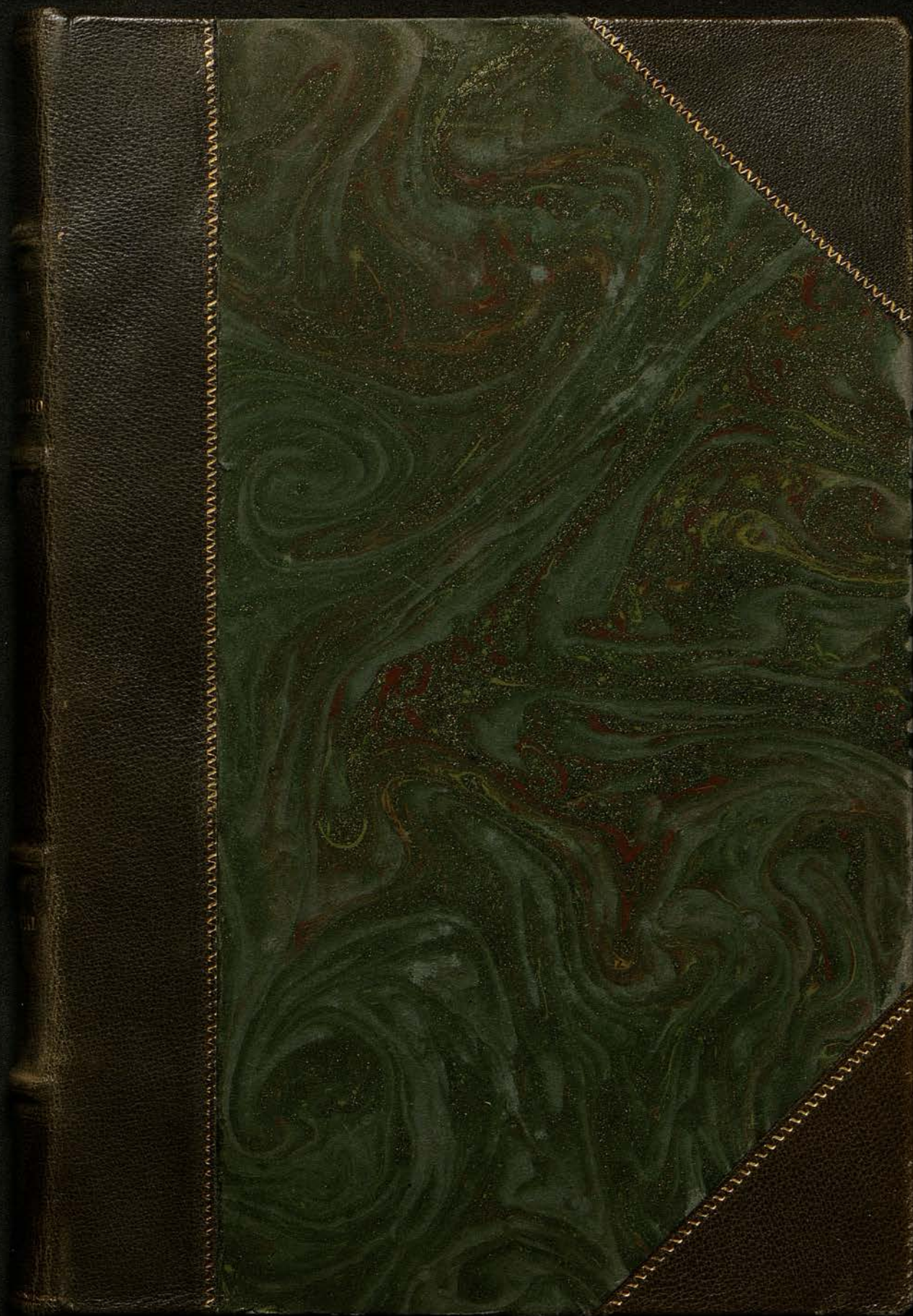






EX LIBRIS  
INSTITUTO  
CAJAL

Armario .....

Tabla .....

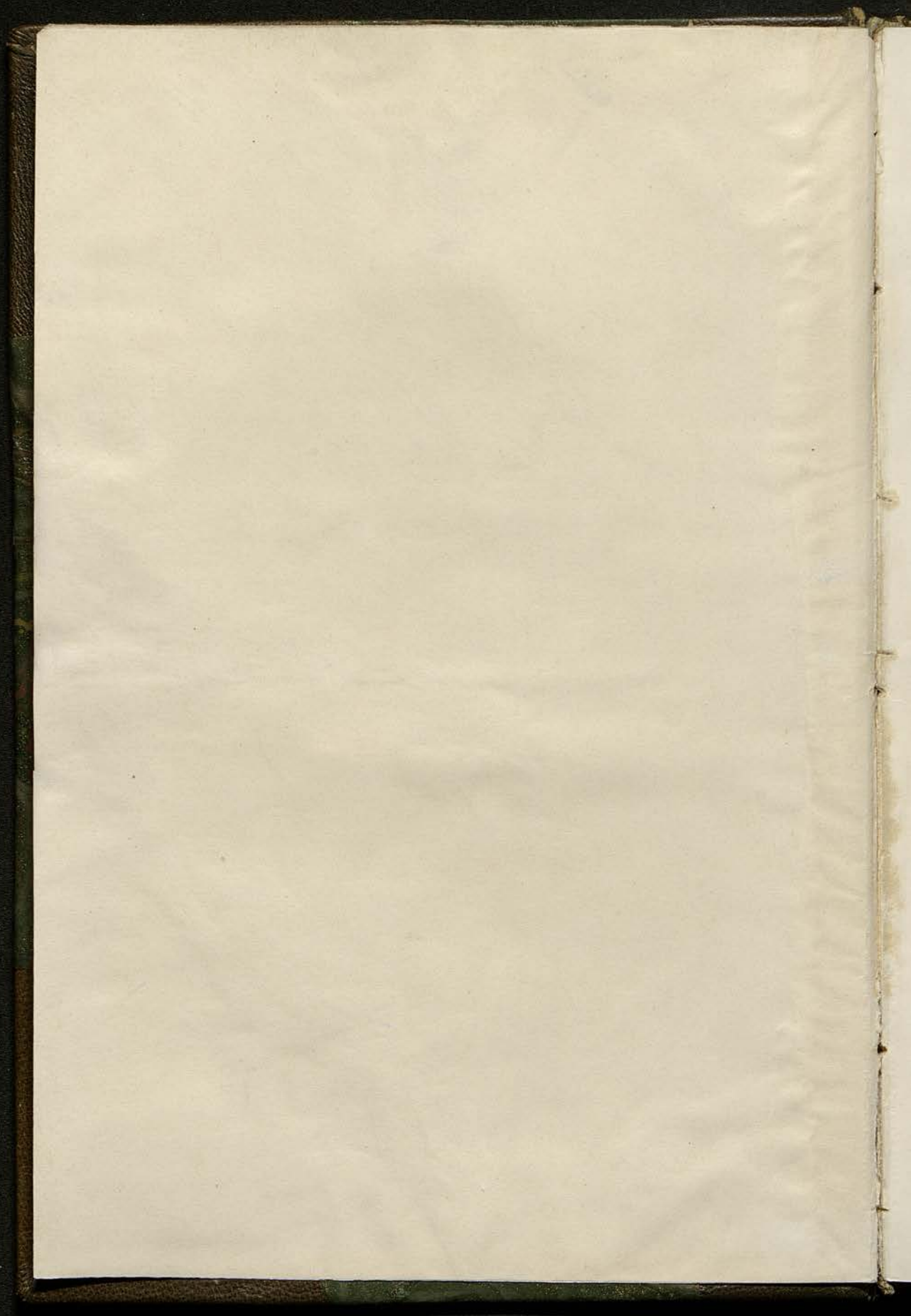
N.º .....

(R. ....600.).....









TRABAJOS  
DEL  
LABORATORIO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DE LA UNIVERSIDAD DE MADRID

(CONTINUACIÓN DE LA «REVISTA TRIMESTRAL MICROGRÁFICA»)

PUBLICADOS POR

S. RAMÓN CAJAL

*Profesor en la Facultad de Medicina de Madrid.*

---

TOMO VIII

(XIII DE LA «REVISTA TRIMESTRAL MICROGRÁFICA»)

---



MADRID  
IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA  
*Garcilaso, 6, y Carretas, 8*

1910



TRABAJO

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

DE LA UNIVERSIDAD DE MEXICO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

2. Fases de la vida

1. Fases de la vida de la planta

TOMO VII

ALGUNOS DE LOS RESULTADOS DE LAS INVESTIGACIONES

1937

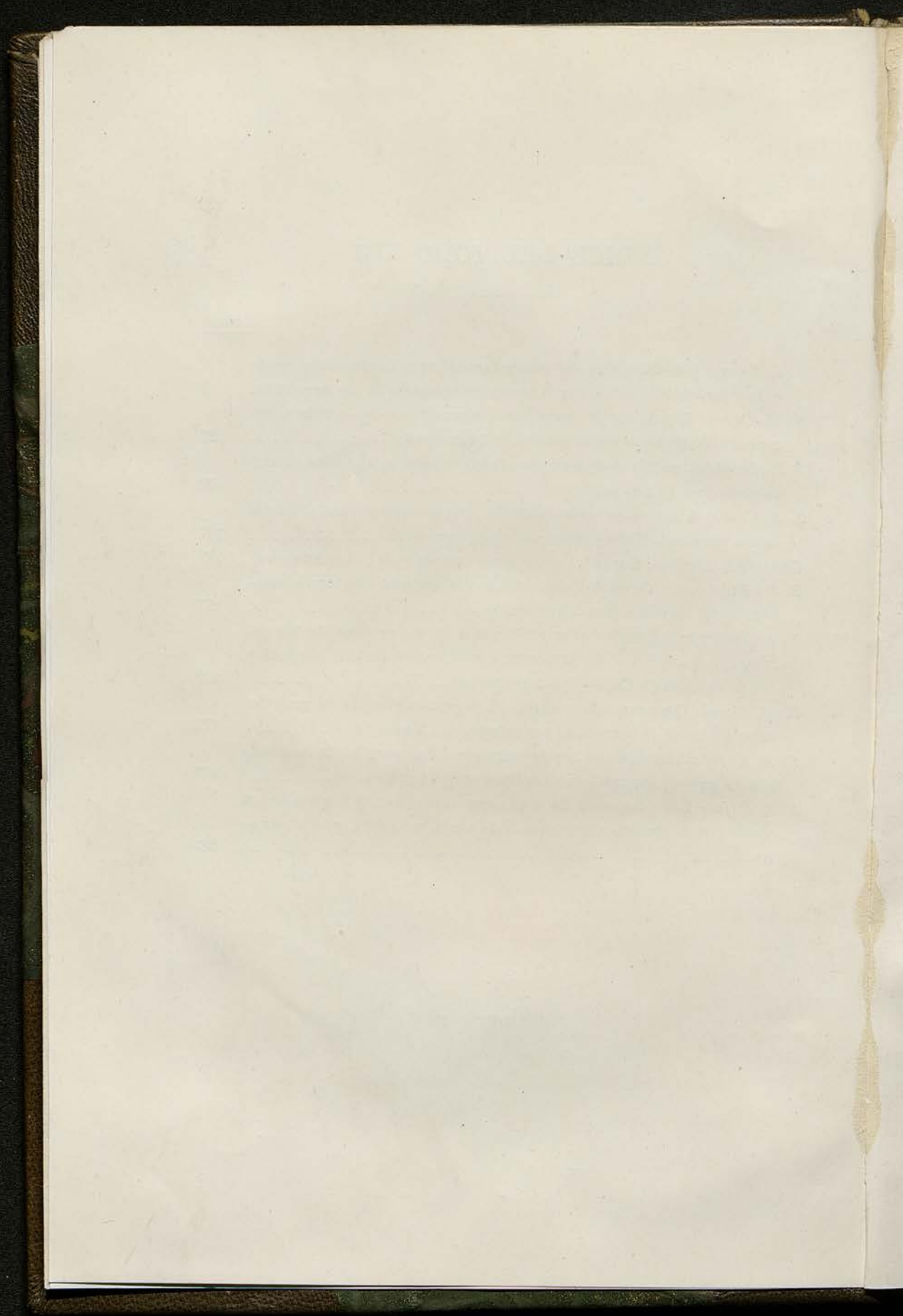
1937

## ÍNDICE DEL TOMO VIII

|                                                                                                                                                                                 | <u>Págs.</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <i>S. R. Cajal</i> : Las fórmulas del proceder del nitrato de plata reducido y sus efectos sobre los factores integrantes de las neuronas.                                      | 1            |
| <i>S. R. Cajal</i> : El núcleo de las células piramidales del cerebro humano y de algunos mamíferos (con 14 grabados).....                                                      | 27           |
| <i>S. R. Cajal</i> : Algunas observaciones favorables á la hipótesis neurotrópica (con 13 grabados).....                                                                        | 63           |
| <i>S. R. Cajal</i> : Algunos experimentos de conservación y autólisis del tejido nervioso. Nota preventiva (con 3 grabados).....                                                | 137          |
| <i>Gonzalo R. Lafora</i> : Sur la karyorrhesis neuroglíque (avec 2 figures).                                                                                                    | 149          |
| <i>E. del Río Lara</i> : Algunos datos concernientes á la anatomía patológica del leproma (con 3 grabados).....                                                                 | 157          |
| <i>N. Achúcarro</i> : Algunos datos relativos á la naturaleza de las células en bastoncito de la corteza cerebral humana obtenidos con el método de Cajal (con 4 grabados)..... | 169          |
| <i>S. R. Cajal</i> : Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas (con 5 grabados).....                                              | 177          |
| <i>S. R. Cajal</i> : Algunos hechos de regeneración parcial de la sustancia gris de los centros nerviosos (con 11 grabados).....                                                | 197          |
| <i>S. R. Cajal</i> : Las plaquetas de la sangre impregnadas dentro de los vasos por el proceder del nitrato de plata reducido (con un grabado).....                             | 237          |







# LAS FÓRMULAS DEL PROCEDER DEL NITRATO DE PLATA REDUCIDO Y SUS EFECTOS SOBRE LOS FACTORES INTEGRANTES DE LAS NEURONAS

POR

S. RAMÓN CAJAL

Desde que L. Simarro demostró con su método fotográfico de impregnación (1) la posibilidad de colorear las neurofibrillas con las sales de plata (yoduros, cloruros y bromuros), diversas fórmulas á base de nitrato argéntico ó de plata coloidal han sido imaginadas para hacer más enérgica y constante la impregnación de las neurofibrillas y extender la reacción á los axones finos, terminaciones nerviosas, constitución del núcleo y, en fin, á la neurogénesis y procesos regenerativos.

Entre los procederes hoy más usados ó que, en casos especiales, dan resultados más expresivos y eficaces, cuéntase, como es sabido, el de Bielschowsky á base de nitrato de plata amoniacal, el nuestro ó del nitrato de plata reducido, y el de Lugaro basado en el empleo de la plata coloidal.

No obstante la diversidad del *modus operandi*, los citados procederes fúndanse en el mismo principio: la producción ó la penetración en el espesor de las neuronas y fibras nerviosas de una disolución de plata coloidal, substancia que, en estado naciente, es vivamente atraída por el esqueleto neurofibrillar y los nucleolos.

Cada uno de los citados procederes tiene sus ventajas é inconvenientes. El de Lugaro, especialmente provechoso en el estudio de la retina, según hizo notar Rebizzi (2), da resultados poco brillantes en los centros nerviosos. El de Bielschowsky, muy en boga actualmente, produce escasa variedad de reacciones y es poco cómodo en el estudio de la neurogénesis y procesos regenerativos; pero posee, en cambio, las inestimables ventajas de ser aplicable con regularidad á cortes de piezas nerviosas fijadas en

(1) L. Simarro: Nuevo método histológico de impregnación por las sales fotográficas de plata. *Rev. trim. micr.*, tomo V, 1900.

(2) Rebizzi: Sulla struttura della Retina. *Riv. di Patol. nerv. e mentale*, vol. X, fasc. 5, 1905.



formol y de suministrar en los centros nerviosos del hombre resultados casi constantes. Recurso irremplazable será en aquellos casos en que no deba desperdiciarse la menor parcela de la pieza á investigar. En fin, el proceder del nitrato de plata reducido, aunque adolece del defecto de ser difícilmente aplicable á extensos cortes del cerebro humano y nos impone, además, el sacrificio de la región superficial de las piezas, presenta estas dos excelencias: la comodidad y simplicidad de las manipulaciones á causa de la impregnación global, y la rica variedad de efectos obtenidos á poco que cambien la composición del fijador y la proporción del nitrato de plata de la solución impregnadora.

En efecto; según el fijador empleado y el modo de la fijación, cambian las afinidades de los diferentes componentes morfológicos de la célula hacia la plata coloidal, consiguiéndose con regularidad y según los casos la coloración casi exclusiva de las siguientes partes: las neurofibrillas del soma y dendritas; las fibras nerviosas meduladas; las fibras nerviosas ameduladas y terminaciones pericelulares y musculares; las esférulas del nucleolo; los grumos del jugo nuclear; las finas esférulas del nucleoplasma; el bastoncito intranuclear de Roncoroni; el sistema reticular interno y externo de Golgi, y, en fin, las fibras colágenas perivasculares. De todos estos interesantes efectos nos ocuparemos más adelante. Por ahora haremos notar que cada uno de ellos se asocia á un modo particular de fijación, aun cuando casos hay en que coinciden en la misma pieza dos ó más de tales reacciones.

De sobra conocido es hoy el proceder del nitrato de plata reducido. Ensayado por un gran número de neurólogos, ha conducido en manos de Tello, Van Gehuchten, mi hermano, Michotte, Nageotte, Marinesco, Retzius, Perroncito, Levi, L. Sala, G. Sala, Sánchez, Held, Lenhossék, etcétera, á interesantes hallazgos.

No nos detendremos, pues, en consignar detalles técnicos ya expuestos en otros trabajos (1). Empero desde el año 1903, en que vió la luz la pri-

(1) *S. R. Cajal*: Sobre un sencillo método de impregnación de las fibrillas interiores del protoplasma nervioso. *Arch. latinos de Medicina y Biología*, núm. 1, Octubre de 1903.

*Idem*: Un sencillo método de coloración selectiva del retículo protoplásmico, & *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo II, 1903.

*Idem*: Algunos métodos de coloración de los cilindros-ejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo III, 1904.

*Idem*: Asociación del método del nitrato de plata con el embrionario, & *Ebenda*, tomo III, 1904.

*Idem*: L'appareil reticulaire de Golgi-Holmgren coloré par le nitrate d'argent. *Trav. du Lab. de Rech. biol.*, vol. V, 1907.

*Idem*: Quelques formules de fixation destinées á la méthode du nitrate d'argent réduit. *Trav. du Lab. de Rech. biol.*, vol. V, 1907.



mera fórmula de dicho método, la experiencia de varios neurólogos y los innumerables ensayos efectuados por nosotros durante el último lustro, nos han conducido á la adopción de algunas nuevas fórmulas de fijación y permitido mejorar la antigua técnica, determinando con más precisión el valor real de las condiciones del éxito, tales como: la temperatura, el tiempo de permanencia en la estufa, la composición del baño argéntico y la del reductor, la influencia de los álcalis y ácidos, los medios conductores á abreviar el proceso impregnador mediante la incorporación al fijador de sustancias aceleradoras, etc.

En vista de la extensión alcanzada por estos estudios técnicos, aparecidos por otra parte en diversas comunicaciones, parécenos conveniente reunir aquí las fórmulas de que nos servimos actualmente, consignando los principales perfeccionamientos del método y las condiciones bajo las cuales se obtienen determinados resultados. Para evitar perifrasis, cada fórmula llevará un número de orden y sus variantes serán designadas por letras.

#### I.—FÓRMULAS QUE IMPREGNAN ESPECÍFICAMENTE LAS NEUROFIBRILLAS

FÓRMULA 1.<sup>a</sup> Según es sabido, esta fórmula consiste en reducir, mediante el ácido pirogálico ó la hidroquinona, trozos delgados de tejido nervioso sumergidos, sin previa fijación y durante tres días, en nitrato de plata caliente (35 á 38°).

He aquí el *modus operandi*:

1.º Inmersión, durante tres ó cuatro días, de delgados trozos de tejido nervioso en solución acuosa de nitrato de plata al 1'5 por 100. Estufa á 35°.

2.º Lavado durante algunos segundos en agua para descartar el nitrato de plata superficial.

3.º Reducción por veinticuatro horas en este líquido:

|                                        |                |
|----------------------------------------|----------------|
| Acido pirogálico (ó hidroquinona)..... | 1 gramo.       |
| Agua.....                              | 100 cent. cúb. |
| Formol (1).....                        | 5 á 10 —       |

(1) El *formol* no es absolutamente necesario para la reacción, pero es conveniente porque aumenta la finura del precipitado. En vez del *formol*, cabe usar la piridina (agua, 100; ácido pirogálico, 1; piridina, 1 á 3); la impregnación resulta algo más pálida y roja, pero la coloración de las neurofibrillas gana algo en delicadeza. Los álcalis, que suelen asociarse á los reveladores fotográficos, dan mal resultado. El baño reductor tolera, á lo más, sin daño de la selección neurofibrilar, una pequeña cantidad de sulfito de sosa (0'5 por 100 de agua). La adición de alcohol, acetona, glicerina, &c, nos parece superflua en la mayoría de los casos.

En general, cuanto más fuerte es la dosis de ácido pirogálico, más contraste



4.º Lavado rápido en agua, endurecimiento en alcohol, inclusión de las piezas en parafina ó celoidina.

5.º Cortes finos (de 15 á 20  $\mu$ ) que se montan en bálsamo ó damar, previo viraje en la solución de cloruro de oro (cuando la reacción es pálida), ó sin viraje (cuando la reacción es vigorosa y la polieromia de la impregnación aumenta el contraste de las diversas partes del tejido nervioso).

Esta fórmula, la primera publicada por nosotros, tiene desgraciadamente el defecto de fijar imperfectamente el tejido nervioso y de impregnar casi exclusivamente el soma y dendritas, mostrando vagamente coloreadas ó totalmente incoloras las fibras nerviosas y sus ramificaciones terminales. Además, la zona utilizable (situada entre la superficial harto obscura y la profunda demasiado pálida) resulta con frecuencia tan pequeña, que es difícil aplicar el método á investigaciones anatómico-patológicas (1).

A causa de tales inconvenientes preferimos hoy las fórmulas á base de fijador neutro ó alcalino, porque con ellas la reacción suele ser más enérgica, completa y penetrante.

Con todas sus desventajas hay, sin embargo, ocasiones en que la *fórmula 1.ª* resulta difícilmente reemplazable. Recurriremos de preferencia á ella cuando deseemos obtener la impregnación de las pequeñas neuronas (pequeñas y medianas pirámides de la corteza cerebral, granos del cerebelo, corpúsculos funiculares diminutos de la médula espinal, etc.), así como los elementos de los embriones muy tempranos.

