| PRÓLOGO DE LA SÉPTIMA EDICIÓN | VII |
| PRÓLOGO DE LA OCTAVA EDICIÓN | IX |

PARTE PRIMERA

Técnica general.

| | |
|---|----|
| A. — INSTRUMENTOS DE OBSERVACIÓN Y SUS ACCESORIOS | 1 |
| CAPÍTULO I. — Microscopio. | |
| Microscopio simple. | 2 |
| Microscopio compuesto. | 7 |
| Teoría del objetivo. | 7 |
| Teoría de la formación de la imagen microscópica según Abbe. | 11 |
| Microscopio compuesto en la práctica. — Parte mecánica. | 18 |
| Parte óptica del microscopio compuesto | 21 |
| Objetivos | 26 |
| Propiedades de los objetivos. — Poder definidor. | 31 |
| Poder penetrante. | 32 |
| Ángulo de abertura. | 33 |
| Poder de resolver | 34 |
| Oculares | 36 |
| Microscopios para fines especiales | 39 |
| CAPÍTULO II. — Accesorios del microscopio. | |
| Dibujo directo. | 46 |
| Cámaras claras. | 47 |
| Microfotografía. | 50 |
| Micrómetros. | 59 |
| Aparato numerador de glóbulos | 62 |
| Aparato de polarización. | 64 |
| Microespectroscopio | 66 |

| | <u>Páginas.</u> |
|---|-----------------|
| CAPÍTULO III. — Objetos e instrumentos necesarios en los trabajos micrográficos. | |
| Porta y cubreobjetos | 68 |
| Luz para la iluminación del microscopio | 68 |
| Microtomos | 69 |
| Objetos de prueba | 77 |
| Cámaras húmedas | 78 |
| Cámaras calientes | 79 |
| B. — REACTIVOS | 81 |
| CAPÍTULO IV. — Reactivos, fijadores e indurantes | |
| Reactivos aclaradores y opacantes | 82 |
| Reactivos aisladores | 89 |
| Reactivos ablandantes o alterantes | 90 |
| Reactivos colorantes | 91 |
| Reactivos colorantes | 93 |
| Reactivos inofensivos. | 99 |
| Reactivos conservadores. | 100 |
| C. — MÉTODOS HISTOLÓGICOS | 102 |
| CAPÍTULO V. — Examen en vivo. | |
| Disociación | 103 |
| Método de los cortes | 106 |
| Secciones en tejidos blandos. | 107 |
| Secciones en tejidos duros. | 107 |
| Método de las coloraciones. — Consideraciones generales acerca de la coloración histológica. | 116 |
| Métodos generales en que se emplean colorantes orgánicos . | 117 |
| Métodos generales en que se emplean sales metálicas (de im- pregnación). | 120 |
| Coloración en masa. | 125 |
| Coloración en masa. | 129 |
| Coloraciones vitales | 130 |
| Inyecciones histológicas. | 131 |
| D. — CONSERVACIÓN DE LAS PREPARACIONES | 135 |
| CAPÍTULO VI. — Conservación en el Bálsamo del Canadá y otros líquidos. — En la glicerina. — Advertencia sobre el empleo de los métodos. — Groseros errores que pueden cometerse al examinar una preparación. | |
| | 135 |

PARTE SEGUNDA

Anatomía general.

| | <u>Páginas.</u> |
|--|-----------------|
| Concepto y división de histología o anatomía general. — Estequiología. — Citología. — Histología. — Organografía microscópica. | 141 |

SECCIÓN PRIMERA

Elementología.

| | |
|--|-----|
| CAPÍTULO I. — Concepto de la célula. | 144 |
| Teoría celular | 146 |
| Caracteres anatómicos | 147 |
| CAPÍTULO II. — Estructura celular | 152 |
| Membrana. | 152 |
| Protoplasma. | 155 |
| Reticulo. | 156 |
| Ectoplasma y endoplasma. | 159 |
| Esfera atractiva y centrosoma | 159 |
| Granulaciones glandulares. | 164 |
| Mitocondrias. | 166 |
| Aparato reticular interno de Golgi | 169 |
| Jugo celular. | 173 |
| Inclusiones. | 173 |
| Vacuolas. | 174 |
| Conductitos nutritivos intraprotoplásmicos | 175 |
| Concepciones teóricas sobre la construcción de protoplasma. | 177 |
| CAPÍTULO III. — Núcleo | 182 |
| Nucleolo | 188 |
| Membrana nuclear. | 191 |
| CAPÍTULO IV. — Constitución físico-química de la célula | 192 |
| CAPÍTULO V. — Fisiología celular. | |
| Irritabilidad. | 199 |
| Nutrición celular. | 204 |
| Movimientos celulares. | 214 |

| | Páginas. |
|--|----------|
| CAPÍTULO VI. — División celular | 219 |
| Segmentación directa o amitosis | 220 |
| Carioquinesis o segmentación indirecta | 222 |
| Conjugación | 236 |
| Desarrollo embrionario | 252 |
| Preparaciones de las células | 260 |

SECCIÓN SEGUNDA

Histología.