Para los ganglios y voluminosas neuronas de los animales adultos, dicha fórmula es poco provechosa. En general, el armazón de las gruesas células de la médula y bulbo (neuronas motrices y las de tipo fasciculado) se impregna débilmente, tomando matiz rojo claro y depositándose entre las neurofibrillas un precipitado granuloso amarillento que disminuye el contraste. En cambio, las neurofibrillas de las células medianas y pequeñas (por ejemplo, las yacentes en la médula espinal de los animales recién nacidos ó de pocos días) resaltan á menudo vigorosamente sobre un neuroplasma incoloro ó amarillento, lográndose además matices

ofrecen las neurofibrillas y las fibras nerviosas, pero más se exagera también el obscurecimiento de las regiones superficiales de las piezas. El 1 por 100 es un término medio provechoso; puede, empero, llegarse sin grave inconveniente al 3 por 100.

(1) La zona superficial, demasiado negra, disminuye en espesor si durante las últimas doce horas se abandonan las piezas (antes de la reducción, naturalmente) en un baño débil de nitrato argéntico (nitrato al 0'75 ó al 1 por 100). Este segundo baño de plata será útil, sobre todo cuando por la naturaleza del objeto se nos impongan, para el fijado inicial, las soluciones de nitrato de plata al 3 ó al 6 por 100.



— que van desde el negro pardo al rojo — característicos de cada tipo celular.

Para casos especiales, son de aconsejar las siguientes variantes de la fórmula 1.<sup>a</sup>:

**Fórmula 1.<sup>a</sup> A.** Consiste en el empleo del nitrato de plata disuelto en proporción del 3 al 6 por 100. Aumentando la dosis del reactivo, la fijación mejora y se consiguen con facilidad excelentes coloraciones de las terminaciones nerviosas sensitivas (Dogiel) de la cadena ganglionar de los hirudíneos (Cajal, Azoulay, Nageotte, Sánchez, Rebizzi, etc.).

**Fórmula 1.<sup>a</sup> B.** Solución de nitrato de plata al 0'75 sobre pequeñas piezas. Con este líquido, la fijación es imperfecta y las células se retraen mucho; pero, en cambio, las neurofibrillas se tiñen con intensidad, destacan notablemente los gránulos del nucleolo y aparece, en fin, el *bastoncito intranuclear* de Roncoroni.

**Fórmula 1.<sup>a</sup> C.** El fijador consiste en solución argéntica al 2 por 100, adicionada de  $\frac{1}{4}$  de alcohol absoluto ó de acetona. Este líquido fija mejor que la solución argéntica sola y produce una reacción intermedia entre la fórmula 1.<sup>a</sup> y la 2.<sup>a</sup> (fijación en alcohol). Donde mejores resultados proporciona es en el cerebro y cerebelo humanos, en los cuales suele dar una buena coloración de las fibras nerviosas. En el perro, gato, conejo, etcétera, sus efectos desvían poco de los de la fórmula 1.<sup>a</sup>

**Fórmula 2.<sup>a</sup>** Fijación en el alcohol de 96° por veinticuatro horas; lavado rápido, ó mejor aún, enjugamiento de las piezas en papel chupón, inmersión por siete días en nitrato de plata caliente al 1'50 por 100 (estufa á 35°), reducción y demás operaciones como en la fórmula 1.<sup>a</sup>. Con la estufa á 40° bastan seis días.

Este modo de fijar con alcohol puro sin álcali ni acelerador, da frecuentemente enérgicas y bellísimas impregnaciones en el cerebro, cerebelo y ganglios adultos, en las terminaciones nerviosas periféricas, en los nervios en vías de regeneración, y, en fin, en los embriones tempranos (embrión de pollo desde las sesenta horas en adelante). También suministra espléndidas series de cortes de los peces jóvenes. La principal excelencia de esta fórmula, consiste en presentar con bello contraste y sobre fondo claro las fibras nerviosas meduladas (y muchas ameduladas) de los centros, impregnando al mismo tiempo todas las voluminosas y medianas neuronas con sus nucleolos. Por ejemplo: en el cerebro colóranse espléndidamente las *cestas* de las células de Purkinje, así como los plexos de la capa de los granos; en el cerebro aparecen, además de las fibras nerviosas, las gruesas y medianas pirámides con sus largos tallos y dendritas, etc.

En cuanto á las neurofibrillas, su aspecto varía según el órgano y el



animal impregnados. En las robustas pirámides del cerebro (conejo, gato, etc.) tales hebras muéstranse finamente impregnadas; al paso que en el bulbo y médula espinal exhiben un aspecto ligeramente granuloso. Semejante defecto carece de importancia cuando, según ocurre á menudo, no se busca tanto estudiar la arquitectura del armazón neurofibrillar, como explorar la disposición de los plexos nerviosos y la morfología y distribución de las dendritas. En los embriones y animales jóvenes, la reacción suele ser, por lo que toca á las neurofibrillas intrasomáticas, más fina y elegante que en los animales adultos.

La citada fórmula 2.<sup>a</sup> es bastante segura y regular en sus efectos. A veces, sin embargo, se presenta un accidente cuya causa no hemos podido precisar. El centro de la pieza da una impregnación aceptable, pero la periferia aparece grisácea y sembrada de gránulos visibles exentos de selección. Este depósito granuloso, sin carácter coloidal, excepcional en el cerebelo y cerebro, más raro todavía cuando se trata de la médula espinal, preséntase, con relativa frecuencia, en los embriones y en los nervios en vías de regeneración. Quizás dimana tal defecto (que puede comprender, en ocasiones, todo el espesor de la pieza) de la desigual alcalinidad de la substancia nerviosa, insuficiente á veces para coadyuvar al estado coloidal del depósito metálico.

De todos modos, la condición química de esta precipitación irregular no obra con uniformidad, antes bien varía según los animales y según los centros nerviosos; habiéndonos ocurrido más de una vez que, entre varios órganos procedentes de un mismo mamífero y tratados exactamente igual, el cerebelo dió excelente resultado, el cerebro mediano y pésimo nervios y ganglios.

De todos modos, y al objeto de asegurar mejor el estado coloidal del depósito argéntico, nosotros preferimos actualmente, sobre todo trabajando en animales adultos, al fijador alcohólico puro, el alcohol con acelerador, es decir, adicionado de una substancia de función más ó menos alcalina, ó de efectos análogos á los causados por los álcalis. Aparte de prestar más uniformidad y constancia á la reacción, tales materias abrevian el tiempo de permanencia de las piezas en la estufa. De ahí el nombre de *aceleradores* con que les designamos.

A este propósito de abreviar el tiempo de acción del baño argéntico, hemos emprendido innumerables ensayos. Muchas substancias orgánicas líquidas ó sólidas, neutras ó alcalinas (los ácidos son fatales á la coloración neurofibrillar), han sido reiteradamente probados, tales como los aldeidos, los alcaloides, las bases orgánicas sólidas y líquidas, ciertas aminas y amidas, los hipnóticos y anestésicos y diversas materias nitrogenadas de varia complicación molecular. Todas ellas se han empleado



disueltas en alcohol, con un tiempo de acción variable entre doce y cuarenta y ocho horas.

Muchas de ellas se nos han mostrado indiferentes ó perjudiciales; otras hacen más lenta y difícil la reacción; algunas, en fin, la favorecen, acelerando la fase de madurez de las piezas, sin inducir cambio marcado en los efectos ó modificándolos ligeramente. Entre estas últimas, hemos preferido aquellas que, mostrándose aceleradoras, prestan á la fijación alcohólica más constancia de acción, y convienen, por tanto, á un trabajo regular. Tales son el *hidrato de cloral*, el *veronal*, la *piridina*, la *nicotina*, la *etilamina*, la *antipirina*, etc. Hagamos notar que, cuando se trata de embriones muy tempranos, los aceleradores aprovechan menos que el alcohol puro.

He aquí las fórmulas con acelerador más aconsejables:

**Fórmula 2.<sup>a</sup> A.** Consiste el fijador en 50 cent. cúb. de alcohol de 96°, adicionados de un gramo de hidrato de cloral. Tiempo de acción: de veinticuatro á cuarenta y ocho horas. Las piezas permanecen en estufa (nitrato de plata al 1'50 por 100) cinco días, etc. La coloración de los tubos nerviosos se obtiene con gran regularidad, aun en la superficie de las piezas y aparecen numerosas fibras ameduladas. Si la temperatura de la estufa varía poco, la reacción puede darse como constante.

Dejamos dicho que, á iguales dosis y condiciones, da también buenos resultados el *veronal*. Otros hipnóticos, tales como el *sulfonal*, *trional*, el *hedonal*, etc., así como diversas materias de función más ó menos alcalina (*lisidina*, *fibrolisina*, *piocianina*, *cloramida*, *paramidón*, *quinolina*, *piperidina*, *piperacina*, *neuronal*), son asimismo eficaces. Algunos cuerpos, tales como la *tiosinamina* y la *exametiltetramina*, reducen á tres días el tiempo de permanencia en estufa, pero exigen dosis menores (0'5 por 50 cent. cúb. de alcohol).

Los hipnóticos, y singularmente el *veronal* y el hidrato de cloral (2 gramos por 50 de alcohol), aprovechan, además, para reavivar la afinidad hacia la plata coloidal de las fibras nerviosas, cuando semejante apetencia se ha debilitado por excesiva permanencia del tejido nervioso en el alcohol. Así, trozos de cerebro y cerebelo humano que se habían abandonado durante medio año en alcohol de 96°, y que dieron coloraciones débiles, mostráronlas enérgicas y excelentes, después de someterlas (antes de la inmersión en el baño argéntico) al alcohol-*veronal* ó al alcohol-cloral. Tan singular estado, que designaremos de *rejuvenecimiento* de las piezas, consiguiese también, aunque quizás menos marcadamente, con la *piridina* y el alcohol amoniacal. Sobre este punto, sin embargo, es preciso aún emprender nuevos experimentos.

**Fórmula 2.<sup>a</sup> B.** Fijación en alcohol adicionado de *piridina* (5 á 10 de



piridina por 50 de alcohol absoluto). Con este líquido, el tiempo se limita á cinco días, y la reacción, particularmente en lo que toca á las fibras nerviosas, es regular y constante. Antes de llevar las piezas al nitrato de plata conviene sumergirlas, durante algunas horas, en alcohol puro para extraer la piridina.

**Fórmula 2.<sup>a</sup> C.** La fijación se hace en 50 cent. cúb. de alcohol adicionado de 10 gotas de *nicotina*. Acción, veinticuatro horas. Las piezas, enjugadas en papel chupón (sin lavar), llévase al nitrato de plata, donde permanecen cinco días. Si la estufa llega á 40°, bastarán cuatro días.

Esta fórmula da buenos resultados en los centros nerviosos adultos, singularmente en la médula espinal. El nitrato de plata penetra profundamente, y las neurofibrillas se presentan más finamente que con la fijación en el alcohol solo. En fin, la retracción de las células es también menos de temer.

Como sucedáneos del alcohol etílico podremos servirnos de otros alcoholes, particularmente del *metílico*, del *propílico* y del *butílico*. Entre los alcoholes bivalentes es muy de recomendar el alcohol *alílico*, cuyo poder fijador se parece mucho al del formol; he aquí la fórmula:

**Fórmula 2.<sup>a</sup> D.** Fijación en *alcohol alílico*.

1.º Las piezas son induradas por un día en el alcohol alílico industrial (el químicamente puro no es necesario, y resulta demasiado caro). Los órganos nerviosos toman el aspecto del caucho y cierta semitransparencia, que recuerda los efectos de la piridina pura.

2.º Lávense por algunas horas en agua renovada.

3.º Llévase por un día al alcohol amoniacal (alcohol etílico, 50; amoníaco, 4 gotas).

4.º Nitrato de plata durante cuatro días (estufa de 35 á 38°).

5.º Reducción como de ordinario.

Obtiénese una excelente coloración de las fibras nerviosas del hombre, por ejemplo, de los plexos del cerebro y del cerebelo, etc. La reacción parece más constante que la obtenida por el alcohol etílico. Cabe también llevar directamente las piezas desde el alcohol alílico al nitrato de plata; los resultados son buenos, pero la impregnación es algo menos enérgica que con la fórmula anterior.

Otro buen fijador es el *acetal* (*alcoholato de aldehído*), el cual proporciona excelente coloración de las fibras meduladas y ameduladas.

En fin, en defecto del alcohol etílico se empleará con éxito la acetona. Para evitar la retracción excesiva de los tejidos, se comenzará la fijación por la acetona adicionada de 25 por 100 de agua (seis horas), terminándola con la acetona pura (veinticuatro horas). La acetona con gotas de amoníaco, al modo de la 3.<sup>a</sup> fórmula, es asimismo aplicable.



FÓRMULA 3.<sup>a</sup> Uno de los mejores fijadores es, sin disputa, el *alcohol amoniacal*, ya hace tiempo preconizado por Bethe para su método de coloración de las neurofibrillas al azul de toluidina. Mas para utilizar este fijador en el proceder del nitrato de plata reducido, su alcalinización ha de ser ligera, so pena de que la impregnación palidezca demasiado, y de que aparezcan en las células precipitados irregulares.

La fórmula de fijación más conveniente en la mayoría de los casos es ésta: alcohol de 96°, 50 cent. cúb.; amoniaco (concentración 22), 4 á 5 gotas. Tiempo de acción, de veinte á cuarenta y ocho horas (1) y por término medio un día. A favor de este fijador, lógranse buenas coloraciones en la mayoría de los centros nerviosos (cerebro, cerebelo, retina, médula espinal, embriones no muy tempranos, etc.), así como en los nervios en vías de regeneración. Aunque el depósito argéntico se fija bien en las neuronas y axones gruesos, prefiere á menudo las fibras ameduladas y las terminaciones nerviosas (cestas pericelulares del cerebelo, botones de Held-Auerbach de la médula, etc.). En el gran simpático humano es insustituible y superior á la fórmula 2.<sup>a</sup> por la finura con que revela las finas dendritas subcapsulares y los ovillos nerviosos. También cuando deseemos una impregnación fina de las neurofibrillas del soma (neuronas grandes y medianas), debemos preferirla á las demás.

No insistiremos aquí sobre las ventajas de la fórmula 3.<sup>a</sup>, ya que es precisamente la más conocida y empleada por los autores. Singularmente propicia se ha mostrado en estos últimos años á cuantos se han servido de ella para el estudio de los fenómenos regenerativos (Cajal, Perroncito, Marinesco y Minea, Nageotte, Lugaro, G. Sala, Tello, etc.). Sólo añadiremos algunos consejos encaminados á evitar ciertos defectos del empleo exclusivo de la citada fórmula.

Uno de los inconvenientes consiste en la retracción de las piezas y en el encogimiento de las células, efectos dependientes de la acción bien conocida de los alcoholes fuertes. Se evitarán, como de ordinario, pasando sucesivamente aquéllas desde un alcohol flojo á otro más enérgico.

A este propósito, nosotros solemos comenzar fijando las piezas en el alcohol al 70 por 100 (sin amoniaco), durante seis horas; pasan después al alcohol á 85°, y terminamos la operación inmergiéndolas por un día en alcohol de 96° amoniacal.

El tanto de amoniaco debe variar según los órganos y el resultado deseado. Para el cerebro, la proporción de álcali será pequeña (de 1 á 3 gotas); en el cerebelo puede llegarse sin inconveniente á 4, lo mismo

(1) Tratándose de piezas muy pequeñas, el tiempo de fijación podrá, sin inconveniente, descender á seis ú ocho horas.



que para la exploración de los ganglios, médula espinal, fenómenos regenerativos, etc. Mas si nuestro propósito es analizar las neurofibrillas de las gruesas neuronas del bulbo y médula espinal, la dosis debe subir á 9 ó 10 gotas (alcohol, 50 cent. cúb.). Un excelente objeto para la revelación del esqueleto neurofibrillar y para adiestrarse además en el manejo del amoníaco, es la médula espinal del perro recién nacido ó de pocos días.

Regla general (con excepción de los órganos jóvenes), cuanto mayor sea la proporción de amoníaco, más pálidas se presentarán las células y axones medulados y más tendencia mostrará la plata coloidal á seleccionar las fibras finas ameduladas y terminaciones nerviosas (*reacción B*). Hay, sin embargo, un límite de alcalinidad (10 á 12 gotas por 50 de alcohol) que no puede traspasarse sin dañar á la regularidad y belleza de la reacción.

Como hemos consignado al tratar de la fórmula 2.<sup>a</sup>, las piezas no serán lavadas al extraerlas del fijador, sino simplemente enjugadas en papel chupón. La extracción del amoníaco superficial hace desigual la reacción.

En cuanto al tiempo de conservación de las piezas en la estufa, variará según la temperatura y la dimensión de las mismas. Organos pequeños guardados en estufa á 40°, sólo exigen cuatro á cuatro días y medio. Piezas medianas ó grandes (3 á 4 milímetros de espesor), en estufa de 32 á 35°, permanecerán cinco días en el baño de plata. Una buena indicación de la madurez para la reducción, consiste en el color: el tinte blanco amarillento del tejido nervioso, indica fase de crudeza; el pardo muy obscuro, denota madurez excesiva; el tono pardo claro, traduce la fase de madurez. En fin, la disminución en el tanto de amoníaco (1 á 2 gotas por 50 cent. cúb. de alcohol) prolongará en doce ó más horas la acción del baño de plata.

El baño reductor es el mismo de la fórmula 1.<sup>a</sup> Conviene recordar, sin embargo, que el contraste entre el fondo y las fibras aumenta con la proporción del ácido pirogálico y disminuye con el exceso de madurez.

Cuando los órganos están empotrados en huesos que deben ser decalcificados, será conveniente llevar las piezas, una vez reducidas y lavadas, á un líquido decalcificante. El alcohol de 96°, con algunas gotas de ácido nítrico, da bastante buen resultado.

**Fórmula 3.<sup>a</sup> A.** Consiste en la adición al alcohol amoniacoal de cierta cantidad de glicerina. El baño siguiente nos ha dado buenos resultados:

|                       |               |
|-----------------------|---------------|
| Alcohol de 96°.....   | 50 gramos.    |
| Glicerina neutra..... | 10 —          |
| Amoníaco.....         | VI á X gotas. |



Este fijador da, por lo común, buenas coloraciones de la retina, fibras ameduladas y, sobre todo, de los botones de Held-Auerbach.

**Fórmula 3.<sup>a</sup> B.** En vez de amoníaco, cabe asociar al alcohol la *etilamina* ó la *dietilamina*.

La fórmula á la etilamina, cuyos resultados coinciden con los del alcohol amoniacal, se compone de:

|                                                  |                |
|--------------------------------------------------|----------------|
| Etilamina (solución alcohólica al 33 por 100)... | 1'5 cent. cúb. |
| Alcohol de 96° .....                             | 50 —           |

**FÓRMULA 4.<sup>a</sup>** Fijación en formol y endurecimiento subsiguiente en alcohol amoniacal.

La fijación en formol, muy usada actualmente en Histología, y operación preliminar del proceder de Bielschowsky, fué hace tiempo asociada por nosotros al método del nitrato de plata reducido.

En un principio empleábamos el formol al 10 por 100, con ó sin gotas de amoníaco (1). Seguía un lavado prolijo de las piezas, que se llevaban al alcohol, donde permanecían veinticuatro horas. Este método, esencialmente idéntico al usado por Levaditi para el teñido del espirocheto de la sífilis, daba á menudo coloraciones poco expresivas. En el *lumbricus* (formol amoniacal no seguido de fijación en alcohol), dicho líquido impregna muy bellamente la neuroglia (2). Pero actualmente, y por lo que á los mamíferos concierne y después de numerosas probaturas, nos hemos detenido en el siguiente proceder:

1.º Las piezas, que no deben pasar de 4 milímetros de espesor, fíjanse, durante seis á doce horas, en formol al 15 por 100.

2.º Lavado perfecto, durante seis ó más horas, en agua corriente para extraer el formol.

3.º Inmersión de las piezas, durante veinticuatro horas, en el alcohol amoniacal (alcohol de 96°, 50; amoníaco, 5 gotas).

4.º Enjugadas las piezas en papel chupón, llévanse por cinco días al nitrato de plata (si la estufa está á 38 ó 40°, cuatro días tan sólo).

Las demás operaciones, como en la fórmula primera.

Si durante el lavado, las piezas se hincharan demasiado, en vez de agua corriente se usará el agua destilada adicionada de un tercio ó un cuarto de alcohol, y renovada varias veces.

Obtiénese corrientemente con esta fórmula una muy expresiva impregnación de las fibras finas ó ameduladas de los centros nerviosos, así como

(1) *Cajal*: Algunos métodos de coloración, &. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo III, 1904.

(2) *Idem*: *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo III, 1904.



de los botones de los nidos pericelulares. Preferibles son los animales adultos á los jóvenes. En el cerebelo, suministra bellísima y enérgica coloración de las arborizaciones de las fibras musgosas. En cambio, los axones gruesos tiñense de amarillo pálido. Salvo en las capas superficiales de las piezas, el esqueleto neurofibrillar del soma aparece poco impregnado, lo que da superior resalte á los nidos pericelulares. En los nervios en vías de regeneración impregna solamente las fibras neoformadas.

**Fórmula 4.<sup>a</sup> A.** Consiste en fijar en una mezcla de formol y alcohol. La fijación se hace mejor y más rápidamente, pero los resultados se asemejan más á los conseguidos con el alcohol amoniacal que á los logrados con la fórmula 4.<sup>a</sup>

Fijadas las piezas, procédese á su lavado en agua corriente, para descartar el formol. Regla general: los fijadores, máxime si son fuertemente alcalinos y obran como precipitantes del nitrato de plata, deben desaparecer de la trama nerviosa antes de la inmersión de las piezas en la sal argéntica; la más pequeña reliquia de tales sustancias (formol, piridina, etc.), debilita la coloración, prestando á las neurofibrillas tonos rojizos claros. Sólo los alcoholes, con ó sin amoníaco, se exceptúan de esta regla.

**Fórmula 5.<sup>a</sup>** Fijación á la *piridina*. Introducido en la técnica neurofibrillar por Donaggio, y aconsejada primeramente por Lugaro para la fijación de las piezas destinadas á la impregnación argéntica, la piridina ha sido muy empleada en estos últimos años por Held (1), que la ha aplicado de preferencia á la coloración neurofibrillar de los embriones.

Nuestras observaciones, confirmatorias de las de Held, nos permiten declarar que la piridina es el fijador más conveniente para el estudio de las primeras fases de la neurogénesis. Tiñe enérgicamente las neurofibrillas y fibras nerviosas, que destacan sobre un fondo amarillo transparente (los núcleos no se colorean) y aumenta notablemente la fuerza de penetración del nitrato de plata. Ventajas importantes son también: la constancia de la impregnación y la igualdad del teñido, que se obscurece apenas en el contorno de los órganos nerviosos. En compensación, cuando se trata de órganos adultos, la fijación en piridina da resultados mediocres é inferiores á los conseguidos con alcohol, adicionado ó no de acelerador, así como con el alcohol amoniacal, etc. No obstante, obtiéndose con ella bastante bien impregnados los plexos nerviosos de fibras ameduladas y meduladas finas del cerebro y del eje medular, las rosáceas de las fibras musgosas del cerebelo y las terminaciones nerviosas periféricas. En el proceso regenerativo de los nervios, la piridina colorea con mucha constancia las fibras regeneradas ó jóvenes.

(1) Held: Die Entstehung der Neurofibrillen. *Neurol. Centralbl.*, 1905.



El modo de usar la piridina y el tratamiento ulterior de las piezas es de gran importancia. Held, á ejemplo de Donaggio, usa la piridina pura, en la cual sumerge por veinticuatro horas las piezas frescas; después las lava por varias horas en agua corriente para extraer el reactivo, y finalmente, las lleva al nitrato de plata, donde permanecen cinco días. En rigor, este tratamiento, que llamaremos *fórmula de Held*, puede emplearse con éxito en los embriones muy tempranos, obteniéndose á veces excelentes coloraciones, conforme demuestran los trabajos neurogénicos del neurólogo de Leipzig. Pero si hemos de juzgar por nuestros ensayos, con este modo de empleo, las buenas impregnaciones no son tan constantes ni tan bellas como cuando, según práctica nuestra, se completa la fijación mediante el endurecimiento en alcohol. Hagamos notar que la piridina pura es difícilmente aplicable á los órganos nerviosos de cierta dimensión. En los centros adultos y en los embriones algo crecidos, este reactivo penetra difícilmente, encogiéndose notablemente la substancia gris y provocando en ella deformaciones y grandes vacuolas, que dificultan ó impiden el estudio sistemático de los focos nerviosos. A causa de tales inconvenientes, nosotros reservamos la piridina pura solamente para embriones muy tempranos. En los más adelantados (embrión de pollo desde el séptimo día de la incubación, embrión de conejo de 2 centímetros de largo en adelante, etc.), nos servimos con ventaja de la *piridina acuosa*, porque no retrae apenas las piezas, penetra rápidamente y no provoca vacuolizaciones. En fin, complementamos la fijación á favor del alcohol de 96°. Este último reactivo produce un fondo limpio amarillo transparente, y da gran vigor á la impregnación de las fibras nerviosas. Después de muchos ensayos, he aquí el *modus operandi* en que tenemos más confianza:

1.º Piezas de cortas dimensiones, así como trozos de embrión ó embriones enteros de pequeño volumen, permanecen por seis á ocho horas en:

|                     |            |
|---------------------|------------|
| Agua destilada..... | 25 gramos. |
| Piridina.....       | 25 —       |

2.º Abandónanse durante dieciocho á veinticuatro horas en la piridina pura.

3.º Lavado de las piezas, por algunas horas, en agua corriente hasta la total eliminación de la piridina.

4.º Inmersión en alcohol de 90° por un día.

5.º Enjugadas las piezas, llévanse al nitrato de plata, donde permanecerán de cuatro á cinco días (estufa de 35 á 38°).

6.º Reducción como de ordinario.



FÓRMULA 6.<sup>a</sup> *Fijación en el hidrato de cloral*.—He aquí el *modus operandi*:

1.º Las piezas nerviosas se sumergen por veinticuatro horas en

|                        |               |
|------------------------|---------------|
| Hidrato de cloral..... | 5 gramos.     |
| Agua.....              | 50 cent. cúb. |

2.º Después de rápido lavado en agua destilada, llévanse al alcohol amoniacal.

|                     |            |
|---------------------|------------|
| Alcohol de 96°..... | 50 gramos. |
| Amoníaco.....       | V gotas.   |

3.º Enjugadas las piezas en papel secante, déjanse, por cuatro ó cinco días, en la solución argéntica al 1'5 por 100. Estufa de 35 á 38°.

4.º Reducción como de ordinario.

Esta fórmula es muy constante. Posee, además, la ventaja de evitar la retracción de las piezas, y, por consiguiente, el encogimiento y deformación de las neuronas, que exhiben dimensión y forma normales. Después de la inclusión en celoidina, la consistencia del tejido resulta excelente para la práctica de finos cortes.

La fijación en el cloral da perfecta impregnación de los plexos de fibras ameduladas y meduladas finas del cerebro, bulbo y médula espinal. En el cerebelo colorea bellamente las cestas de los corpúsculos de Purkinje y las rosáceas de las musgosas. También impregna bien y constantemente las placas motrices. En fin, sus resultados nos han parecido constantes en los nervios en vías de degeneración. A diferencia de la fórmula 5.<sup>a</sup>, presta á los núcleos coloración suficiente para hacer fácil el reconocimiento de las células.

**Fórmula 6.<sup>a</sup> A.** Fijación en hidrato de cloral al 10 por 100 por veinticuatro horas, lavado de las piezas durante seis, é inmersión directa de las mismas (sin pasar por el alcohol) en el nitrato de plata. Estufa cuatro días.

Las neurofibrillas somáticas teñidas por esta fórmula recuerdan por su aspecto la reacción de la fórmula 1.<sup>a</sup> El fondo aparece claro y las fibras nerviosas meduladas se presentarán bastante bien impregnadas.

FÓRMULA 7.<sup>a</sup> Fijación en la *fibrolisina* de Merk. Entre las substancias orgánicas ensayadas por nosotros en estos últimos años, una de las propicias á la conservación de la forma y dimensiones celulares y á la finura de la impregnación de las fibras nerviosas ameduladas es la *fibrolisina*, que usamos en estado de pureza.

He aquí la técnica de su empleo:

1.º Piezas de pequeña dimensión son sumergidas por veinticuatro ho-



ras en *fibrolisina* (con 25 cent. cúb. basta para fijar tres ó cuatro trozos de substancia nerviosa de 3 ó 4 milímetros de espesor).

2.º Lavado de las piezas, que ofrecen aspecto de gelatina solidificada y pegadiza, durante seis horas.

3.º Inmersión por veinticuatro horas en:

|                     |               |
|---------------------|---------------|
| Alcohol de 96°..... | 50 cent. cúb. |
| Amoniaco.....       | V gotas.      |

4.º Las demás operaciones como en las fórmulas anteriores.

En vez de *fibrolisina*, cabe usar en las mismas condiciones la *lysidina*; obtiéndose también excelente coloración de las fibras nerviosas.

## II. — FÓRMULAS QUE NO TIÑEN LAS NEUROFIBRILLAS PERO QUE PONEN DE MANIFIESTO DIVERSAS PARTICULARIDADES DEL NÚCLEO Y DEL PROTOPLASMA

En general, la impregnación argéntica de las neurofibrillas, así como la de las granulaciones del nucleolo, exige el empleo de fijadores neutros ó alcalinos. Si á un fijador cualquiera poco alterante, por ejemplo, el formol, el alcohol, la acetona, etc., se añaden substancias ácidas, el depósito de la plata coloidal huye del armazón neurofibrillar, y se fija de preferencia en las granulaciones del jugo nuclear, y más ó menos intensamente también, en los husos de Nissl del protoplasma.

En esta propiedad se funda la siguiente fórmula de impregnación, de que nos servimos á menudo para completar el estudio de la estructura celular y nuclear:

FÓRMULA 8.ª Fijación en formol acético.

1.º Inmersión de las piezas, por veinticuatro horas, en:

|                     |               |
|---------------------|---------------|
| Formol.....         | 10 cent. cúb. |
| Alcohol de 96°..... | 50 —          |
| Ácido acético.....  | VI á X gotas. |

2.º Lavado, durante algunas horas, para extraer el formol, é inmersión de las piezas en nitrato de plata al 1'50. Estufa á 35° ó 38°, durante cuatro ó cinco días.

3.º Reducción como de ordinario.

Esta fórmula no colorea apenas el nucleolo ni las neurofibrillas, pero impregna, en cambio, muy intensa y completamente las finas granulaciones del nucleoplasma. Los mejores resultados se obtienen en el conejo.

Suprimiendo el formol y aumentando la proporción del ácido acético



hasta un cent. cúb., obtiéndose un fijador que da una coloración nuclear semejante á la de la hematoxilina, y hace aparecer, teñidos en pardo más ó menos obscuro, los granos de Nissl.

Las neurofibrillas no se coloran. En general, los ácidos y las sustancias oxidantes impiden el depósito de plata coloidal sobre el armazón protoplásmico y fibras nerviosas.

FÓRMULA 9.<sup>a</sup> Fijación en formol adicionado de *tiocarbamida*. La adición á los fijadores de los compuestos de carbamida (*sulfocarbamida*, *tiocarbamida*, etc.) provoca la coloración de ciertos grumos intranucleares grandes, irregulares, difícilmente visibles en los preparados de Nissl ó de las anilinas ácidas. Compónese el líquido de:

|                   |              |
|-------------------|--------------|
| Formol.....       | 5 cent. cúb. |
| Agua.....         | 40 —         |
| Tiocarbamida..... | 1 gramo.     |

Después de lavar durante unas horas, sumérgense las piezas por un día en alcohol amoniacal (alcohol 50, amoníaco 3 gotas). Nitrato de plata al 1'5 por 100 durante cinco días. Reducción como de ordinario.

Por lo demás, los referidos grumos intranucleares coloréanse también, aunque no tan intensamente, con otras fórmulas, por ejemplo, la fórmula 6.<sup>a</sup> y la fórmula 6 A.

FÓRMULA 10. Fijación en formol-acetona. Los aldeídos empleados á dosis masivas dislocan la reacción hacia el tejido conectivo y el sistema reticular interno de Golgi del protoplasma. Semejante efecto lógrase ya, con frecuencia, usando el formaldeído puro (solución comercial) ó con soluciones al 40 ó 50 por 100, á condición de lavar bien las piezas después de indurarlas por un día en alcohol. La *acroleína* (solución comercial) disuelta á saturación en agua, obra casi lo mismo. En cambio, otros aldeídos, tales como el *aldeído común*, el *paraldeído*, el *anisaldeído*, etc., no dan ningún buen resultado.

A nuestro juicio, la fórmula mejor es la siguiente:

1.<sup>o</sup> Trozos de centros nerviosos de animales jóvenes son fijados, por doce á veinticuatro horas, en este líquido, que es un enérgico fijador é indurante:

|              |               |
|--------------|---------------|
| Formol.....  | 30 cent. cúb. |
| Acetona..... | 15 —          |

2.<sup>o</sup> Lavado, por algunas horas, para extraer el formol.

3.<sup>o</sup> Inmersión por un día en

|               |               |
|---------------|---------------|
| Amoníaco..... | V gotas.      |
| Alcohol.....  | 50 cent. cúb. |



4.º Nitrato de plata al 2 por 100, por cinco días (estufa á 35º).

5.º Reducción como de ordinario.

6.º Lavado de las piezas en agua corriente durante algunas horas. Induración y englobamiento en celoidina. Si deseamos trocar el color pardo claro de la impregnación por un tono violado mas intenso, procede la operación del virado, que podrá hacerse también en masa, previo lavado de las piezas. A este efecto se las colocará, previa fragmentación en trozos delgados, en una solución de cloruro de oro al 1 por 300.

Esta fórmula, y en general todas aquellas en las cuales la plata coloidal se deposita sobre el *aparato endocelular* de Golgi, dan mejores resultados en los animales recién nacidos y jóvenes que en los adultos (perro, gato, conejo, etc). Los órganos en donde las redes se muestran más completa y enérgicamente coloreadas son: el cerebro, la retina, el cerebelo y la médula espinal. En los ganglios los efectos son incompletos y muy inconstantes. Entre los epitelios, el intestinal y el de algunas glándulas convienen especialmente. También el epéndimo revela el citado aparato reticular.

Por una singularidad de esta reacción, imprégnase á veces con la fórmula 10 la red pericelular, pero exclusivamente en las células gruesas de axon corto del cerebro (perro y gato).

FÓRMULA 11. La fórmula precedente colorea con bastante frecuencia las fibras colágenas de los vasos, así como los cordones perforantes de la substancia gris.

La siguiente, á base de formol-piridina, suele dar aún más energía á dicha reacción.

1.ª Inmersión en

|               |            |
|---------------|------------|
| Piridina..... | 20 gramos. |
| Formol.....   | 30 —       |
| Agua.....     | 30 —       |

2.ª Después de lavar durante varias horas, se llevan las piezas al alcohol por un día. Las demás operaciones como de ordinario.

SÍNTESIS DE LAS REACCIONES.— Para completar el estudio del método que nos ocupa y de sus diversas fórmulas, conviene considerar ahora de un modo global los resultados, clasificando las reacciones y refiriendo cada una de ellas á la fórmula ó fórmulas que particularmente las producen.

Cuando se comparan entre sí los diversos efectos de selección de la plata coloidal, échase de ver que, no obstante su multiplicidad, todos pueden reducirse á los siguientes tipos de reacción.



**Reacción A.** Coloración casi exclusiva del retículo neurofibrillar del soma y dendritas (neuronas medianas, grandes y pequeñas).

**Reacción B.** Impregnación del retículo del soma y dendritas de las voluminosas neuronas, y enérgica coloración de los axones medulados.

**Reacción C.** Preferente impregnación de las fibras ameduladas, arborizaciones nerviosas terminales, botones de Held-Auerbach, y falta de teñido ó coloración pálida del retículo neuronal y de los gruesos axones.

**Reacción D.** Coloración intensa de los gránulos del nucleolo.

**Reacción E.** Teñido preferente de las esferas del nucleoplasma.

**Reacción F.** Coloración de los grumos y redes nucleares.

**Reacción G.** Teñido de la túnica adventicia vascular.

**Reacción H.** Impregnación del *aparato reticular interno* de Golgi.

**Reacción I.** Presentación de los *grumos* de Nissl.

**Reacción J.** Coloración del *bastoncito de Roncoroni*.

Hagamos notar que ninguna fórmula tiñe, ni poco ni mucho el armazón neuróglíco y epitelial de los centros nerviosos, ni tampoco la mielina y los discos de soldadura.

Algunas de las enumeradas reacciones lógranse, á veces, con una sola fórmula, dándose también transiciones entre aquéllas; sin embargo, casi siempre, y con excepción de la coloración nucleolar, que es común á muchos fijadores, predomina notablemente uno de los efectos. Cada agente fijador produce, pues, en el tejido nervioso, una modificación química especial, en cuya virtud la plata coloidal cambia de lugar, fijándose de un modo constante en determinados factores de la célula nerviosa.

**Reacción A.** Para lograrla prescindiremos de la fijación, tratando directamente las piezas en el nitrato de plata. La fórmula 1.<sup>a</sup> y sus variantes (la fórmula 1.<sup>a</sup> C, etc.), nos darán bajo este aspecto plena satisfacción.

**Reacción B.** Es la más bella é intensa y también la más completa de todas, ya que aparecen simultáneamente impregnadas las neuronas grandes y medianas con sus dendritas, el nucleolo, los axones medulados y algunos amedulados. Reprodúcense facilísimamente estos efectos, recurriendo á la fórmula 2.<sup>a</sup> (fijación en alcohol) y demás variantes (fórmula 2.<sup>a</sup> A, etc.), caracterizadas por el empleo de aceleradores (hidrato de cloral, veronal, nicotina). En fin, la fórmula 3.<sup>a</sup> (alcohol amoniacal, etc.), cuando la cantidad de amoníaco es pequeña (2 á 4 gotas por 50 cent. cúb. de alcohol) suministra también excelentes coloraciones de las neuronas gruesas y medianas, así como de los axones medulados.

**Reacción C.** Consíguese fácilmente con la fórmula 3.<sup>a</sup>, aumentando la dosis de amoníaco hasta 8 ó 10 gotas por 50 cent. cúb. de alcohol. Con



tal variante las fibras ameduladas de la substancia blanca aparecen negras ó muy oscuras, mientras que los axones mielínicos gruesos se presentan de color amarillento ó marrón muy claro. Disminuyendo la dosis de amoníaco, los efectos se aproximan sucesivamente á los obtenidos por el alcohol solo ó con acelerador.

En el cerebro, el exceso de amoníaco se traduce por la palidez del soma de las pirámides y la inusitada riqueza del plexo intersticial amedulado. En las gruesas y medianas pirámides, la coloración recae á menudo exclusivamente sobre el tallo radial y principales dendritas terminales, particularidad reveladora de que la composición química del retículo somático no es exactamente igual á la de la expansión ascendente.

Las variantes de la fórmula 3.<sup>a</sup> (variante 3.<sup>a</sup> A, etc.) y singularmente la fórmula 4.<sup>a</sup>, producen también, mejorándola todavía, la *reacción C*, que es una de las más importantes conseguidas con el proceder del nitrato de plata reducido. Semejante reacción es tanto más interesante (coloración de las fibras ameduladas, terminaciones nerviosas, nidos pericelulares, botones de Held-Auerbach, etc.), cuanto que ningún otro método de impregnación neurofibrillar la produce tan fácil y constantemente. Por lo menos, todos nuestros ensayos para provocarla regularmente con el método de Bielschowsky han fracasado.

A juzgar por nuestra propia experiencia, el método de Bielschowsky posee gran predilección por la reacción 2.<sup>a</sup> ó, mejor, por una combinación de la reacción 2.<sup>a</sup> con la 1.<sup>a</sup>

**Reacción D.** La impregnación intensa de las esférulas del nucleolo consíguese constantemente con un gran número de fórmulas, singularmente con la 1.<sup>a</sup> B, y con las á base de fijación alcohólica con ó sin acelerador. También la fórmula 3.<sup>a</sup> tiñe el nucleolo, aunque este teñido suele palidecer á medida que aumentamos la proporción de álcali del fijador. El tono adquirido por los gránulos nucleolares oscila entre el rojo claro y el negro absoluto.

**Reacción E.** La coloración de los gránulos del nucleoplasma efectúase á menudo, aunque de un modo parcial é inconstante, con el uso de las fórmulas 2.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> Para impregnarlos de un modo completo y seguro es preciso recurrir al formol ácido (fórmula 8.<sup>a</sup>). En las buenas preparaciones el nucleolo preséntase incoloro, destacando como una mancha blanca en el fondo nuclear sembrado de granulaciones oscuras.

Entre los gránulos del nucleoplasma existe uno más voluminoso y de composición química algo diferente. Este pequeño glóbulo, designado por nosotros *cuerpo accesorio* (1) coloréase mediante varias fórmulas y

(1) *Cajal*: Un sencillo método, &. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo II, 1903.



frecuentemente por las que impregnan las esférulas del nucleolo y dejan en blanco los gránulos del nucleoplasma (fórmula 2.<sup>a</sup> con acelerador, fórmula 3.<sup>a</sup>, etc.). Una buena fórmula es la de la piridina (fórmula de Held), sin la operación de la inmersión en alcohol antes de la acción del nitrato de plata. También las piezas fijadas en hidrato de cloral (fórmula 6.<sup>a</sup>) revelan el cuerpo accesorio, y su matiz es de ordinario más oscuro que los gránulos del nucleolo.

**Reacción F.** Esporádicamente se produce la coloración de los grumos del nucleoplasma con el empleo de diversas fórmulas y principalmente de la 6.<sup>a</sup> (fijación en hidrato de cloral); pero este efecto es más constante con los fijadores que no colorean las neurofibrillas ni el nucleolo, tales como las combinaciones de la carbamida. La fórmula 9.<sup>a</sup> es una de las más provechosas á este respecto.

Otro proceder que pone de manifiesto los grumos del nucleoplasma es la fijación en formol adicionado de un tercio de piridina; lavado con agua y acción del nitrato de plata sin previa inmersión en alcohol. Con este modo de operar, los grumos aparecen rojo oscuros, negras las esférulas nucleolares y en rosa el nucleoplasma.

En fin, la fórmula á la piridina (fórmula 5.<sup>a</sup>), sin fijación subsiguiente en alcohol, proporciona á menudo, en las regiones profundas de las piezas, imágenes nucleares en donde los grumos ostentan tono rojizo.

**Reacción G.** La adventicia vascular y las fibras conectivas perforantes aparecen sobre todo en los preparados fijados con formol. La fórmula 11 es, según dejamos dicho, una de las más constantes.

**Reacción H.** La fórmula 1.<sup>a</sup> (solución de nitrato al 3 por 100) produce ya, aunque esporádicamente, en el cerebro de los mamíferos, la impregnación de la red endocelular de Golgi. No es posible, sin embargo, confiar en ella, á causa de su veleidad. En cambio, esta fórmula da con gran regularidad dicha reacción en las células nerviosas y epiteliales del *Lumbricus*, en donde, por una singularidad del quimismo de los invertebrados, no aparece la impregnación neurofibrillar. Cuando se trata de los mamíferos (jóvenes y recién nacidos), sólo las fórmulas á base de fijación formólica fuerte, y singularmente la fórmula 10, serán aplicables.

**Reacción I.** Los grumos de Nissl aparecerán fijando en el alcohol acético ó en formol acético. Esta reacción, sin embargo, nunca es tan bella como con el método de Nissl.

**Reacción J.** Para colorear el bastoncito de Roncoroni, la fórmula mejor es la 1.<sup>a</sup> á base de nitrato de plata diluido (0'75 por 100). La dosis de nitrato, usando piezas pequeñas, podrá descender con ventaja hasta 0'50. El animal á preferir es el conejo.



SELECCIÓN DE FÓRMULAS Y DE ANIMALES SEGÚN LOS TEMAS DE ESTUDIO.— Para dar carácter más práctico á este trabajo y evitar en lo posible á nuestros lectores tanteos y probaturas inútiles, nos ha parecido provechoso consignar aquí cuáles son, para cada órgano nervioso, las fórmulas y animales que debemos preferir. Porque (lo hemos apuntado ya en otras monografías) el método del nitrato de plata reducido no da en todos los animales exactamente el mismo resultado, ni para obtener ciertos efectos conviene cualquier fase ontogénica. Fórmulas que dan excelentes coloraciones en el adulto, pueden ser pésimas aplicadas á los embriones. Veamos, pues, los casos que más comunmente se presentan en la práctica:

I. **Estudio de los embriones muy tempranos.**— Cuando se trata de inquirir la evolución de los neuroblastos y de las fibras nerviosas, es de toda necesidad evitar las fórmulas formólicas, las alcohólicas con acelerador y los fijadores amoniacaes. Hasta ahora, las mejores preparaciones hémoslas obtenido con sólo dos fórmulas: la 2.<sup>a</sup> (alcohol sin acelerador, estufa siete días) y la 5.<sup>a</sup> (fijación en piridina pura). Indiferentemente pueden englobarse las piezas en parafina ó celoidina, obteniéndose facilísimamente, gracias á la pequeñez de los órganos nerviosos, series completas del eje cerebro-raquídeo y de los ganglios sensitivos y simpáticos.

La variante, consistente en llevar las piezas desde el agua al nitrato, sin inmersión en alcohol (*variante de Held*), no nos parece tan constante como la fórmula 5.<sup>a</sup>; suministra, sin embargo, en algunos casos, excelentes coloraciones.