| | |
|--|-----|
| Concepto de histología. — Definición de tejido. — Clasificación de los tejidos | 267 |
| CAPÍTULO I. — Tejido epitelial | 269 |
| CAPÍTULO II. — Tejido del cristalino | 294 |
| CAPÍTULO III. — Sangre | 302 |
| Linfa y quilo | 332 |
| CAPÍTULO IV. — Tejidos de substancia conjuntiva | 337 |
| Consideraciones generales | 337 |
| Tejido conjuntivo propiamente dicho | 338 |
| Variedad conjuntiva laxa | 338 |
| Variedades conjuntivas fibrosas, corneal, citógena, elástica, reticular y membranosa | 351 |
| CAPÍTULO V. — Tejido adiposo | 379 |
| Tejido medular de los huesos | 382 |
| CAPÍTULO VI. — Tejido cartilaginoso | 391 |
| Variedad cartilaginosa hialina | 391 |
| Variedades cartilaginosas reticular y elástica | 397 |
| CAPÍTULO VII. — Tejido óseo | 405 |
| CAPÍTULO VIII. — Tejido dentario | 426 |
| CAPÍTULO IX. — Tejido muscular | 429 |
| Variedad muscular lisa | 440 |
| Variedad muscular estriada | 451 |
| Variedad estriada del corazón | 459 |

| | Páginas. |
|---|----------|
| CAPÍTULO X. — Tejido nervioso | 484 |
| Células nerviosas. | 484 |
| Células de neuroglia o de Deiters. | 504 |
| Fibras nerviosas ameduladas y meduladas. | 511 |
| CAPÍTULO XI. — Terminaciones nerviosas | 526 |
| Terminaciones motrices. | 528 |
| Terminaciones sensitivas | 533 |
| Terminaciones nerviosas sensoriales. — Olfativas. | 553 |
| Auditivas | 555 |
| Visuales. — Retina | 569 |
| CAPÍTULO XII.—Textura fundamental de los centros nerviosos. | 591 |
| Médula espinal. | 593 |
| Ganglios espinales o cerebrraquídeos. | 615 |
| Corteza cerebelosa | 626 |
| Corteza cerebral fundamental | 643 |
| Ganglios simpáticos | 665 |
| CAPÍTULO XIII. — Caracteres químicos y fisiológicos del tejido nervioso. — Neurogénesis | 678 |
| Caracteres químicos del tejido nervioso. | 678 |
| Propiedades fisiológicos del tejido nervioso | 678 |
| Desarrollo del tejido nervioso. — Evolución de las células germinales | 684 |
| Evolución de las células epiteliales y formación de la neuroglia | 691 |
| Mesoglia. | 697 |
| Desarrollo de los ganglios raquídeos | 697 |
| Desarrollo de los ganglios simpáticos. | 701 |
| Diferenciaciones ulteriores de las fibras nerviosas | 705 |
| Teorías generales acerca de la génesis de los nervios y vías nerviosas centrales. | 706 |
| Hipótesis tocante al mecanismo de orientación de los nervios y vías nerviosas centrales. | 711 |
| CAPÍTULO XIV. — Preparación del tejido nervioso. — Estudio de los nervios y centros nerviosos. — Métodos de la disociación y de los cortes | 715 |
| Método de Weigert. | 716 |
| Método de Pal. | 717 |
| Método de Spielmeyer | 718 |
| Método de Marchi | 719 |
| Método de Benda. — Método de Kultschitzky | 720 |

| | <u>Páginas.</u> |
|---|-----------------|
| Método para demostrar la estructura del protoplasma nervioso | 721 |
| Método para la demost. de la morfología de las neuronas . . . | 720 |
| Métodos para la coloración de la neuroglia | 726 |
| Métodos neurofibrillares | 731 |
| Impregnación argéntica de las neurofibrillas. | 732 |
| Método del nitrato de plata reducido | 733 |
| Fórmula de impregnación de los cortes especialmente aplica- ble al cerebelo (Cajal). | 736 |
| Demostración del aparato de Golgi. | 740 |
| TEJIDOS COMPUESTOS | |
| CAPÍTULO XV. — Tejido glandular. | 741 |
| Definición. | 741 |
| Caracteres macroscópicos | 741 |
| Clasificación. | 741 |
| Caracteres micrográficos | 644 |
| Glándulas arracimadas simples. | 745 |
| Glándulas arracimadas compuestas. | 746 |
| Glándulas tubulosas simples. | 759 |
| Glándulas tubulosas compuestas. | 764 |
| Glándulas reticuladas | 776 |
| Glándulas vesiculares. | 789 |
| Glándulas de secreción interna. | 800 |
| Tiroides. | 801 |
| Cápsula suprarrenal | 806 |
| CAPÍTULO XVI. — Tejido vascular. | 817 |
| Capilares | 817 |
| Sanguíneos | 817 |
| Linfáticos | 819 |
| Desarrollo de los capilares | 820 |
| Arterias musculares. | 822 |
| Arterias elásticas. | 823 |
| Bazo | 828 |
| CAPÍTULO XVII. — Tejido tegumentario | 833 |
| Piel. | 833 |
| Pelos. | 842 |
| Uñas | 847 |
| Mucosas | 848 |
| CAPÍTULO XVIII. — Tejido seroso | 864 |
| FE DE ERRATAS | 871 |





BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA



1104759101