La fórmula 2.<sup>a</sup> y la 5.<sup>a</sup> se aplican con éxito á todos los vertebrados. Sin embargo, nos ha parecido que las más enérgicas y bellas impregnaciones se consiguen en los embriones de ave (pájaros, gallináceas, etc.) y en los de pez. Los ensayos, recaídos hasta hoy en los batracios y reptiles, son todavía insuficientes para formular juicios definitivos.

II. **Estudio de los embriones tardíos y fetos de mamíferos.**— Para estos objetos, además de las dos citadas fórmulas, serán también aplicables la 3.<sup>a</sup> (alcohol amoniacal), la 6.<sup>a</sup> (fijación en hidrato de cloral) y el alcohol con acelerador (alcohol-piridina, alcohol nicotina, etc.). La sazón para tales fórmulas comienza en el embrión de pollo desde el quinto día de la incubación, y en el conejo desde el décimo al duodécimo de la concepción, prolongándose hasta después del nacimiento. Espléndidas series de cortes lógranse en los pájaros recién nacidos, ya con el alcohol amoniacal, ya con la fórmula á la piridina (fórmula 5.<sup>a</sup>).

Cuando la osificación ha comenzado, será conveniente, si se trata del bulbo ó de la médula espinal, descartar la mayor parte del cuerpo de las vértebras, porque las sales cálcicas, difundiéndose durante la fijación



por el tejido nervioso, producen un ennegrecimiento difuso de las regiones superficiales de éste. Sabido es que el carbonato y fosfato cálcicos atraen vivamente la plata, convirtiéndose, mediante los reductores, en depósitos negros de gran intensidad.

En general, á medida que el embrión gana en edad, las células nerviosas, medianas y pequeñas se colorean difícilmente, apareciendo casi exclusivamente impregnadas las neuronas motrices, los corpúsculos gigantes funiculares (bulbo y médula) y las fibras nerviosas. Fijando con piridina, es frecuente obtener preparaciones en que sólo las vías nerviosas atraen el depósito argéntico, destacándose con sumo vigor gracias á la ausencia de coloración nuclear y á la palidez extrema de las neuronas. El alcohol amoniacal y el hidrato de cloral (fórmula 6.<sup>a</sup>), no dan á las neuronas tanta palidez, y como impregnan bien los núcleos, hacen más fácil el estudio de los focos nerviosos.

**III. Estudio de los ganglios simpáticos.** — La fórmula de elección será la 3.<sup>a</sup> al alcohol amoniacal. También el alcohol puro proporciona excelentes impregnaciones, aunque menos finas que la fórmula 3.<sup>a</sup> Nos serviremos asimismo con éxito de las fórmulas 4.<sup>a</sup> y 5.<sup>a</sup>

Una particularidad curiosa del gran simpático, consiste en que en el hombre se impregna mucho mejor que en los demás mamíferos. En general, en el perro, gato, conejo, etc., las neuronas simpáticas adquieren tonos demasiado pálidos, salvo tal cual célula aislada, de gran volumen, cuyas expansiones se persiguen cómodamente. De todos los ganglios, los más difíciles de colorear son los viscerales (ganglios del plexo de Auerbach, Meissner, etc.). Otra singularidad digna de ser notada es que, aun en el hombre y en los cortes mejor impregnados, hay siempre ciertas neuronas simpáticas que no atraen la plata coloidal y sólo muestran impregnadas las esférulas melánicas del protoplasma. Por lo demás, los ganglios simpáticos humanos proporcionan buenas imágenes, aun cuarenta y ocho horas después de la muerte. Si deseamos, sin embargo, evitar el estado varicoso de las fibras, recurriremos, á ser posible, á cadáveres de seis á doce horas.

**IV. Ganglios sensitivos.** — Son mucho más fáciles de colorear que los ganglios simpáticos, obteniéndose constantemente espléndidos resultados, tanto haciendo uso del alcohol (fórmula 2.<sup>a</sup>) como del alcohol amoniacal (3.<sup>a</sup>). Casi todos los fijadores que dan la *reacción* B y la C, convienen especialmente al teñido de las neuronas sensitivas.

**V. Cerebelo.** — He aquí el centro nervioso en donde el método del nitrato de plata da copiosa variedad de reacciones, y algunas de tal intensidad, selección y elegancia, que dejan muy atrás cuanto los demás procedimientos neurofibrillares nos ofrecen.



Naturalmente, las fórmulas á emplear variarán con los efectos deseados. Señalemos algunos ejemplos.

Si nuestro propósito es impregnar el retículo de las células de Purkinje (retículo somático y neurofibrillas de las gruesas expansiones), recurriremos á la fórmula 1.<sup>a</sup>, así como á la 3.<sup>a</sup> del alcohol amoniacal.

Espléndida impregnación de las cestas, de las fibras trepadoras, de los axones de Purkinje, dendritas medianas y finas de los corpúsculos de Purkinje, etc., consíguese haciendo uso de la fórmula 2.<sup>a</sup> al alcohol ó de sus variantes (fórmulas con acelerador).

Para las rosáceas terminales y colaterales de las fibras musgosas y plexos de los glomérulos cerebelosos (capa de los granos), se recurrirá á las fórmulas que dan la reacción C, y muy singularmente á la fórmula 4.<sup>a</sup>, (fijación en formol y después al alc. amoniacal), que produce las más bellas y enérgicas coloraciones. También cabrá utilizar con ventaja las fórmulas 5.<sup>a</sup> á la piridina y la del hidrato de cloral (fórmula 6.<sup>a</sup>).

La coloración de las células estrelladas de la capa molecular (*células de cesta*), se obtendrá con la fórmula 2.<sup>a</sup> y con la 3.<sup>a</sup>; pero á condición de trabajar en el perro. También en el cobaya y gato se logra colorearlas, pero con menos intensidad y constancia.

Si nos proponemos teñir los granos, será preciso servirse del gato y utilizar, de preferencia, las fórmulas 1.<sup>a</sup> y 2.<sup>a</sup> A veces, lógrase también resultado recurriendo á la fijación alcohólica con acelerador ó á la alcohólico-amoniacal (fórmula 3.<sup>a</sup>).

**VI. Cerebro.**—Convienen, con poca diferencia, las mismas fórmulas que para el cerebelo, las cuales varían según los efectos deseados.

La fórmula 1.<sup>a</sup> aprovechará, sobre todo, para la coloración del conjunto de las pirámides y singularmente de los tipos medianos y pequeños. Las más bellas impregnaciones se obtienen en los animales jóvenes (perro y gato de ocho á treinta días).

En el cerebro humano adulto suele suministrar también esta fórmula excelentes preparaciones; pero nos ha parecido más constante la *fórmula 1.<sup>a</sup> D*; es decir, la fijación en solución argéntica adicionada de alcohol.

Nos serviremos de la fórmula 2.<sup>a</sup>, con ó sin acelerador, así como de la 3.<sup>a</sup>, cuando nuestro objetivo sea presentar las fibras nerviosas meduladas y ameduladas de regulares dimensiones, así como las pirámides más robustas. Recordemos que, al tratar de la fórmula 3.<sup>a</sup>, hemos hecho notar la necesidad de disminuir, cuando del cerebro se trata, la proporción de amoniaco. En fin, la obtención de los plexos nerviosos finos constituye la especialidad de las fórmulas que dan la *reacción C*, singularmente la fórmula 4.<sup>a</sup>, la 5.<sup>a</sup> y la 6.<sup>a</sup>



VII. **Médula espinal y bulbo raquídeo.** — Todas las fórmulas descritas son aplicables á la médula espinal, consiguiéndose resultados diversos según los fijadores, la edad de los animales y las especies de éstos.

Mencionaremos los casos más comunes que se nos pueden presentar.

Supongamos que deseamos obtener buenas impregnaciones de las neurofibrillas de las neuronas motrices. El animal de elección será el perro de cuatro á quince días, y la fórmula escogida la 3.<sup>a</sup>, con fuerte proporción de amoníaco (10 gotas). Resultados estimables lograremos también con las fórmulas alcohólicas provistas de acelerador (alcohol-piridina, alcohol-nicotina, etc.).

El examen de las fibras gruesas y finas meduladas exigirá la aplicación de la fórmula 2.<sup>a</sup> ó de la 6.<sup>a</sup> (fijación con hidrato de cloral).

En fin, los botones de Held-Auerbach, plexos amedulados finos de la substancia gris y axones amedulados de la substancia blanca, aparecerán fácilmente haciendo uso del fijador formólico (fórmula 4.<sup>a</sup>), de la fijación alcohólico-amoniacal (fórmula 3.<sup>a</sup> A), de la fijación en piridina (fórmula 5.<sup>a</sup>), etc.

VIII. **Ganglios de los invertebrados.** — Los resultados conseguidos en la cadena ganglionar de los invertebrados varían notablemente según los animales estudiados. Mientras que nada es más fácil que la coloración de las neurofibrillas de algunos hirudíneos, se tropieza con dificultades, á veces insuperables, para la revelación del armazón intraprotoplásmico del *Lumbricus*, de los *Nereis* y de la mayoría de los invertebrados (insectos, crustáceos, etc.).

Quizá tales dificultades dependen de la reacción del protoplasma nervioso y de su composición química, un tanto variable según las especies de invertebrados. Así lo hacen sospechar las investigaciones de Boule (1), quien ha logrado aplicar con éxito al *Lumbricus* el nitrato de plata reducido con sólo acetificar el líquido fijador (fijación en formol acético).

Las fórmulas aplicables en los invertebrados varían en cada caso. Así, mientras la fórmula 1.<sup>a</sup> (nitrato del 3 al 6 por 100) suministra muy bellas preparaciones en la sanguijuela común, según demostramos nosotros, Azoulay y Nageotte, en otros hirudíneos muy afines, como la *Hemopsis sanguisuga*, *Limnatis nilotica*, *Dina Blaisei*, etc., los resultados son muy mediocres. En cambio, en estas especies, así como en el *Alaustomum*, *Pontobdella* y la *Grossiphonia algira*, Sánchez (2) ha obtenido éxitos completos usando la fijación en alcohol (fórmula 2.<sup>a</sup>) y mejor aún la fór-

(1) De Boule: L'impregnation des éléments nerveux du Lumbric par le nitrate d'argent. *Le Neuraxe*, vol. IX, 1907.

(2) F. Sánchez: El sistema nervioso de los hirudíneos. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VII, 1909.



mula 3.<sup>a</sup>, con escasa cantidad de amoníaco (alcohol, 90°; amoníaco, 2 á 5 gotas). El tanto de nitrato argéntico más conveniente con este fijador es el 3 por 100. Las piezas sólo deben permanecer en la estufa tres á tres días y medio (Sánchez).

Tales éxitos obtenidos en los hirudíneos y en las lumbricíneas con sólo variar las fórmulas de fijación y el tiempo de acción del nitrato argéntico, hacen presumir que la incolorabilidad del retículo nervioso de muchos invertebrados es puramente accidental, dependiendo quizás de la composición química desfavorable del neuroplasma; composición que podrá modificarse con algún fijador apropiado, obteniéndose con ello resultados excelentes y abriendo nuevos horizontes á nuestro conocimiento de la textura comparada de la célula nerviosa.

**IX. Nervios y órganos centrales en vías de regeneración.**—Todo órgano nervioso, asiento de fenómenos regenerativos, contiene dos órdenes de fibras nerviosas: las fibras adultas, cuya coloración exige el uso de fórmulas que den la *reacción B*, y los retoños ó fibras neoformadas, generalmente desprovistas de mielina, y las cuales imprégnanse de preferencia con las fórmulas productoras de la *reacción C*, es decir, de aquellas que seleccionan exclusivamente las fibras nerviosas ameduladas y las arborizaciones pericelulares. Naturalmente, la proporción de estos dos factores constructivos varía según la época en que se provocó la lesión y en que se inició, por tanto, el proceso regenerador.

Para orientar al lector, citemos algunos ejemplos.

Supongamos que se trata de teñir los cabos periférico y central de un nervio un mes ó más después de la sección, es decir, durante una época en que los axones neoformados son gruesos y en parte medulados, y en que el exudado inflamatorio ha sido ya reabsorbido. La fórmula 2.<sup>a</sup> al alcohol solo ó con acelerador, ó la fórmula 3.<sup>a</sup> con débil cantidad de amoníaco (3 gotas) serán particularmente provechosas, dado que revelarán simultáneamente impregnadas las fibras viejas y las jóvenes, éstas algo más vigorosamente que aquéllas.

Mas cuando los fenómenos regenerativos sean recientes (nervios dos á diez días después de la sección), las fórmulas que mejores resultados dan son las provocadoras de la *reacción C*, á saber: la fórmula 3.<sup>a</sup> (4 á 6 gotas de amoníaco), la fórmula 5.<sup>a</sup> á la piridina y la fórmula 4.<sup>a</sup> á base de fijación formólica. También la fórmula 6.<sup>a</sup> al hidrato de cloral suministra buenos preparados. La más usada por los autores hasta hoy (Cajal, Tello, Perroncito, Marinesco y Minea, Nageotte) ha sido la 3.<sup>a</sup>, que tiene la ventaja de teñir muy bien los botones de crecimiento, y en general, todas las neurofibrillas neoformadas. Actualmente empleamos nosotros también con excelente éxito la fórmula 5.<sup>a</sup>, á causa de su gran constan-



cia y de la transparencia del fondo. En fin, cuando nos interese la coloración regular de los núcleos, recurriremos á la fórmula 6.<sup>a</sup>, cuya regularidad y constancia podemos garantizar.

Estas fórmulas adolecen del defecto de no colorear ó de teñir muy débilmente los axones viejos. Por esta razón conviene, para complementar el estudio de las partes regeneradas, emplear alguna vez la fórmula 2.<sup>a</sup>, con ó sin acelerador. Muy útil será también dar á los cortes finos una coloración nuclear mediante las anilinas básicas (safranina, azul de toluidina, etc.).

El proceso regenerativo de la médula espinal, cerebro y cerebelo, se estudiará satisfactoriamente aplicando la fórmula 3.<sup>a</sup> (3 gotas de amoníaco), ó la 5.<sup>a</sup> á la piridina. No estará demás recurrir alguna vez al alcohol sólo, fijador que en el cerebro y cerebelo suele dar muy bellos resultados. Como las fibras neoformadas son raras, y más excepcionales aún sus ramificaciones, nuestra preocupación preferente será presentar, con la mayor claridad posible, los factores preexistentes normales de la sustancia gris. Por este motivo se evitarán los fijadores excesivamente alcalinos, y no será inútil recurrir de vez en cuando á la fórmula 1.<sup>a</sup>, al objeto de revelar los cambios acaecidos en las pequeñas y medianas neuronas.





# EL NÚCLEO DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES

## DEL CEREBRO HUMANO Y DE ALGUNOS MAMÍFEROS

POR

S. RAMÓN CAJAL

---

El proceder del nitrato de plata reducido préstase muy bien al análisis del núcleo, según indicamos nosotros (15) y han hecho notar también Michote (18), Athias (23), Marinesco (20), Tello (19), y más recientemente Lache (24) y Collin (30 y 29).

Naturalmente, los resultados varían con las fórmulas de fijación empleadas. Recientes observaciones (31) nos han persuadido de que modificando los líquidos fijadores, casi todos los factores constitutivos del núcleo, bien conocidos por las revelaciones de los métodos comunes, llegan á impregnarse con gran vigor, y muy singularmente las granulaciones específicas del nucleolo y karioplasma.

Bajo este aspecto, puede afirmarse que los efectos de la plata coloidal complementan muy felizmente los resultados, ya clásicos, obtenidos mediante las anilinas ácidas y básicas ó á favor de las diversas fórmulas de la hematoxilina.

En el presente trabajo estudiaremos exclusivamente la estructura del núcleo de la pirámide cerebral humana y de algunos mamíferos (perro, gato, conejo). El material humano empleado proviene del depósito judicial y corresponde á sujetos normales muertos por accidente. Además de las diversas fórmulas del proceder del nitrato argéntico reducido, nos hemos servido de los métodos comunes, entre los cuales el de Held (azul de Nissl-eritrosina), el de Levi (líquido de Biondi diluído), el de Unna-Pappenheim (verde de metileno y pyronina), la hematoxilina ferruginosa de Heidenhain, sola ó asociada á la eritrosina, el azul de toluidina, la tionina, etc., nos han dado los mejores resultados.

Del conjunto de los trabajos antiguos y modernos sobre el núcleo neuronal, se deduce la existencia de los siguientes organitos ó partes nucleares: el *nucleolo*, compuesto de las *esferas argentófilas* y de la *materia*



*intersticial*; los *grumos* ó *costras basiófilas perinucleolares de Levi*; el *cuerpo accesorio*, señalado por nosotros; las *esferas neutrófilas* del nucleoplasma; los *grumos hialinos* de éste; la llamada *red de linina* del karioplasma, y, en fin, el *jugo nuclear* ó *carioplasma* y la *membrana*. Tales son los factores constitutivos constantes del núcleo de la pirámide cerebral humana y de los grandes mamíferos; pero eventualmente pueden presentarse también otros organitos, á saber: el *bastoncito de Roncoroni* y los *nucleolos supernumerarios* ó *accesorios*. Añadamos que, en condiciones poco estudiadas aún, aparecen ciertas formas, acerca de cuya preexistencia es lícito abrigar algunas dudas; nos referimos á las *vacuolas intranucleolares* (*cuerpos refringentes* de Lache), á ciertos *granos aislados* del nucleolo, que desvían, por sus propiedades tintoriales, de las esferas argentófilas ordinarias y, en fin, el *nucleolino* de ciertos autores.

Las citadas partes nucleares representan órganos celulares complejos, compuestos de multitud de principios inmediatos insuficientemente conocidos. Impórtanos, pues, hacer notar desde ahora que las expresiones *cromatina*, *nucleína*, *pirenina*, *linina*, etc., que desde Schwarz, Zacharias, Carnoy y Flemming parecían corresponder á especies químicas bien deslindadas, representan solamente factores morfológicos diferenciados de la máquina nuclear. Preciso es confesar que, á pesar de los progresos de la técnica micrográfica (y sobre este juicio han insistido modernamente Man, Prenant y otros) las reacciones microquímicas no han permitido todavía individualizar ni localizar rigurosamente en el núcleo ningún principio inmediato. Los *nucleoproteidos*, compuestos protéicos de gran complicación molecular, hallados en el núcleo por los químicos modernos, carecen hasta hoy de reacciones microquímicas características y no se sabe, por tanto, el órgano nuclear en que residen. El histólogo, en su penosa labor de diversificación estructural, todo lo más que ha conseguido ha sido averiguar que tal ó cual forma nuclear es soluble ó insoluble, coagulable ó incoagulable, basiófila, acidófila ó neutrófila, y que en algunas de ellas se encierran principios inmediatos ausentes en las demás, ó por lo menos repartidos con suficiente desigualdad para motivar divergencias y oposiciones de afinidad tintorial.

**NUCLEOLO.** — Órgano culminante del núcleo de la célula nerviosa, este cuerpo, de forma esferoidal y comunmente solitario, representa, según es bien sabido, la parte nuclear que atrae vivamente el carmín, la hematoxilina y las anilinas básicas.

No insistiremos aquí sobre la controversia ya antigua á que esta notable basiofilia nucleolar, que recuerda la de la red cromática de los núcleos comunes, ha dado ocasión. Bastará recordar, por ahora, que mientras ciertos autores (Carnoy, van Gehuchten, nosotros, etc.), estimaron



el nucleolo neuronal formado de nucleína pura ó algo transformada, pero en todo caso equivalente al armazón cromático de los núcleos comunes, Levi (12), y después de él diversos histólogos modernos, habiendo observado que en torno del nucleolo nervioso de algunas especies de vertebrados, el líquido de Biondi colorea en verde ciertas costras basiófilas, equivalentes en apetencia por el verde de metileno (color básico) á la red nucleínica de los núcleos comunes, afirmaron que dicho órgano no representa la cromatina nuclear, sino el nucleolo ordinario de las células comunes, ya que, al par de éste, elige las anilinas ácidas y atrae predilectamente los colorantes ácidos en las mezclas de colores de anilina (líquido de Biondi, colorante de Held, etc.).

Este debate ha perdido mucha importancia desde que los progresos de la química biológica han arrebatado, tanto á la *cromatina* de Flemming como á la *pírenina* del nucleolo, la jerarquía de especies químicas, y además, desde que las investigaciones de Heidenhain han demostrado la existencia, en las células comunes, de armazones nucleares cuya basiofilia se convierte gradualmente en acidofilia. Sabido es que el sabio de Tubinga distingue en los núcleos ordinarios dos especies de cromatina: la *oxicromatina*, especialmente coloreable por las anilinas ácidas, y la *basicromatina*, singularmente afine de las básicas; de donde algunos autores deducen que el nucleolo neuronal, ávido de las anilinas básicas y ácidas pero más de éstas que de aquéllas, contiene la *oxicromatina* de Heidenhain. Cabría, por tanto, reproducir aún, bajo una forma atenuada, la vieja opinión de Carnoy. Pero, repetimos, excusamos discutir aquí una cuestión prematura y defectuosamente planteada, á causa de nuestra ignorancia sobre el quimismo real, es decir, sobre las especies químicas contenidas en esos factores morfológicos designados *nucleína* y *pírenina*. No ocultaremos, sin embargo, que, dejando á un lado el problema químico y ateniéndonos simplemente al de las homologías morfológicas y microquímicas, nuestra opinión difiere hoy apenas de la de Levi y Lenhossék. En nuestro sentir, el nucleolo de la célula nerviosa, siquiera ofrezca propiedades estructurales y de apetencia tintorial algo especiales, representa en realidad el nucleolo de las células comunes. Lo que, sobre todo, nos ha persuadido de esta equivalencia, es que la plata coloidal, reactivo que repugna constantemente la coloración de las sustancias basiófilas, y singularmente del armazón llamado *nucleínico* ó *cromático* de las células comunes, revela también en éstas uno, dos ó varios gránulos independientes, coincidentes en forma, tamaño y posición con los gránulos acidófilos que los autores reputan por genuinos nucleolos.

Concretándonos, por ahora, al orden puramente estructural, consigne-



mos, desde luego, que el nucleolo neuronal adulto no es una masa homogénea, como las preparaciones teñidas por el método de Nissl ó por la hematoxilina impusieron durante mucho tiempo á los neurólogos, sino que se compone, por lo menos, de dos partes principales: las *esferas argentófilas* y la *materia intersticial*.

**Esferas nucleínicas ó argentófilas.**—Que el nucleolo posee formas granulares, incluídas en un material amorfo, es concepto más ó menos explícitamente consignado en los trabajos de varios autores. Excluyendo á aquellos histólogos que manifiestamente aluden á un orden particular de cuerpos intranucleares en un todo extraños, á nuestro modo de ver, á las esférulas argentófilas (Mauthner, Schrön, Flemming, Obersteiner, Holmgren, Rucicka, etc.), es preciso citar, á título al menos de precursores, á Lenhossék y á Marinesco.

En su tratado sobre la estructura de la médula espinal, el ilustre neurólogo de Budapest (3), al analizar la textura nucleolar, refiere haber observado en preparaciones teñidas por la hematoxilina ciertos montones de granos puntiformes sobre cuya naturaleza no se pronuncia, y sobre los cuales no da, desgraciadamente, ninguna figura susceptible de facilitar comparaciones.

Por su parte, Marinesco (20) afirma que sus investigaciones sobre el nucleolo de las neuronas le conducen á admitir en este órgano una substancia homogénea acromática, sembrada de granulaciones coloreadas, las cuales pueden disminuir en número y aun disolverse en diversos estados patológicos.

Estas opiniones adolecen de alguna vaguedad y no permiten resolver la duda de si dichos sabios han visto realmente más ó menos bien coloreadas las esférulas argentófilas, ó más bien alguna otra parte constitutiva del nucleolo.

En realidad, el primer autor que ha señalado con suficiente claridad la existencia en los nucleolos neuronales de grupos de esferas especiales é independientes de las vacuolas intranucleolares, fué Simarro (14), quien preocupado ante todo con el estudio de las neurofibrillas, no insistió sobre su observación. Limitase este sabio á declarar: «se ve el nucleolo formado por un grupito de 9 á 12 granitos de rojo rubí vivo». Y en algunas de las figuras anejas á su texto, singularmente en la 9.<sup>a</sup>, reproduce bastante bien los citados gránulos, sobre cuya naturaleza no formula ninguna opinión.

Tras la breve pero precisa mención de Simarro, apareció la descripción más detallada dada por nosotros (15). En nuestros estudios acerca del núcleo neuronal, afirmábamos que el nucleolo consta, en realidad, de dos partes esenciales: una *materia fundamental* afine de las anilinas



básicas, pero absolutamente ó casi absolutamente incolorable (en determinadas condiciones) por la plata coloidal, y un conglomerado compacto de *esférulas homogéneas*, de un diámetro comparable al del *estaphilococcus* del pus, tingibles en negro, pardo obscuro ó rojo por el depósito argéntico, y cuyo caudal varía con las dimensiones nucleolares; y hacíamos notar que tan vivamente atraen tales gránulos la plata coloidal, que se presentan teñidos, aun en las más débiles impregnaciones, cuando ninguna neurofibrilla ha fijado el precipitado metálico.

Después de Simarro y nosotros, los consabidos granos argentófilos fueron objeto de excelentes descripciones por van Gehuchten (17), Michotte (18), Marinesco (20), Athias (23), Tello (19), Lache (25) y Collin (29).

Lache cree haberlos percibido, tanto en las preparaciones argénticas, como en las comunes. A ejemplo de Marinesco, describió primeramente en los nucleolos neuronales teñidos por las anilinas, dos especies de materias: una *substancia fundamental*, acromática, y ciertos *granos finos*, los *granos hipercromáticos*, especialmente ávidos de las anilinas básicas (tionina). Tales esférulas minúsculas corresponderían, añade Lache en un trabajo posterior (16), á nuestros granos argentófilos. Sin negar en absoluto la identidad establecida por este sabio, séanos lícito hacer notar que parece difícil equiparar los infinitesimales *puntos hipercromáticos* que este autor dibuja (véanse las figs. 1 y 2 del trabajo antiguo de Lache) sueltos ó concentrados en torno de las vacuolas, con las recias y uniformemente diseminadas esferas reveladas por el nitrato argéntico, y que este mismo autor reproduce, aunque con cierta vaguedad, en su artículo posterior del *Anatom. Anzeiger* (1906).

Pero dejando á un lado críticas y antecedentes, vengamos á la descripción de las esferas nucleolares de las pirámides cerebrales humanas. Desde luego, importa reparar que en la corteza cerebral humana adulta, todas las neuronas, sin excepción, poseen un sólo nucleolo, construido de esférulas (fig. 1, B, C, b). El mismo caso se da en la corteza del gato y del perro, con pocas excepciones. En cambio, los *nucleolos supernumerarios*, de que más adelante hablaremos, son frecuentes en las neuronas embrionarias ó jóvenes del hombre, y singularmente en las jóvenes y adultas de los pequeños mamíferos (cobaya, conejo, ratón, etc.).

En las pirámides gigantes del hombre, el número de las esférulas intranucleolares es muy grande. Su apretamiento opone obstáculo casi insuperable á la determinación de su caudal. Puede aproximadamente calcularse éste en 24 á 36. Las células más apropiadas para esta numeración son aquéllas cuyos nucleolos aparecen teñidos de café claro (figura 2, A).



En las pirámides medianas las esférulas decrecen, oscilando entre 16 y 24. En fin, en las pirámides pequeñas y en muchas células de axon corto, este número varía entre 4 y 8. Como término de comparación, es útil estudiar el núcleo de las células de neuroglia, y muy singularmente el de los corpúsculos peripiramidales ó satélites, en donde los nucleolos no se componen de acúmulos de granos, sino de granos sueltos, unas veces en número de dos, más á menudo en el de tres, dos de los cuales afectan casi constantemente mayor dimensión que el tercero restante (figura 2, E).

Las dimensiones de los gránulos, difíciles de calcular, parecen variar poco en cada tipo neuronal. Creemos no alejarnos mucho de la verdad suponiéndoles un diámetro de 0'25 á 0'30 de  $\mu$ , estatura que podría des-

cender algo en las más exiguas neuronas cerebrales.

En el perro y gato estas neuronas poseen también un nucleolo rico en gránulos; pero en el conejo y cobaya el caudal de éstos decrece notablemente. Así, en las pirámides cerebrales grandes (conejo) nos ha parecido que no pasan de 10 ó 12. Tampoco la disposición de las esférulas

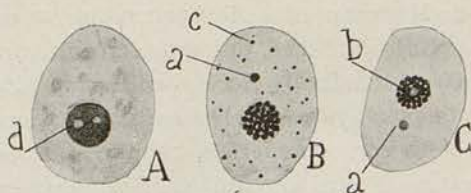


Fig. 1. — Núcleos de pirámides humanas grandes. — A, núcleo de una pirámide grande de un niño de doce años; B y C, pirámides de hombre adulto (fijación en alcohol, nitrato de plata, etc.); a, cuerpo accesorio; b, nucleolo con una vacuola central; c, granos neutrófilos del karioplasma; d, vacuola del nucleolo.

afecta en estos animales tanta regularidad como en el hombre; en vez de congregarse en globos regulares compactos, se encuentran en acúmulos desiguales de contorno y hasta en montones lobulados (montones semilunares, triangulares, etc.) (fig. 13, B, D).

Volviendo al nucleolo de la pirámide humana, las esferas argentófilas exhiben un diámetro sensiblemente igual, y yacen tan próximas entre sí, que se tocan por sus caras y hasta se deforman por presión. En virtud de esta disposición, cuando la impregnación es fuerte (lo que espesa un tanto los granos), es casi imposible distinguir los intersticios intergranulares, infiriéndose la composición granular del abultamiento de las esférulas marginales. En algunos casos (fig. 1, b), el centro del nucleolo exhibe un hueco ó rendija, que acaso corresponda, como insinúa Collin (que reproduce bien esta disposición en las células de la médula espinal del cobaya), á las vacuolas de los autores antiguos ó al cuerpo refringente de Lache.

Puesto que tales gránulos intranucleolares constituyen exclusiva revelación de la plata coloidal (ya hemos dicho que es algo dudoso que los



gránulos señalados por Lenhossék, Marinesco y Lache en preparaciones teñidas por los métodos comunes, correspondan á los argentófilos), ¿no podrían estas esferas representar, en vez de disposiciones preexistentes, simples depósitos metálicos artificiales? Semejante sospecha cobra cuerpo, sobre todo si se recuerda que las anilinas básicas y ácidas, empleadas de diversas maneras y durante muchos años en el análisis del nucleolo, han dado constantemente de este órgano una imagen homogénea, por lo menos en la mayor parte de su masa (1).

Nosotros, así como los autores que han aplicado el proceder del nitrato de plata reducido, lejos de recelar el carácter artificial de los mencionados glóbulos argentófilos, los estimamos como expresión de disposiciones normales, que escaparían á los métodos comunes como escapan también numerosas disposiciones de la marcha y terminación de las expansiones neurónicas reveladas por los métodos de Golgi, de Ehrlich y neurofibrillares. Las razones que nos inclinaron desde luego en favor de la preexistencia, fueron las siguientes:

a) Las esferas argentófilas aparecen con dimensión, forma y número constante ó casi constante en cada tipo neuronal y en cada especie animal.

b) Se las ha encontrado con los mismos caracteres en los nucleolos nerviosos de casi todos los vertebrados, así como en los embriones y animales en curso de desarrollo.

c) Dichas esferas faltan en todos los demás órganos neuronales.

d) El color ó matiz adquirido por tales esferas en presencia de la plata coloidal, varía con la energía de la impregnación, oscilando desde el amarillo ó naranja (impregnación débil), al pardo y negro (impregnación enérgica), pasando por el rojo café.

Estos diversos matices corresponden exactamente á los tonos graduales tomados por las neurofibrillas ú otras partes celulares más ó menos enérgicamente impregnadas por la plata coloidal. Los verdaderos precipitados argénticos, por ejemplo, los producidos en piezas que no han permanecido suficiente tiempo en la estufa, no constan de plata coloidal, sino de polvo argéntico microscópico, con color negro ó gris, y formas y dimensiones variables. El estudio cuidadoso del aspecto óptico de los precipitados argénticos metálicos (plata reducida), nos ha conducido á la averiguación de que todo grano argéntico, cuyo diámetro sobrepasa sobre poco más ó menos dos décimas de micra, afecta color negro ó gris ó azulado, y con mayor razón las esferas de la grosera dimensión de

(1) Recientemente, ensayando sobre los núcleos frescos la iluminación eléctrica de fondo obscuro, hemos creído percibir, como granos brillantes, las esferas argentófilas del nucleolo (ganglios del conejo).



las nucleolares (2 ó 3 décimas de  $\mu$ ). El tono rojo amarillento ó anaranjado pardo de las preparaciones neurofibrilares denota siempre una fijación de plata coloidal, es decir, de partículas metálicas ultramicroscópicas sobre una materia protéica preexistente. Este depósito es insoluble en agua, alcohol, éter y ácido acético, pero atacable á la larga por el oxígeno del aire.

e) Dichos granos nucleolares aparecen constantemente en cortes de tejido nervioso, absolutamente limpios de precipitados irregulares, y su impregnación suele ser tanto más enérgica, cuanto más diluída está la solución argéntica utilizada.

f) En fin, los referidos glóbulos argentófilos dejan de presentarse en los nucleolos tratados por los reactivos disolventes ó alterantes de las sustancias nucleolares (álcalis fuertes, ácidos minerales, etc.), se empequeñecen ó alteran en los cerebros de ceréptos, se desagregan y licúan en ciertos estados morbosos, tales como la rabia, según señalamos nosotros y Marinesco, y no se muestran en los cadáveres cuya descomposición ha avanzado demasiado. Esto último revela que los tales gránulos, no sólo corresponden á formas preexistentes, sino á partes notablemente vulnerables, sujetas en estado patológico á transformaciones importantes, que acaso algún día adquieran valor en el estudio anatomopatológico de determinadas enfermedades.

La alterabilidad de la sustancia argentófila nucleolar, y acaso también del soporte granular, dan cuenta de por qué cuando se pretende estudiar las esférulas argentófilas en el hombre con ayuda del nitrato de plata reducido, no siempre se obtienen buenos resultados. Ya Marinesco hizo notar esta veleidad del método argéntico, veleidad sólo aparente, puesto que depende de la alteración de la sustancia nerviosa. Para evitar fracasos, importa, pues, señalar aquí algunas de las condiciones necesarias á la buena impregnación de las esférulas nucleolares.

1.<sup>a</sup> Empleo de piezas anatómicas frescas ó de cadáveres cuya descomposición esté poco avanzada. En general, nuestras mejores preparaciones del nucleolo del cerebro humano proceden de cadáveres que no habían cumplido las veinticuatro horas ó que acababan de cumplirlas (temperatura de 8° á 18°). En ningún caso hemos logrado dicha buena coloración en cadáveres cuyos vasos cerebrales contienen ya microbios de la putrefacción, microbios que á temperatura de 20° á 25° invaden el organismo desde el intestino, desde las veinticuatro horas y acaso antes.

2.<sup>a</sup> Evítense las fijaciones fuertemente alcalinas (piridina pura, alcohol amoniacal fuerte, etc.), así como las formólicas. Los álcalis, aunque no destruyan siempre las esférulas nucleares, debilitan mucho su avidez por la plata coloidal.



A la fijación formólica se debe verosíblemente la palidez del nucleolo en el método de Bielschowsky, aun cuando pudiera también intervenir en ello el empleo de reactivos fuertemente alcalinos.

3.<sup>a</sup> La coloración del nucleolo obtiéndose constantemente fijando con agentes neutros ó débilmente alcalinos (alcohol puro ó con acelerador, fijación en hidrato de cloral, en acetal, en alcohol débilmente amoniacal —amoníaco, 1 á 3 gotas por 50 de alcohol), á condición, naturalmente, de

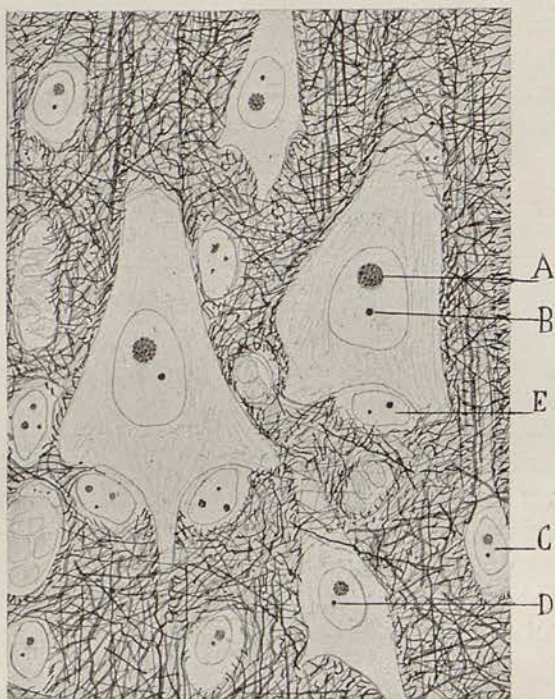


Fig. 2. — Corte de la región motriz del hombre adulto; fijación en piridina al 50 por 100 y después en alcohol; método del nitrato de plata reducido. — A, nucleolo con sus esférulas argentófilas; B, D, cuerpo accesorio; C, grano; E, célula de neuroglia.

que, según dejamos dicho, las piezas sean frescas. Fijando con nitrato de plata puro, sobre todo si está muy diluido, los resultados suelen ser también excelentes.

**Materia fundamental del nucleolo.** — Coloreable por el carmín, hematoxilina y anilinas ácidas y básicas, esta materia debe estimarse como una ganga homogénea, poco abundante, en cuyo seno se hallan englobadas las esférulas argentófilas.

Hemos consignado ya las opiniones de Marinesco y Lache sobre la



existencia en el nucleolo de una materia fundamental acromática, en el espesor de la cual residirían los granos cromáticos. Mas ambas materias, la acromática y la cromática, no corresponden respectivamente á la substancia intergranular incolora y á los glóbulos coloreables de los preparados argénticos.

Según Lache, existirían dos cromatinas: una *difusa*, intergranular é incolorable por el nitrato de plata, y otra *concreta* ó granular, impregnable por este reactivo. Opinión semejante profesa Collin. La aceptación de una cromatina difusa ó intergranular viene obligada, por el hecho bien conocido de que las anilinas básicas colorean en bloque todo el nucleolo sin distinguir de globos y materia interglobar.

Los hechos de observación no imponen necesariamente la suposición de semejante dualidad cromática, opinión, sin duda, sugerida por el concepto que nos hemos formado de la significación de la cromatina. Dejamos dicho ya que esta noción posee hoy simplemente un valor morfológico y no designa un principio inmediato determinado. Descartada esta causa de confusión, otras hipótesis son posibles y acaso más plausibles. En vez de imaginar la presencia en el nucleolo de dos cromatinas, argentófoba y argentófila, es decir, difusa y concreta, parece más verosímil y racional admitir, en el estado actual de la ciencia, que ese principio todavía hipotético, ávido de los colores de anilina, residente en el nucleolo, se reparte por igual en los globos argentófilos y en la materia interglobar; pero que dichos glóbulos contienen además una substancia especial, la *materia argentófila*, notablemente afine de la plata coloidal.

Semejante substancia faltaría normalmente en los espacios interglobares. En favor de este dictamen, perfectamente conciliable con las observaciones de Marinesco y Lache, habla el hecho de que la plata coloidal no impregna jamás ninguna materia marcadamente basiófila, por lo menos en las piezas tratadas por los fijadores neutros ó ligeramente alcalinos (por ejemplo, los *grumos* de Nissl, la *red de nucleína*, etc.).

El aspecto de la materia intersticial varía según el fijador empleado y el grado de selección de los gránulos. Si éstos se impregnan con gran intensidad, dicha materia es absolutamente incolora; mas si se marcan apenas, si, como ocurre en el cerebro de cadáveres alterados, no fijan predilectamente la plata coloidal, entonces la substancia fundamental exhibe tono café ó amarillo-rojizo homogéneo, en cuyo centro destacan bien las vacuolas, como en los preparados teñidos con carmín. En ocasiones la alteración del nucleolo sólo es parcial, presentándose los gránulos medio fundidos con la substancia intergranular, es decir, que en unos puntos las esférulas se diferencian del fondo, mientras que en otros parecen constituir un magma común con la referida materia.



*Vacuolas intranucleolares.* — Cuando se examinan los nucleolos nerviosos en preparados no teñidos ó simplemente coloreados en carmín ó hematoxilina, sorpréndense ciertas manchas redondas, centrales, escasas en número (1 á 3 ó 4), esferoidales, más claras que el fondo nucleolar y con apariencia de vacíos. Tales manchas, descubiertas hace tiempo por Mauthner (1860) y Schron, fueron confirmadas y mejor estudiadas por Flemming (1), quien, alegando razones muy plausibles, las estimó como vacuolas fraguadas en el espesor nucleolar. Como vacuolas las consideran también Golscheider y Flatau (8).

Otros autores, y singularmente Obersteiner, que las ha confirmado en las neuronas del hombre, las considera como corpúsculos sólidos refringentes, á cuyo dictamen se han adherido en estos últimos tiempos Rucicka (4), Lache (15) y Holmgren (26). Lenhossék y Athias (23), no se pronuncian acerca de la significación de estos gránulos, aunque este último sabio parece inclinarse en favor de su identificación con las esferas argentófilas.

En general, tales manchas no atraen los colores, destacando por su palidez del fondo nuclear.

Sin embargo, aplicando Rucicka á la médula espinal del gato una fórmula especial (fuchina y orceína), ha observado intensamente teñidos, no uno, sino varios glóbulos de espesor desigual, dispuestos en montón y particularmente acumulados en la región central del nucleolo (6). Por lo demás, este sabio los ha impregnado también por el nitrato de plata, según un proceder especial (acción de una solución alcohólica de nitrato de plata, seguida de exposición de los cortes á la luz) (7).

Por su parte Lache, usando la safranina, los ha reconocido claramente también, considerándolos como una dependencia de la substancia fundamental del nucleolo. En su sentir, estos corpúsculos, que llama *corpúsculos refringentes*, constan de un material sólido y brillante. Su dimensión y número son muy variables. Al lado de granos finos apenas visibles, existirían otros relativamente grandes, que pueden medir hasta el tercio del volumen nucleolar. Algunos de estos corpúsculos refringentes emigran á la periferia y pueden caer en pleno karioplasma.

La existencia de los organitos que nos ocupan parece general. Holmgren los ha hallado en muchos vertebrados, singularmente en las células nerviosas del *Acanthias*, donde destacan coloreados en rojo claro sobre

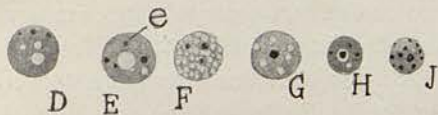


Fig. 3. — Nucleolos de las pirámides cerebrales grandes y medianas de un niño de doce años. Nitrato de plata reducido. Vacuolas ó puntos refringentes del nucleolo y granos oscuros. (Cadáver de treinta y seis horas con un principio de alteración nucleolar).



un fondo nucleolar violado (molibdato y azul de toluidina). Por su parte, Collin los confirma en los nucleolos del cobaya, mostrándose claramente en las preparaciones teñidas con la safranina y el *verde lumière*. En sentir de este sabio, trataríase de vacuolas á manera de burbujas, que podrían, en ciertos casos, formar hernia en la superficie nucleolar y abrirse en el exterior.

Nosotros hemos confirmado la descripción de estos autores. En los preparados de la corteza cerebral humana, así como en la del perro y gato, teñida por la safranina ó el carmín, se nos han presentado con relativa frecuencia bajo la forma de espacios claros, esferoidales, desiguales en diámetro, generalmente centrales ó vecinos del centro y en número oscilante entre 1 y 6. Como mostramos en la fig. 3, existen muchas variantes en cantidad y posición de tales vacuolas. Lo común es la existencia de una solitaria central ó de una grande y de otra pequeña (fig. 3, D, E); pero no son raros casos de tres ó más vacuolas escéntricas, de mediana ó pequeña dimensión (fig. 3, G). En ocasiones, todo el nucleolo aparece invadido por ellas, mostrando un aspecto esponjoso (fig. 3, F), ya notado por Athias. En los nucleolos bien teñidos por el nitrato de plata reducido son raras; sin embargo, como ha hecho notar Collin, se perciben alguna vez entre los granos argentófilos. Nosotros mostramos una de ellas en la fig. 1, C, correspondiente á un corte en que la impregnación de los granos argentófilos logróse perfectamente gracias á la fijación alcohólica. Compruébase también la opinión de Lache de que tales organitos yacen en la materia fundamental ó interglobar.

Los corpúsculos que nos ocupan son singularmente frecuentes en los cadáveres humanos. En las células cerebrales márcanse con gran relieve, sobre todo cuando la descomposición se ha iniciado (preparados argénticos). En tales casos las esférulas argentófilas no aparecen, exhibiendo el nucleolo una coloración café ó roja homogénea, que recuerda los antiguos teñidos al carmín. Pero consignemos desde luego que estos corpúsculos *no son absolutamente constantes* ni aun en el hombre, que es donde más fácilmente se los halla. Para decirlo de una vez, nosotros nos inclinamos á considerar las vacuolas ó corpúsculos refringentes de Lache, como producciones artificiales, debidas ya á la acción de los reactivos, ya á fenómenos autolíticos desarrollados en el espesor del nucleolo durante el espacio de tiempo que media entre la muerte y la fijación de las piezas.

He aquí las razones que nos conducen á este parecer:

- 1.<sup>a</sup> En los animales recién sacrificados y en las porciones superficiales de las piezas rápidamente fijadas, las vacuolas son rarisimas y hasta faltan por completo.

- 2.<sup>a</sup> La dimensión, número y situación de tales organitos son sumamente



variables, y tales variaciones son poco conciliables con la opinión que los considera como factores intranucleares normales y constantes.

3.<sup>a</sup> Cuanto más se aleja la autopsia (cadáver humano) del momento de la muerte, tanto más numerosas son las vacuolas. A veces son tan abundantes, que dan al nucleolo aspecto alveolar.

4.<sup>a</sup> Estos espacios preséntanse en gran cantidad en aquellos casos en que, por descomposición demasiado avanzada, se ha modificado la composición del nucleolo, y éste es ya incapaz de mostrar las esferas argentófilas. Y al revés, todo nucleolo cuyas esférulas argentófilas han sido perfectamente fijadas y teñidas, carece, por lo común, de vacuolas.

Hemos citado excepciones, pero éstas son raras, como cualquiera podrá fácilmente reconocer, examinando una buena impregnación (fijación en alcohol) neurofibrillar del cerebro humano ó del perro.

En suma, para nosotros el nucleolo es un órgano extraordinariamente vulnerable é inestable que recuerda, bajo este aspecto, la mielina. El menor retardo en la fijación da lugar á que se desarrollen descomposiciones, uno de cuyos resultados es el citado cuerpo refringente. Cuanto á su naturaleza, nos afiliamos á la vieja opinión de Flemming. La semejanza de estos cuerpos con las vacuolas abiertas en el protoplasma de los leucocitos; su contorno obscuro, enteramente comparable al del límite nucleolar; su colorabilidad generalmente menos enérgica que el material nucleolar (las excepciones prueban solamente que en su cavidad pueden formarse precipitados), todo sugiere la idea de que se trata de huecos esculpidos en la substancia fundamental del nucleolo y rellenos de un líquido seroso.

*Otros corpúsculos intranucleolares.* — El nucleolo es susceptible de muchas alteraciones acusables por la reacción argéntica. Contamos entre ellas la presencia, señalada primeramente por Marinesco, de ciertos granos negros residentes, ya dentro de las vacuolas, ya en el espesor de la materia fundamental nucleolar. El número y posición de estos gránulos son variables. En ciertos casos aparece uno relativamente grueso y central, semejando, como nota Marinesco, un *nucleolino* ó nucleolo del nucleolo (fig. 3, G). Este nucleolino yace á veces dentro de una vacuola (fig. 3, H). A menudo los citados gránulos afectan desigual espesor, y en número de dos, tres ó más, se presentan dispersos por el territorio nucleolar. En fin, hay nucleolos provistos de finos gránulos negros, particularmente acumulados en la periferia (fig. 3, J) y que recuerdan la *corona perinucleolar* de Lache.

Todas estas disposiciones nos parecen resultado de alteraciones *post-mortem*. En efecto, faltan cuando la buena fijación motiva una excelente coloración de las esferas argentófilas, y, en cambio, encuéntranse abun-



dantes en aquellos nucleolos donde se desarrollan vacuolizaciones y en los cuales la plata coloidal produce coloraciones homogéneas.

SEMILUNAS BASIÓFILAS DE LEVI. — Páginas más atrás dejamos consignado el interesante descubrimiento que Levi (12), con ayuda del líquido de Biondi, hizo en el núcleo de diversas neuronas y de diferentes especies animales. Consistió el hallazgo en la demostración de que el núcleo nervioso contiene, al modo de los núcleos ordinarios, una materia exquisitamente basiófila, colorable por el verde de metileno; pero contra lo que se había supuesto, semejante materia no se aloja en el nucleolo, sino en torno de éste, bajo la forma de costras verrugosas ó de masas semilunares adherentes al contorno nucleolar. El líquido de Biondi posee la propiedad de diferenciar perfectamente el nucleolo, de dichas costras ó *zolle* basiófilas, como las llama Levi. Mientras aquél aparece teñido en rojo, mostrándose, por tanto, fuertemente acidófilo, las *zolle* ó materia basiófila se tiñen en verde. El nucleolo, pues, hallárase formado, como el de las células comunes, por *pirenina* ó *paranucleína*.

En el cobaya, al cual especialmente se refieren las observaciones de Levi, dichas masas ó *zolle* semilunares poseen una longitud de 2 á 3  $\mu$ , tocándose á menudo por su contorno. Unas veces abultan á modo de recias excrecencias redondeadas, otras apenas sobresalen del contorno nucleolar, al que abrazan como un casquete. En ningún caso tales grupos basiófilos se apartarían del nucleolo, mostrándose libres en el jugo nuclear. En los gruesos nucleolos (células de los ganglios espinales, etc.), la forma semilunar y las disposiciones costriformes dominan; en los pequeños, las *zolle* adoptan la forma de excrecencias espesas y lobuliformes.

En las pirámides cerebrales del cobaya la disposición de las costras es algo especial, siendo en número de dos, encaperuzadas en los dos cabos axiales del nucleolo; el conjunto recuerda la figura de un tonel.

La descripción de Levi ha sido confirmada por numerosos autores, entre los cuales mencionaremos á Lenhossék, Held, Scott, Ewing, Bühler, Holmgren, Havet, Perrin de la Touche y Dide, Marinesco, Lache y Collin, etc.

Puntualicemos aquí las opiniones de aquellos que se han ocupado en particular del estudio del núcleo de las neuronas cerebrales.

Perrin de la Touche y M. Dide (22) han escogido como objeto de exploración la corteza cerebral del cobaya. El núcleo de las células polimorfas contiene un nucleolo menudo, fuertemente acidófilo, coloreable en rosa por la eosina, que muestra en sus lados polares un cuerpecillo basiófilo, tuberoso ó esferoidal, notablemente coloreable por el *hémalaun*. A veces, las excrecencias basiófilas son menos regulares, presentando



configuración esquinada de doble bola, en anillo ó círculo perinuclear, rectangular, etc.

Marinesco, que ha trabajado de preferencia en el mismo animal, da también una descripción confirmatoria de la de Levi y Perrin de la Touche y Dide. Por lo que toca á los núcleos de las células de los ganglios espinales, observa asimismo en los tipos gruesos casquetes basiófilos semilunares aplastados; en tanto que en los tipos pequeños la materia basiófila domina sobre el nucleolo, modelándose en masas redondeadas considerables y pudiendo hasta invertirse la disposición de ambos factores, es

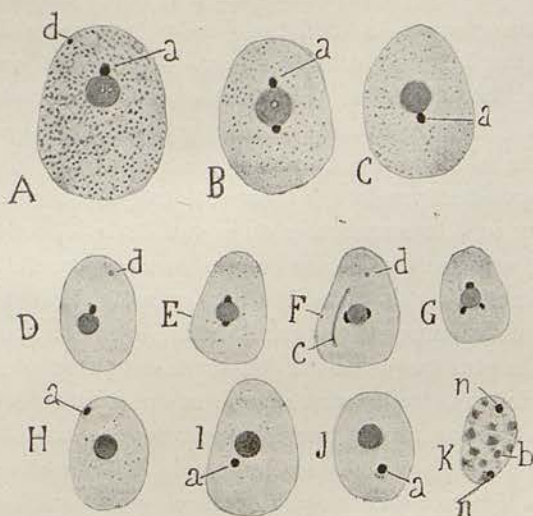


Fig. 4. — Núcleos de pirámides cerebrales del hombre adulto, teñidos por el licor de Unna-Pappenheim. — A, B, C, núcleos de pirámides grandes; D, E, F, G, J, núcleos de pequeñas pirámides; H, I, pirámides medianas; K, núcleo de célula neurónica; a, grumo basiófilo teñido en verde gris; b, granos basiófilos del núcleo neurónico; d, gránulo verde gris pálidamente impregnado ¿cuerpo accesorio?; n, nucleolos neurónicos teñidos en rojo.

decir, que el nucleolo parece formado por una recia masa basiófila, portadora, á guisa de apéndice periférico, de una ó más esferas nucleolares acidófilas. Parecidas disposiciones encuentra en la corteza cerebral de los mamíferos.

Ciñéndose á la corteza cerebral del cobaya, Collin (29) da una excelente descripción de la materia basiófila perinucleolar, que ha teñido, tanto con la *eosina-glychhemaum* como con la safranina y *verde lumière*. En sus figuras de las neuronas cerebrales (fig. 4) aparecen las *zolle* de Levi, formando ora dos excrecencias polares, ya tres lóbulos perinucleares de diversa dimensión.



Lache (25) ha aplicado el método del nitrato de plata reducido al estudio de las *zolle* de Levi, que considera formadas de esferas ó granos de nucleína, semejantes á las constitutivas del nucleolo.

Después de describir las esferas argentófilas del nucleolo, este sabio pasa á reseñar los granos libres argentófilos del jugo nuclear y dice: «Les autres parties constituantes du noyau sont ordinairement moins apparentes escepte un ou plusieurs corpuscules dispersés dans le noyau ou mieux groupés autour du nucleole» .... «chez les jeunes animaux leur nombre est beaucoup plus grand». «La première idée qui se présente à l'esprit quand on les regarde plus longtemps est de les identifier aux grains plus gros de la nucleine (las esferas argentófilas del nucleolo) dont ils ont la forme et la grandeur. En effet, en comparant des préparations à l'hématoxyline (Böhmer) avec des sections colorées à l'argent réduit, j'ai pu constater que les gros grains de nucleine (qui même dans cette méthode prend une nuance coloratrice plus intense que le reste) correspondent précisément par leur fréquent arrangement périnucleolaire, aux susdits corpuscules du noyau» ..... «Chez l'homme ces formations sont représentées par un ou plusieurs corpuscules ronds, dont, la nuance coloratrice est tantôt moins forte ou même égale à celle du nucléole. Ils sont donc jaunes tirant sur le brun, bruns ou brun noirâtres. Leur situation la plus fréquente est l'entassement autour du nucleole où ils forment parfois une vraie couronne. Ceux des grains périnucleolaires qui adhèrent à la substance du nucléole meritent une attention spéciale» ..... «Ils ont été décrits par Levi sous le nom de *Zolle basofle nucleolari*». Y en una nota agrega: «Le *cuero accesorio* nom sous lequel designe Cajal les corpuscules colorables du voisinage du nucléole, n'est autre chose qu'un ou plusieurs grains nucleiniens».

Este largo pasaje, que no traducimos para no desvirtuar las manifestaciones del autor, prueba que Lache considera las costras basiófilas ó *zolle* perinucleolares de Levi, como compuestas de esférulas de nucleína ora libres, pero más á menudo dispuestas en corona perinucleolar y colorables por el nitrato de plata. Prueba también que, en su opinión, nuestro cuerpo accesorio (véase más adelante) es uno de tantos granos de nucleína comparables á los granos argentófilos del nucleolo y desprendidos de la corona perinucleolar.

Ahora bien, estas ideas del sabio rumano están en tan abierta contradicción con nuestras observaciones, que sólo podemos explicarlas imaginando que, habiendo impregnado el *cuero accesorio* y algunos granos acidófilos de karioplasma vecinos del nucleolo, dicho sabio ha caído en la equivocación de identificarlos con las *zolle*, tanto perinucleolares como libres de Levi. En realidad, el nitrato de plata no colorea ni poco



ni mucho las semilunas basiófilas de Levi, las cuales (y este es un argumento decisivo) pueden revelarse, sin embargo, en los cortes finos del método del nitrato de plata reducido (donde el nucleolo y las esférulas del karioplasma atrajeron la plata), á condición de tratarlos consecutivamente con una anilina básica (azul policrómico de Unna, azul de toluidina, licor de Unna-Pappenheim, etc.).

Nuestras observaciones acerca de la materia basiófila perinucleolar de Levi, efectuadas en la corteza cerebral del hombre adulto, confirman plenamente las de este sabio, así como las de Lenhossék, Marinesco, Perrin de la Touche y Dide y Collin, bien que éstas háyanse efectuado en tipos neuronales diferentes. Las mejores preparaciones las hemos obtenido en los cortes cerebrales coloreados por el líquido de Unna-Pappenheim y por el azul de toluidina. También el método de Held y el usado por Collin (safranina y *verde lumière*) nos ha dado buenos resultados. En cambio, el líquido de Biondi suele proporcionar imágenes demasiado pálidas. Según dejamos consignado más atrás, las *zolle* pueden colorearse aun en los cortes previamente impregnados con el nitrato de plata reducido (fijación en alcohol, en piridina al 50 por 100, etc.), circunstancia muy importante, porque permite diferenciar perfectamente dichas masas basiófilas de las esférulas del karioplasma revelables por la plata coloidal.

Como mostramos en la fig. 4, *a*, las masas basiófilas constituyen en la corteza humana lóbulos ó esferas mucho más pequeñas que en los animales (no suelen pasar de 0.7 á 0.9 de  $\mu$ ) y adheridos al contorno nucleolar. La forma semilunar es rara, dominando la esferoidal ó elipsoidea; sólo en tal cual neurona pequeña (fig. 4, F) hemos percibido verdaderas costuras ó casquetes perinucleolares. En las preparaciones del método de Unna-Pappenheim, así como en las del proceder de Biondi, dichas masas basiófilas aparecen verdes y rojos los nucleolos. Como objeto de comparación presentamos un núcleo de célula neuróglia (fig. 4, K), donde la red de nucleína exhibe color verde, quedando rojos dos ó tres grumos, que son indudablemente los nucleolos.

La forma y disposición de las *zolle* de Levi varían algo, según el tipo celular examinado. En las células de Betz y pirámides voluminosas (figura 4, A, C) el globo basiófilo es relativamente grueso, solitario, por lo común esferoidal ú ovoideo, con el eje paralelo (hay excepciones) al de la pirámide y yace frecuentemente sobre el lado basal ó apical del nucleolo (fig. 4, B, C). Pero no es raro descubrir en estos mismos elementos dos glóbulos basiófilos en vez de uno. Estos glóbulos son masas ovoides homogéneas, adheridas por un cabo al contorno nucleolar. En las pirámides medianas y pequeñas, así como en las neuronas de axon corto,



aun cuando cabe notar á veces un solo lobulillo basiófilo, más corrientemente ostentan dos, aunque de exigua dimensión, situados ya en los polos axiles del nucleolo, ya en las partes laterales (fig. 4, E, F). En ocasiones, destacan tres lobulillos basiófilos de dimensión algo desigual, que en algunos casos llegan á aplastarse en forma desmilunas (figs. 4 y 5, C, G).

En fin, á fuerza de rebuscar se acaba siempre por sorprender globos basiófilos, independientes del nucleolo y aun situados á bastante distancia, bien en dirección basal, bien en dirección apical (fig. 4, H, I, J). Estos glóbulos independientes son esféricos, y cuando existen suele el nucleolo representarse libre

de lobulaciones basiófilas. Por lo demás, semejante disposición ha sido ya dibujada por el mismo Levi y observada en las neuronas de varios animales por Marinesco, Collin, Perrin de la Touche y Dide, etc.).

La precedente descripción está basada principalmente en las imágenes del método de coloración de Unna-Pappenheim. Pero una vez observados por este proceder los lóbulos basiófilos humanos, reconocense también hasta en

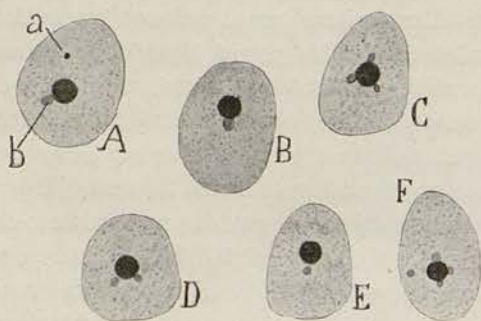


Fig. 5. — Núcleos de pirámides grandes y medianas del hombre. Fijación en piridina al 50 por 100. Coloración previa del nucleolo en pardo obscuro con el nitrato de plata, teñido subsiguientemente en azul policrómico de Unna; a, cuerpo accesorio impregnado en pardo; b, grumos basiófilos teñidos en azul; en A y B se ve sólo un grumo; en D aparecen dos y en C y F tres.

las preparaciones teñidas por las anilinas básicas.

Véase, por ejemplo, la figura donde mostramos los citados lobulillos, coloreados por el azul policrómico de Unna (fig. 10, g, h, f). En fin, en la fig. 9, h, j), que reproduce un corte de la corteza insular del niño de un mes, aparecen las *zolle* teñidas por la tionina, notándose que la materia basiófila adopta forma de costras semilunares, aun en las gruesas neuronas.

Los grumos basiófilos de Levi aparecen también en los preparados neurofibrilares cuando se colorean éstos mediante las anilinas básicas. El azul de toluidina, el líquido de Unna-Pappenheim, el azul de metileno policrómico de Unna, etc., dan bajo este aspecto buenos resultados. Sin embargo, las coloraciones más enérgicas y demostrativas las hemos conseguido con el azul policrómico aplicado sobre cortes de piezas que fueron fijadas antes de la impregnación neurofibrillar, bien en alcohol puro,



bien en piridina al 50 por 100 ó, en fin, en formol al 10 por 100. En la figura 5, *b*, presentamos el aspecto presentado por los núcleos así coloreados de las pirámides motrices grandes y medianas (niño de ocho años, muerto de accidente). El nucleolo, previamente coloreado en café, atrae intensamente el azul, con lo que resulta de un tono especial violáceo marrón. En su interior no se distinguen las esférulas argentófilas. Y al lado del nucleolo aparecen con menor intensidad y de un matiz azul oscuro, algo violáceo, uno, dos, hasta tres grumos cromáticos perinucleolares. En algún caso adviértese que el grumo se separa del nucleolo (figura 5, *E*). Grumos independientes hállanse á veces hasta en núcleos provistos, como mostramos en la fig. 5, *F*, de tres esférulas basiófilas perinucleolares. Por lo demás, el karioplasma preséntase también teñido en estas preparaciones, destacando en él con más ó menos vaguedad las granulaciones neutrófilas.

Parecido resultado se obtiene usando el licor de Unna-Pappenheim sobre preparaciones neurofibrillares, fijadas ya en alcohol puro, ya en formol, bien en piridina diluída. La coloración de los grumos es, sin embargo, mucho más pálida, mostrando un matiz gris verdoso que contrasta con el nucleolo teñido en pardo rojizo.

En fin, en los animales (perro, gato, conejo) hemos conseguido igualmente revelar, mediante el azul de metileno ó el azul de toluidina (1), los citados grumos hasta en preparados neurofibrillares en que aparecían perfectamente coloreadas en pardo las esferas argentófilas del nucleolo (figura 6, *a*).

Sobre la significación de la substancia basiófila de Levi de las células nerviosas, ninguna opinión personal podemos formular. Consignaremos, sin embargo, que miramos con simpatía la opinión de aquellos autores, como Levi, Lenhossék, Havet, Marinesco y otros, que ven en ella la representación del armazón cromático de los núcleos comunes, armazón que por reposo proliferativo habría caído en atrofia, reduciéndose á uno ó varios grumos aislados. Acaso, según afirma Marinesco, este empobrecimiento de la basicromatina sea una de las condiciones de la incapacidad

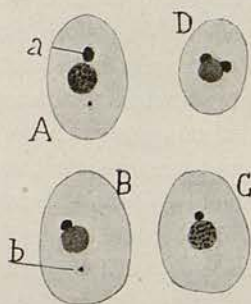


Fig. 6. — Núcleos de las pirámides cerebrales del perro adulto. Coloración neurofibrillar y consecutivamente azul de toluidina; *a*, grumos basiófilos; *b*, cuerpo accesorio.

(1) El azul de toluidina es muy apropiado para la coloración de la materia basiófila, como ha señalado Achúcarro, en cuyas preparaciones del asta de Ammon del conejo rábico hemos visto las *zolle* perfectamente coloreadas.



proliferativa de las neuronas de los animales superiores. De todos modos, es muy interesante notar que las neuronas de los vertebrados inferiores, donde la materia basiófila perinuclear abunda, han conservado aptitud proliferativa. No menos instructiva desde este punto de vista es la observación de Havet (27), quien analizando la textura nuclear en los batracios, ha reparado que, al comenzar la mitosis, las asas cromáticas de las figuras kinéticas se forman á expensas de los referidos casquetes basiófilos perinucleolares, durante cuya metamorfosis el nucleolo caería en atrofia y reabsorción.

**CUERPO ACCESORIO.** — Con este nombre hemos designado (1) un glóbulo de especiales propiedades, yacente en el karioplasma y perfectamente separable por su tamaño, posición y capacidad tintorial, tanto del nucleolo principal y supernumerarios, como de las granulaciones neutrófilas del jugo nuclear. En las neuronas voluminosas este corpúsculo es único, afecta forma esférica, muéstrase homogéneo, reside á cierta distancia del nucleolo y se caracteriza, en fin, por colorearse en presencia de la plata coloidal con un matiz diferente del tomado por el nucleolo ó por teñirse cuando este último permanece incolorable. Su tamaño varía en las diversas células, siendo algo mayor que los gránulos argentófilos del nucleolo y muy superior á las finas granulaciones del karioplasma. Por término medio puede fijarse su diámetro en 0'5 de  $\mu$ .

En un principio, habíamos observado solamente este curioso corpúsculo en las neuronas del bulbo y médula espinal de los animales jóvenes (conejo, perro, gato), impregnadas con la *fórmula III* (alcohol amoniaco) ó con la *fórmula I* (fijación en nitrato). Pero después confirmamos su existencia en casi todos los centros nerviosos (cerebelo, cerebro, ganglios sensitivos, bulbo olfatorio, retina, etc. del perro, gato, ratón, etc.). Ultimamente, nos hemos persuadido de que dicho corpúsculo se encuentra con absoluta constancia en las neuronas del hombre adulto y joven, y muy singularmente en las células de la corteza cerebral. En fin, Tello (19) ha observado también este corpúsculo en los reptiles y aves.

El cuerpo accesorio constituye revelación de la plata coloidal. Nuestras tentativas para diferenciarlo claramente en los preparados comunes han sido poco afortunadas. Con lo cual no queremos decir que sea incolorable por las anilinas. Al contrario, en diversas preparaciones teñidas unas con el azul policrómico de Unna, otras con la tionina ó el azul de toluidina, y en general con los colores básicos de anilina, las pirámides cerebrales nos han ofrecido, además del lóbulo basiófilo más ó menos débilmente coloreado, cierto pequeño gránulo de reacción neutra, aunque con preferencias basiófilas, que por su posición y tamaño recuerda el cuerpo accesorio de los preparados argénticos. En la fig. 9, *b*, *f*, y en la



figura 4, D, F, *a*, *d*, presentamos núcleos donde se advertían dichos gránulos. Como la preparación reproducida por la fig. 9, *b*, corresponde al niño de un mes, donde se presentan á veces nucleolos supernumerarios, la confusión con éstos es muy posible. No tanto en la fig. 10, *b*, *c*, *e*, que copia núcleos humanos adultos teñidos por el azul policroómico de Unna, y en los cuales se perciben á veces con claridad, además del lobulillo basiófilo (fig. 10, *f*, *g*, *h*), un gránulo (*b*, *c*), muy parecido en tamaño y posición al cuerpo que nos ocupa. En fin, hasta en los cortes de Unna-Pappenheim se repara alguna vez un granito teñido en gris verdoso pálido, más pequeño que las *zolle* de Levi (fig. 4, *d*), y en ocasiones situado excéntricamente. Fuerza es confesar, empero, que tales imágenes, aunque interesantes, no son decisivas ni sirven para individualizar con absoluta certeza el cuerpo accesorio. Podría suceder que en estos casos se tratara, ora de un nucleolo supernumerario, ora de un grumo basiófilo dislocado y errante. Además, en los preparados citados, dicho gránulo, diminuto y débilmente basiófilo, falta á menudo; en la mayoría de las voluminosas pirámides del hombre adulto, no hemos logrado percibirlo.

En realidad, la diferenciación perfecta del cuerpo accesorio se basa solamente en sus propiedades de apetencia de la plata coloidal, las cuales cabe resumir en las siguientes proposiciones: *a*) Con ciertos fijadores (alcohol, nitrato de plata, etc.), el cuerpo accesorio puede adquirir matiz obscuro análogo al nucleolo, lo que depende de la excesiva energía de la coloración; pero más á menudo, y sobre todo cuando la impregnación es moderada, ambos cuerpos afectan color diferente: unas veces aparecen negros los granos nucleolares y rojo ó pardo claro el cuerpo accesorio, y otras, al revés, exhibe el nucleolo tono rojo y el cuerpo accesorio color negro (fig. 7, *a* y fig. 2, B). *b*) Usando diversas fórmulas (*fórmula IV*) al formol, fijación en piridina diluida, etc., fijación en acetal, en hidrato de cloral, lógranse frecuentemente impregnaciones en que el nucleolo permanece incoloro ó apenas teñido, mientras que el cuerpo accesorio ostenta matiz pardo-oscuro ó negro (fig. 7, *a*). *c*) En fin, se dan casos en que, al contrario, el nucleolo se tiñe de manera

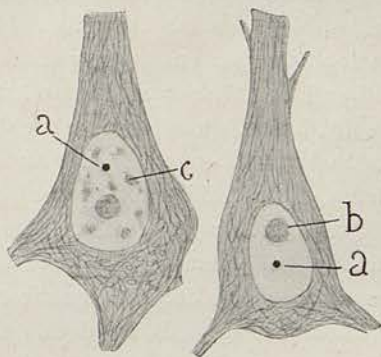


Fig. 7. — Dos pirámides grandes de la corteza humana adulta. Preparado neurofibrillar (fijación en formol y luego en alcohol amoniacal); *a*, cuerpo accesorio negro; *b*, nucleolo pálido; *c*, grumos hialinos.



exclusiva, desapareciendo por completo el cuerpo accesorio (fig. 1, A). No menos eficazmente contribuye á establecer la individualidad del cuerpo accesorio su constancia absoluta, su tamaño idéntico en cada tipo celular, su distancia próximamente igual del nucleolo, y, en fin, su absoluta soledad, perfectamente apreciable en aquellas preparaciones en donde los gránulos neutrófilos del karioplasma no han atraído el depósito metálico (fig. 2).

El cuerpo accesorio ha sido confirmado por diversos autores, singularmente por Athias, que da de él buenos diseños y descripción. Pero, en general, se ha concedido poca atención al estudio de este órgano nuclear. Los neurólogos que se han servido de los métodos argénticos, parecen haber identificado el cuerpo accesorio, bien con los nucleolos supernumerarios, bien con las diversas granulaciones acidófilas ó neutrófilas del karioplasma, las cuales de vez en cuando atraen la plata coloidal. A esta última identificación se inclina Athias, aunque con carácter dubitativo. En fin, Lache, que parece haber visto el mencionado órgano, lo reputa, según dejamos apuntado más atrás, como uno de tantos glóbulos de nucleína, desprendidos de la corona perinucleolar ó de las *zolle* de Levi.

Que el cuerpo accesorio no corresponde á los nucleolos supernumerarios, basta á persuadirlo, aparte la diversa estructura y tamaño, la existencia constante del mencionado cuerpo, tanto en las células piramidales del hombre (fig. 2, B, D), donde no existen nucleolos supernumerarios, como en las del cobaya y conejo, donde estos últimos se presentan con relativa frecuencia.

Tampoco es posible confundir el cuerpo accesorio con las granulaciones neutrófilas del karioplasma, teniendo en cuenta que éstas son más finas, yacen en todo el jugo nuclear y no toman la plata coloidal, precisamente cuando se emplean fijadores que permiten la impregnación intensa del cuerpo accesorio (fig. 7), mientras que éste es relativamente grueso (véase fig. 4, B), posee situación casi fija y es constantemente solitario (hombre).

En fin, el dictamen ya citado de Lache pierde enteramente su valor, recordando que la plata coloidal carece de afinidad, según dejamos apuntado, por las *zolle* basiófilas de Levi. La figura 5, *b*, que reproduce núcleos de pirámides humanas previamente impregnadas por el nitrato de plata reducido y en los cuales se hicieron aparecer, merced al azul polierómico de Unna, los grumos basiófilos es, bajo este aspecto, muy instructiva. Pero aún más decisivo es el efecto obtenido, tratando por las anilinas básicas núcleos que mostraron bien teñidos los cuerpos accesorios. Como mostramos en la figura 8, *b*, el núcleo B (preparado neurofibrillar) exhibe un cuerpo accesorio teñido en café y un nucleolo inco-



loro sin señal de grumos basiófilos; mientras que en B el mismo núcleo tratado por el azul policrómico de Unna, revela en torno del nucleolo, ahora bien teñido, dos grumos perinucleolares perfectamente normales de matiz azulado-violeta (*b*). En estos preparados el cuerpo accesorio no varía apenas de color, señal de que atrae poco las anilinas. También en preparados neurofibrilares del perro pueden mostrarse á un tiempo el cuerpo accesorio y los grumos de Levi (fig. 6, B).

La diferenciación y demostración del cuerpo accesorio no siempre son tarea cómoda en las preparaciones del nitrato de plata reducido, sobre todo trabajando en pequeños mamíferos (gato, conejo, cobaya, etc.), donde existen nucleolos supernumerarios, y cuando se aplican exclusivamente al efecto, según parecen haber hecho los autores, las *fórmulas I* y la *III* al alcohol amoniacal.

Son, pues, bien excusables las equivocaciones cometidas sobre este particular. Penetrados de esta dificultad, hemos procurado en estos últimos años ensayar reiteradamente, desde el punto de vista de la impregnación del cuerpo accesorio, diversas fórmulas de fijación, y hemos llegado á los resultados siguientes:

En general, la *fórmula I* y la *III* (fijación en alcohol amoniacal) no tiñen el cuerpo accesorio con suficiente constancia. A menudo, revelan exclusivamente el nucleolo y alguna granulación neutrófila intranuclear. Es mucho más constante y apropiada la fijación en alcohol de 96° (*fórmula II*), ya puro, ya asociado á un acelerador (veronal, cloral, etc.). Pero el inconveniente de presentarse á menudo con tales fórmulas simultáneamente y con equivalente tonalidad los gránulos del karioplasma y el cuerpo accesorio, crea dificultades á la diferenciación de ambas categorías de corpúsculos.

En general, los mejores resultados se consiguen con el empleo de fijadores alcalinos, que alteran la substancia nucleolar, impidiendo su impregnación, pero dejando en pie la afinidad hacia la plata coloidal del cuerpo accesorio, mucho más resistente á las substancias básicas. Tales son: el fijador alcohol-nicotina (alcohol 30, nicotina 2), la *fórmula IV* (fijación en formol y después alcohol amoniacal) y, en fin, la fijación en

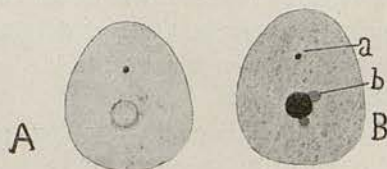


Fig. 8. — Núcleos de pirámide cerebral grande. Mujer muerta de accidente. Fijación en formol al 10 por 100, después alcohol amoniacal, y, por último, impregnación argéntica. — A, núcleo cuyo nucleolo apenas se percibe, presentando en cambio un cuerpo accesorio coloreado en café obscuro; B, núcleo análogo, al cual, merced á la coloración subsiguiente con el azul policrómico de Unna, se hicieron aparecer teñidos en azul los grumos basiófilos (*b*); *a*, cuerpo accesorio.



piridina al 50 por 100, sin ulterior tratamiento por el alcohol (fórmula de Held). La fijación en acetal proporciona también imágenes demostrativas.

Con estas fórmulas es frecuente obtener, por lo menos en una extensión suficiente de las piezas, imágenes en que todos los factores nucleares carecen de color, exceptuando el cuerpo accesorio, que aparece pardo, negro ó rojo claro. Y cuando tan rigurosa diferenciación no se logra, sorprendense siempre neuronas en donde el nucleolo y el cuerpo accesorio ostentan matices diferentes. A menudo el cuerpo accesorio se presenta negro ó pardo obscuro, mientras que las granulaciones del nucleolo se muestran amarillentas ó rojizas. Y en todo caso, faltan por completo las esférulas neutrófilas del karioplasma, quedando de este modo eliminada la principal causa de confusión ofrecida por las preparaciones fijadas en alcohol ó en líquidos neutros.

Tales son los fijadores de que nos hemos servido en el análisis del cuerpo accesorio de las pirámides humanas. Ellos han hecho fácil la tarea de su individualización é imposible su confusión con ninguno de los demás factores constitutivos del núcleo. Por lo demás, estas observaciones confirman esencialmente la descripción general dada por nosotros hace varios años.

En la fig. 2, B y figs. 7 y 8, *a*, presentamos algunos de estos cuerpos tal y como aparecen en diversas células corticales humanas. Notemos desde luego, según dejamos apuntado, el carácter solitario de este cuerpo y su constancia absoluta. Se le encuentra tanto en las pirámides grandes como en las pequeñas, lo mismo en las neuronas de axon largo que en las de axon corto. No falta en los corpúsculos especiales de la capa plexiforme.

Su talla en las pirámides grandes oscila entre 0'4 y 0'6  $\mu$ . En las pequeñas no pasa de 0'2  $\mu$ . En general, su volumen guarda relación con la dimensión del nucleolo, aunque esta relación no es rigurosamente proporcional. En todo caso, su talla es mayor que los granos nucleolares. La posición del cuerpo accesorio, sin ser constante, es bastante fija. En la mayoría de las células yace en el eje mismo de la pirámide, ya encima, ya debajo del nucleolo, pero bastante apartado, situándose á menudo en el punto intermedio entre éste y la membrana nuclear. Después de la orientación axial viene en orden de frecuencia la oblicua con relación al eje. En fin, menos veces adopta una posición perpendicular á éste.

Carece de estructura aparente el cuerpo accesorio; aun en los más gruesos es imposible sorprender conglomerados que, por otra parte, de ser reales, escaparían casi por su pequeñez al poder resolutivo del microscopio. La forma es rigurosamente esférica y de contorno limpio.



En casos raros, empero, cabe sorprender un principio de alargamiento, como si de su contorno brotara un apéndice, rápidamente desvanecido, en el karioplasma. Ignoramos si estos cuerpos accesorios con apéndice son efecto de un principio de alteración.

Dejamos consignado que el cuerpo accesorio es único en el hombre, y esto aun en las más diminutas neuronas de la corteza cerebral (fig. 2). Lo mismo ocurre en las pirámides cerebrales del perro, del gato y del conejo. En este último animal, sin embargo, las pequeñas pirámides y corpúsculos polimorfos nos ha parecido que á veces contienen dos y hasta tres cuerpos accesorios (fig. 13, E, F, J). Este punto exige, empero, nuevas observaciones.

La edad no modifica sensiblemente el aspecto de los citados órganos nucleares. Con iguales caracteres se nos ha mostrado en el cerebro de un niño de diez años que en el de una vieja de setenta y cinco. En los ancianos parece dicho cuerpo, en ocasiones, algo mayor que en los adultos; esto, empero, podría ser pura ilusión resultante del empequeñecimiento del nucleolo senil, cuyos gránulos, que forman término natural de comparación, experimentan con la decrepitud un proceso de atrofia.

GRANOS NEUTRÓFILOS DEL KARIOPLASMA.—Así designamos ciertas esférulas sumamente numerosas, de tamaño minúsculo, menor que el del cuerpo accesorio, esparcidas irregularmente por el jugo nuclear y coloreables moderadamente por las anilinas ácidas y básicas é intensamente por la plata coloidal. Teniendo en cuenta que tales granos atraen los colores ácidos de las mezclas de Biondi y de los métodos de Held y Lenhossek, ciertos autores las designan *esferas acidófilas* del karioplasma; pero tal designación nos parece impropia por cuanto, según puede notarse en cualquiera preparación enérgicamente teñida por el azul policrómico de Unna, la tionina, el azul de toluidina ó la hematoxilina ferruginosa, dichos granitos poseen también afinidad, y bastante enérgica, por los colores básicos (figs. 9 y 10).

Tales granitos han sido vistos y dibujados por casi todos los autores que se han servido de los métodos comunes, tales como Held, Levi, Holmgren, Marinesco, Perrin de la Touche y M. Dide, Lache, y sobre todo Collin, que los ha estudiado con escrupulosa atención. Cuanto á su disposición, abundancia y demás caracteres, el dictamen de los autores coincide en sus líneas generales.

Held (5), que los ha representado bien, los dibujó en series radiadas más ó menos convergentes al nucleolo, como incorporadas á la red llamada de linina.

Holmgren (26) los ha estudiado de preferencia en los vertebrados inferiores, y en especial en las neuronas del *Palæmon squilla*, del *Lophius* y



del gran simpático del caballo. Para demostrar tales granitos se ha servido de la hematoxilina ferruginosa y de la mezcla de azul de toluidina y eritrosina, presentándolos como esférulas regulares, homogéneas, abundantes, ora empotradas en la red de linina, ora diseminadas por las mallas de ésta.

Nuestras observaciones probaron que, por lo menos en parte, tales gránulos atraen esporádicamente é intensamente la plata coloidal, mostrán-

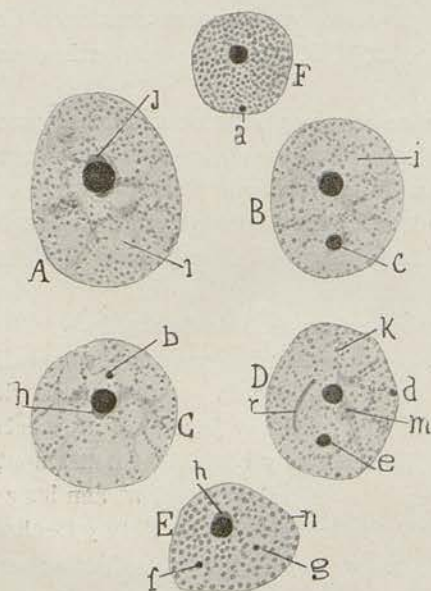


Fig. 9. — Núcleos de pirámides de la corteza insular del niño de un mes (coloración en tiónina). — A, B, C, núcleos de pirámides donde pueden verse los grumos basiófilos perinucleares (*j*, *h*), un gránulo acaso idéntico al cuerpo accesorio (*b*) y una esférula marginal enigmática (*a*, *d*); F, E, núcleos de pequeñas pirámides ricos en gránulos neutrófilos; I, masas hialinas; *r*, bastoncito de Roncoroni; *l*, nucleolos supernumerarios; *f*, *g*, *i* cuerpos accesorios?; *n*, granos neutrófilos.

dose de color negro y esparcidas irregularmente por el jugo nuclear (fig. 13, C). Pero observaciones más recientes nos han persuadido, según veremos luego, que estas esferas neutrófilas son mucho más abundantes de lo que creímos en un principio.

En efecto, aplicando fijadores ácidos, la plata coloidal las impregna en su totalidad, presentándolas tan numerosas ó acaso más que en los preparados teñidos con las anilinas (fig. 11, B).

Después de nosotros, han dado de ellas excelente descripción Perrin de la Touche y Dide. Estos autores las observan ya libres, ya englobadas en la red de linina, y hacen notar su carácter neutrófilo, puesto que se colorean, tanto por las sustancias ácidas (fuchsina ácida, eosina, etc.), como por los reactivos básicos de la cromatina, por ejemplo: el *hémalaun*, que les presta tono violado claro. Las han encontrado también en las pirámides cerebrales del cobaya, en donde á veces se apiñan en tal cantidad que, por su proximidad y la dificultad de resolución consiguiente, dan la impresión de un teñido uniforme.

También Lache (25) las ha visto valiéndose del método del nitrato de plata reducido, considerándolas no como un factor constructivo propio



del jugo nuclear, sino como granitos de nucleína desprendidos del nucleolo. Las descripciones y dibujos de Marinesco (20) prueban que ha notado asimismo los citados gránulos en las preparaciones neurofibrilares, inclinándose á estimarlos como emisiones nucleolares (véase la fig. 25 del trabajo de este sabio).

En fin, recientemente Collin (29) dedica á estos granos un análisis penetrante, estudiándolos, sobre todo desde el punto de vista de sus variaciones, en relación con los estados funcionales de las neuronas. Los reactivos colorantes usados por este autor han sido la hematoxilina ferruginosa, que les presta un tono gris, y la eosina, que los tiñe en rojo. De ahí el nombre de *granulaciones eosinófilas* con que los designa. Preséntalos bajo la forma de granos finos, abundantes, esféricos, ya libres, ya empotrados en el armazón de linina. Pero el hecho más importante señalado por Collin, consiste en el aspecto diverso que ofrecerían tales granitos en los dos tipos nerviosos, obscuro y claro de Flesch. Las *células sombrías ó retraídas* del cerebro, cuyo protoplasma se colorea intensamente por la eosina, exhibirían también núcleos oscuros provistos de cantidad considerable de granitos eosinófilos, tanta, que ofuscarían por completo la red de linina. Al contrario, las *células claras* de Flesch albergan también núcleo claro, generalmente más voluminoso, en cuyo karioplasma aparecen muy pocas granulaciones eosinófilas insertas en las trabéculas de la red, que puede perfectamente percibirse por destacar sobre cantidad considerable de jugo nuclear transparente.

Nuestras recientes observaciones sobre las pirámides del cerebro humano, comprueban las opiniones de los citados autores. En efecto, tanto las anilinas ácidas como la hematoxilina y las anilinas básicas, ponen de manifiesto en el karioplasma multitud de granitos esféricos ó esferoidales y moderadamente teñidos. Muchos de ellos se agrupan concéntricamente debajo de la membrana nuclear; otros siguen la dirección de los trabéculos de linina, á los cuales parecen adheridos muchos; en fin, muchos parecen flotar libres en el jugo celular. En la fig. 10 mostramos el aspecto y distribución más frecuentes ofrecidos por tales gránulos en las preparaciones de hombre adulto (azul policrómico de Unna). Repárese que el caudal de gránulos es muy variable, abundando relativamente más en los núcleos pequeños (fig. 10, D, E, F) que en los grandes. De vez en cuando, percíbense también núcleos grandes retraídos (fig. 10, B), pertenecientes á pirámides oscuras (tipo cromófilo de Flesch), donde los gránulos son tan abundantes que parecen tocarse. Confírmase, pues, la afirmación de Collin, quien, según dejamos dicho, asocia el estado hipergranuloso al tipo celular obscuro ó retraído y el estado hipogranuloso al claro. Queda, sin embargo, la duda de si esta superabundancia será



mera apariencia debida á la retracción del karioplasma y consiguiente disminución de la capacidad nuclear. Por lo demás, también en los núcleos de la corteza cerebral del niño de un mes se presentan bien diseñados los gránulos (coloración intensa por la tionina), reconociéndose asimismo que los núcleos diminutos contienen relativamente más caudal que los grandes (fig. 9, F. E). Un detalle, no exento de interés, revelan tales figuras: en los tipos hipogranulosos adviértese que las esférulas

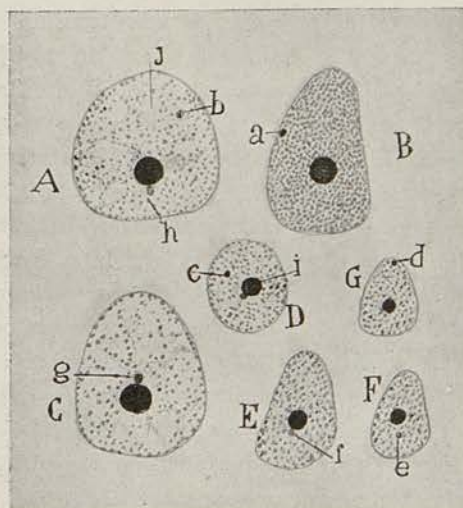


Fig. 10. — Núcleos de células piramidales adultas del hombre. Licor polierómico de Unna. — A, C, núcleos de pirámides gigantes claras; B, núcleo retraído de pirámide grande; E, F, núcleo de pirámides pequeñas y medianas; a, cuerpo periférico enigmático; c, d, e, grumos basófilos desprendidos; f, pequeño grumo perinucleolar.

del karioplasma reservan ciertos espacios más ó menos redondeados (fig. 9, i y fig. 10, J), que, como más adelante veremos, coinciden en figura y posición con ciertas masas hialinas incoloreables ó apenas tingibles por las anilinas.

En las preparaciones del nitrato de plata reducido (fijación en alcohol puro ó con acelerador), las citadas granulaciones adquieren tono pardo ó negro, presentándose homogéneas, limpias de contorno y rigurosamente esféricas.

Sin embargo, la plata coloidal, usada después de un fijador neutro ó alcalino, sólo colorea un número

limitado de esférulas neutrófilas. Por excepción, en el conejo y gato hemos sorprendido núcleos tan ricos en granitos como los coloreados por las anilinas básicas. Mas si la fijación se efectúa con líquidos ácidos, por ejemplo, con el formol acético (*fórmula X*), tales gránulos aparecen en gran número, particularmente en el conejo, cobaya, gato y perro. En el hombre estos fijadores ácidos no dan tan buenos resultados.

Cuando, según mostramos en la fig. 11, B, el teñido es completo, todo el interior del karioplasma aparece lleno de esférulas pequeñísimas, de tono rojo ó pardo, diseminadas con irregularidad y particularmente concentradas, según revelan ya los preparados de las anilinas, debajo de la membrana nuclear. En tales núcleos, ricos de gránulos, obsérvese bien



el detalle á que antes hicimos alusión, á saber: que las esférulas dejan libres ciertos espacios y líneas que destacan por claro sobre el fondo general (fig. 11, B, *a*). Esto denota que los grumos hialinos y los filamentos de linina carecen de esférulas neutrófilas.

Consideramos, pues, muy probable que aquellos gránulos que en los cortes teñidos con las anilinas aparecen en el espesor de los trabéculas, hayan sido conglutinados sobre éstos por efecto de los agentes coagulantes (fig. 10, C y fig. 9, C).

Existe una cierta oposición de afinidades por la plata coloidal entre los granitos neutrófilos y los del nucleolo. Cuando éste se presenta incoloro ó poco coloreado, las citadas granulaciones abundan y al revés. Igual contraste existe entre ellas y el cuerpo accesorio. En los cortes en que éste aparece bien impregnado, es raro sorprender esferas neutrófilas. Hay, sin embargo, excepciones.

Posible es que no todos los gránulos neutrófilos posean exactamente la misma composición química. Ya en los preparados coloreados por las anilinas básicas y ácidas se advierten á veces esférulas teñidas algo más intensamente que las compañeras. Esto explicaría por qué, aun usando fijadores neutros ó ácidos, las preparaciones neurofibrillares revelan de vez en cuando ciertas esférulas karioplásmicas perfectamente impregnadas.

Tampoco el diámetro de las mismas es perfectamente igual, particularidad que se revela, tanto en los preparados argénticos como en los ordinarios; si bien, en general, su dimensión es siempre mucho menor que la del cuerpo accesorio, los nucleolos supernumerarios y las esférulas argéntófilas del nucleolo. Aproximadamente puede darse como diámetro el de 0'15 á 0'18  $\mu$ .

**GRUMOS HIALINOS DEL KARIOPLASMA.**—Cuando un corte de la corteza cerebral se colora intensamente por una anilina ácida, aparecen acá y allá, dentro del karioplasma, unas masas pálidas, irregulares, groseramente triangulares, cuadriláteras ó poligonales y de aspecto homogéneo. Estas masas se colorean poco ó nada por las anilinas básicas, destacando por claro, según dejamos dicho en los cortes, donde se presentan teñidos los gránulos neutrófilos (fig. 11, B, *a*). En el perro, gato y conejo, donde especialmente las hemos estudiado, su número es variable (pasando casi siempre de seis ó siete); su forma aparece á menudo groseramente redondeada, á veces esquinada; su diámetro, muy desigual, oscila entre 0'8  $\mu$  y 1'5  $\mu$ . Tales masas son más robustas en las gruesas neuronas, singularmente en las motrices de la médula espinal (perro, gato), donde miden con frecuencia 3 á 2  $\mu$ . En la corteza cerebral humana las masas hialinas afectan menos dimensión, y su número varía entre 6 y 10 (fig. 7, *c*).



No hubiéramos consagrado atención especial á estos grumos hialinos, que han sido ya vistos por los autores, aunque sin concederles atención, si de vez en cuando, sobre todo usando determinadas fórmulas de fijación, no se presentaran aisladamente impregnados en los preparados del nitrato de plata reducido con un matiz rojo anaranjado ó amarillento. En realidad, esta impregnación se da ya esporádicamente usando fijadores que, cual el hidrato de cloral y la piridina (fórmulas VI y V respectivamente), favorecen la impregnación neurofibrillar. Pero tal efecto resulta más constante con aquellos fijadores que no colorean las neurofibrillas ni el nucleolo, por ejemplo, el formol asociado á las combinaciones de la carbamida (fórmula IX y similares). En fin, la fórmula á la piri-

dina, sin fijación subsiguiente en alcohol (fórmula de Held), suele proporcionar, en las regiones pálidas ó profundas de las piezas á que el nitrato de plata ha llegado tardíamente, imágenes nucleares donde los grumos hialinos presentan matiz rojizo.

Varias particularidades son de notar en los preparados argénticos, reveladores de estos organitos. Llama desde luego la atención la casi perfecta hialinidad de los mismos, cualquiera que sea su dimensión y el fijador empleado; en presencia de la plata coloidal no adquieren nunca esos tonos negros ó café de las esférulas del nu-

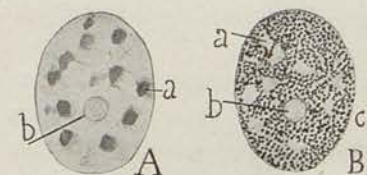


Fig. 11.—Núcleos de pirámides grandes del conejo. — A, impregnación de los grumos hialinos (fijación en formol-carbámid y después nitrato de plata reducido); B, núcleo impregnado en nitrato de plata tras la acción del formol acético; a, grumo hialino; b, nucleolo pálido; c, granos neutrófilos; a, huecos reservados por los gránulos y correspondientes verosímilmente á los grumos hialinos.

cleolo, sino matices rojo, rosáceo, anaranjado ó amarillento; reparemos, en fin, cierta oposición de propiedades entre los grumos, de una parte, y el nucleolo, cuerpo accesorio y granos karioplasmáticos de otra, ya que casi siempre la impregnación de aquéllos se asocia á la palidez ó incolorabilidad de los demás factores constitutivos del núcleo.

No nos pronunciaremos aquí sobre la significación de estos grumos hialinos. Su preexistencia nos parece dudosa, puesto que pudieran resultar de la coagulación *post mortem* de algún principio protéico. Nuestro objeto, por ahora, no es sino diferenciar dichas masas del resto de los componentes nucleares, llamando la atención sobre la especificidad de sus propiedades químicas y tintoriales.

**Armazón de linina.** — Nada nuevo podemos aportar al conocimiento de la red de linina de la célula nerviosa cerebral. En nuestros preparados de los métodos comunes preséntanse, como la mayoría de los autores



(Held, Lenhossék, Holmgren, Marinesco, v. Gehuchten, Perrin de la Touche, Collin, etc.) la han reproducido. Según mostramos en las figuras 9, A, D y 10, C, las trabéculas de la red de linina se muestran pálidas, anastomosadas en gran parte, divergentes y limitando espacios claros pobres en gránulos. En su mayoría, estos hilos parten de ciertos puntos nodales ó conglomerados finamente granulosos, situados en las inmediaciones del nucleolo y bien conocidos de los autores.

Tales conglomerados, que poseen iguales propiedades que las trabéculas de la red, nos parecen cosa distinta de los grumos hialinos. Nos fundamos para ello en que éstos son más numerosos, redondeados y homogéneos que los nodos de la red y en que, al revés de éstos, no se tiñen por las anilinas básicas. Si los filamentos de linina, además de sus relaciones con los grumos ó nodos granulosos, se insertan también en los grumos hialinos, es cosa que no podemos todavía puntualizar. Tocante á la presentación en el vivo de los filamentos de linina y espesamientos nodales, hacemos las mismas reservas que con relación á los grumos hialinos. No cabe en absoluto excluir las hipótesis de una coagulación de algún principio protéico del karioplasma que, al modo de la fibrinógena de la sangre, se deposita en fibras, redes y grumos sobre los sólidos componentes de la arquitectura nuclear.

El método del nitrato de plata reducido, ¿impregna la red de linina? Empleando las fórmulas corrientes de fijación no aparecen jamás los citados trabéculos; pero, usando como fijador el nitrato de plata diluido, muéstrase á menudo (conejo, gato, etc.) en los núcleos de las pirámides cerebrales una reticulación granulosa de color moreno, rojo ó café obscuro, completamente independiente del nucleolo, del cuerpo accesorio y, al parecer también, de los grumos hialinos.

Según mostramos en la fig. 12, A, B, este armazón es muy variado é irregular, advirtiéndose que los trabéculos parten de ciertos ensanchamientos nodales, trazan caprichosas revueltas dentro del karioplasma, se enlazan sobriamente entre sí y no parecen insertarse nunca ni en la membrana nuclear ni en el nucleolo. A menudo, se observan trabéculas que

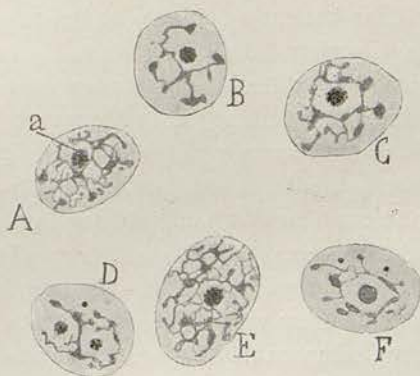


Fig. 12. — A, B, C, D, E, núcleos de pirámides cerebrales grandes y medianas del gato, impregnadas con nitrato de plata diluido; F, núcleo de una pirámide cerebral del conejo; a, nucleolo.



parecen terminar libremente mediante un espesamiento (fig. 12, B, C). Cuanto más grande es el núcleo, más complicado suele ser el armazón (fig. 12, E, A); hay, sin embargo, excepciones. Las redes sencillas constan de uno ó dos puntos nodales, de que parten en sentido divergente tres ó más radios flexuosos, poco ó nada anastomosados, acabados por una varicosidad. Al contrario, en los armazones complicados las mallas angostas abundan. En general, nos ha parecido que las referidas redes son, en igualdad de dimensión nuclear, más sencillas en el conejo que en el gato, según puede notarse, comparando el núcleo F (conejo) con el de volumen equivalente A (gato). Este punto exige, sin embargo, nuevas investigaciones.

Los armazones argénticos que acabamos de describir, fueron en un principio indentificados por nosotros con la bien conocida red de linina. No obstante, hoy comenzamos á desconfiar de esta identificación. Entre las imágenes que dan los autores y que corresponden á los efectos de las anilinas básicas ó ácidas y las figuras que presentamos (fig. 12, A, D), saltan á la vista las discrepancias. En las preparaciones ordinarias, la red consta de trabéculas radiadas que parecen enlazar el nucleolo y la membrana, sin terminar jamás libremente; en los preparados de la plata coloidal, membrana y nucleolo son extraños á los hilos, que se terminan á menudo mediante abultamientos redondeados. Tales discordancias, ¿podrían explicarse suponiendo que la plata coloidal impregna incompletamente el armazón de linina? O más bien, ¿estas diferencias deben estimarse suficientes para autorizarnos á considerar el citado armazón argéntico como esencialmente distinto de los filamentos de linina, algo, en fin, comparable al aparato reticular intraprotoplásmico de Golgi? He aquí cuestiones á que por ahora no sería prudente contestar.

**NUCLEOLOS SUPERNUMERARIOS.**—Así designamos los corpúsculos nucleolares, ordinariamente más pequeños que el principal, pero absolutamente coincidentes con éste en propiedades tintoriales y estructura. Al modo del ordinario, estos nucleolos constan, pues, de esférulas elementales y de materia intersticial. En torno de ellos, el verde de metileno hace aparecer también, conforme diversos autores han demostrado, costras basiófilas (fig. 9, e, c).

El nucleolo ó nucleolos supernumerarios faltan por completo en las células cerebrales del hombre adulto. Tampoco se les encuentra en las neuronas voluminosas del cerebro del gato y perro adultos. Sin embargo, en las pirámides pequeñas y células de axon corto de estos animales se sorprende, de vez en cuando, tal cual nucleolo supernumerario, bien reconocible por su composición granular. Pero donde en estado adulto abundan los nucleolos supernumerarios, es en las células piramidales del



conejo ó cobaya. En la fig. 13 mostramos algunos núcleos tomados de la corteza cerebral del conejo. En las pirámides grandes, la regla es la existencia de un sólo nucleolo (fig. 13, A); no son, sin embargo, raras las neuronas voluminosas provistas de dos (fig. 13, B), uno mayor que el compañero. En las pirámides medianas (C, D), lo común es hallar dos nucleolos pequeños. En fin, las pequeñas pirámides (G) y los granos ó diminutas células de axon corto encierran á menudo tres nucleolos, uno de ellos menor que los congéneres. Los finos granos negros que destacan en

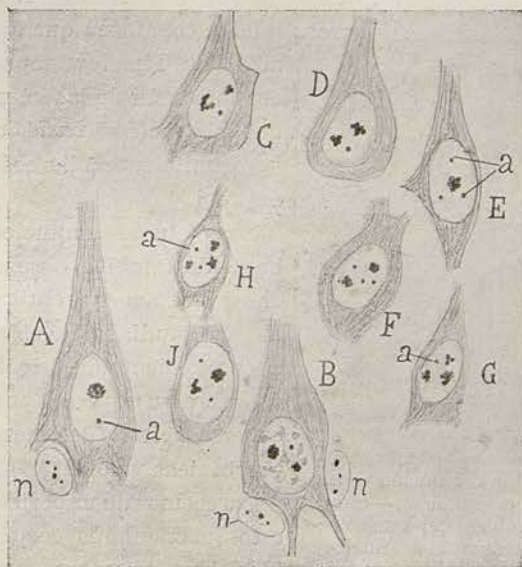


Fig. 13. — Diversas células de la corteza cerebral del conejo. Fijación en formol y consecutivamente en alcohol amoniacal. — A, B, grandes pirámides; C, D, pirámides medianas; G, pirámide pequeña; H, F, granos; J, E, células polimorfas; a, cuerpos accesorios; n, núcleo neuróglia. (En casi todas las células aparecen nucleolos supernumerarios).

el karioplasma, representan verosímilmente cuerpos accesorios (E, a). En cuanto á las células neuróglia, casi todas ellas exhiben dos ó tres pequeños nucleolos (fig. 13, n), representados por granos solitarios. Quizás el gránulo más fino, incluido en el núcleo neuróglia (fig. 13, n), sea un minúsculo cuerpo accesorio.

En los embriones y animales jóvenes (perro, conejo, gato, etc.) son todavía más abundantes los nucleolos supernumerarios. Hállanse éstos hasta en las pirámides medianas y grandes del niño recién nacido y de un mes, como mostramos en la fig. 9, c y e.

**Paranucleolos.** — Diversos autores han observado, en el óvulo de di-



versas especies animales y en diferentes células de tejido, ciertos corpúsculos de propiedades tintoriales especiales, que han recibido el nombre de *paranucleolos* ó *nucleolos accesorios*. Estos paranucleolos han sido sorprendidos también por Timofew (28) en las neuronas de las aves, habiendo llamado la atención sobre el contraste de propiedades que poseen con relación al nucleolo principal. Así, mientras éste atrae las anilinas básicas, el *paranucleolo* fija las ácidas, permaneciendo incoloro en presencia del carmín, hematoxilina y anilinas básicas. De ahí el nombre de *nucleolo acidófilo* con que lo designa Timofew. Athias (23), que ha estudiado los nucleolos de las neuronas del pato, afirma que el *nucleolo acidófilo* de Timofew representa el nucleolo común de las células, mientras que el *nucleolo basiófilo* corresponde verosíblemente á las costras basiófilas de Levi.

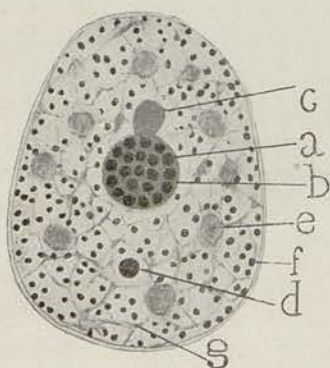


Fig. 14.—Esquema del núcleo de la pirámide cerebral humana. —a, esférulas argentófilas del nucleolo; b, materia fundamental del nucleolo; c, grumo basiófilo de Levi; d, cuerpo accesorio; e, grumo hialino; f, granos neutrófilos; g, filamento de linina.

Semejantes paranucleolos acidófilos han sido también observados por Lache en las aves y reptiles. Collin, que los ha estudiado en el cobaya, da de ellos excelente descripción, insistiendo sobre su especial comportamiento en presencia de las mezclas de anilinas básicas y ácidas.

Carecemos de experiencia acerca de estos particulares corpúsculos acidófilos. En el hombre no se presentan. Nuestro objeto, al mencionarlos aquí, es tan sólo llamar la atención sobre una causa de error que no nos parece

suficientemente advertida por los autores que se han ocupado del nucleolo. Si no se presta la atención debida, cabe confundir cosas tan desemejantes como los nucleolos supernumerarios, los paranucleolos y acaso también los grumos hialinos del jugo nuclear. Existen, pues, nucleolos supernumerarios ó accesorios verdaderos y nucleolos accesorios falsos, es decir, formados por un material diferente y cuya significación debe ser muy diversa.

*Bastoncito de Roncoroni.* — Nada nuevo podemos añadir á la descripción de estos filamentos intranucleares señalados por Roncoroni, Man, Lenhossék, Holmgren, Mend, y teñidos modernamente, con ayuda del método argéntico, por nosotros, Athias, Nageotte, etc. Sólo consignaremos aquí que lo hemos sorprendido alguna vez en la corteza humana colo-



reada por las anilinas básicas (fig. 9, r). En cambio, el nitrato de plata reducido, que tan perfectamente impregna dicho bastoncito en las pirámides cerebrales del conejo y gato, no parece colorearlo en el hombre.

Para terminar este estudio acerca del núcleo de la célula cerebral, reproducimos aquí un esquema, donde se contienen todos los factores constitutivos del órgano nuclear. Para formarlo se han combinado las enseñanzas de los métodos ordinarios con las del proceder del nitrato de plata reducido. Sólo hemos prescindido del armazón karioplasmático coloreable por la plata coloidal; la duda de si corresponde ó no al esqueleto de linina, nos ha movido á prescindir de él en esta imagen de conjunto. Esta representación se refiere, naturalmente, al núcleo de las pirámides cerebrales humanas. Por eso faltan, pues, en ella los nucleolos supernumerarios y los paranucleolos.

#### LISTA BIBLIOGRÁFICA

- (1) *Flemming*: Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig, 1882.
- (2) *Obersteiner*: Anleitung beim Studium der Baues der nervösen Centralorgane. Leipzig u. Wien, 1892.
- (3) *Lenhossék*: Der feinere Bau der Nervensystems 2<sup>a</sup>. Auf, 1895.
- (4) *Lenhossék*: Ueber der Bau der Spinalganglienzellen des Menschen. *Arch. f. Psychiatrie*. Bd. 29, H. II, 1897.
- (5) *Held*: Beiträge zur Structur der Nervenzellen und ihrer Fortsätze. III Abtheilung. *Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abhand.*, 1897.
- (6) *Rucicka*: Ein Beitrag zur Untersuchungenmethodik und zur Histologie der Nucleole des centralen Nervenzellen. *Zeitschrift. f. wissenschaft. Mikroskopie*, &. Bd. XIV. Jahrgang, 1897.
- (7) *Rucicka*: Zur Geschichte u. Kenntniss der feineren Structur der Nucleolen centralen Nervenzellen. *Anat. Anzeiger*. Bd. XVI, 1899.
- (8) *Golscheider u. Flatau*: Normale und pathologische Anatomie der Nervenzellen. Berlin, 1898.
- (9) *Bühler*: Untersuchungen über der Bau des Nervenzellen. *Verhandl. d. Phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg*. Bd. XXXI, 1898.
- (10) *Scott (J. H.)*: The structure micro-chemistry and development of nerve cells, &. *Transac. of the Canadian Institute*, vol. VI, 1898-1899.
- (11) *Ewing*: Studies on ganglion cells. *Arch. of Neurology and Psychopathology*, volumen I, 1898.
- (12) *G. Levi*: Su alcune particolarità di struttura del nucleo delle cellule nervose. *Riv. di Patol. nervosa e mentale*, vol. I, 1896.
- (13) *G. Levi*: Considerazioni sulla struttura del nucleo delle cellule nervose. *Rivista di Patol. nerv. e mentale*, vol. III, 1898.
- (14) *Simarro*: Nuevo método histológico de impregnación por las sales fotográficas de plata. *Revista Trimestral micrográfica*, tomo V, 1900.
- (15) *Cajal*: Un sencillo método de coloración del retículo protoplásmico, etc. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo II, 1903.
- (16) *Cajal*: Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados, t. I, 1899.



- (17) *Gehuchten*: Considérations sur la structure des cellules nerveuses et sur les connexions anatomiques des neurones. *Le Névrase*, tomo VI, 1904.
  - (18) *Michotte*: Histologie fine de la cellule nerveuse. *Le Névrase*, 1904.
  - (19) *Tello*: Las neurofibrillas de los vertebrados inferiores. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo III, 1904.
  - (20) *Marinesco*: Recherches sur le noyau et le nucleole de la cellule nerveuse, &. *Journ. f. Psych. u. Neurol.* Bd. V, 1905.
  - (21) *Marinesco*: Nouvelles recherches sur les lésions causées à la suite de l'arrachement des nerfs. *Soc. méd. hôp.*, 1898.
  - (22) *Perrin de la Touche* y *M. Dide*: Note sur la structure du noyau et la division amitotique des cellules nerveuses du cobaye adulte. *Revue neurologique*, 1901.
  - (23) *Athias*: Anatomia da cellula nervosa. Lisboa, 1905.
  - (24) *Lache*: Sur le nucleole de la cellule nerveuse. *Journal de neurologie*. Bruxelles, 1905.
  - (25) *Lache*: L'aspect du noyau de la cellule nerveuse dans la methode de l'argent reduit. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXVIII, núm. 7, u. 8, 1906.
  - (26) *Holmgren*: Studien in der feineren Anatomie der Nervenzellen. *Aus. Bonnet-Merkels Anat. Heften*. Bd. XV, 1900.
  - (27) *Havet*: Sur l'origine des nucleoles vrais ou plasmosomes des cellules nerveuses. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXIX, 1906.
  - (28) *Timofew*: Beobachtungen u. der Bau der Nervenzellen der Spinalganglion und der Sympaticus der Vögel. *Inter. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. XV, 1898.
  - (29) *Collin*: Les variations de structure à l'état normal du noyau de la cellule nerveuse somatochrome chez le cobaye. *Comp. rend. de l'Association des Anatomistes*. 10.<sup>a</sup> Reunión. Marseille, 1908.
  - (30) *Collin et M. Verain*: *Compt. rend. de la Société de Biologie. Riunion de Nancy*, 15 Junio 1909, tomo LXVII.
  - (31) *Cajal*: Las fórmulas del proceder del nitrato de plata reducido y sus efectos sobre los factores integrantes de las neuronas. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo VIII, 1910.
-



## ALGUNAS OBSERVACIONES FAVORABLES Á LA HIPÓTESIS NEUROTROPICA

POR

S. R. CAJAL

---

Las leyes fundamentales de la regeneración de los nervios y vías centrales son actualmente bien conocidas, gracias á la aplicación al tejido nervioso de métodos técnicos que tiñen selectivamente las fibras amielínicas ó retoños de los axones viejos, así como las expansiones neoformadas de las células.

El empleo del proceder del nitrato de plata reducido, iniciado por nosotros y aplicado después con gran fortuna por Perroncito, Lugaro, Marinisco y Minea, Nageotte, Tello, Deineka, O. Rossi, H. Rossi, Guido Sala, Schwarz, etc.; los resultados obtenidos por Purpura mediante el método de Golgi; las revelaciones del método de Ehrlich empleado por Krassin, y, en fin, hasta el ácido ósmico y otros procederes comunes de coloración poco selectiva de que se ha servido Harrison han aportado la plena demostración de que la regeneración tiene lugar por vegetación ó neoformación del cabo central de todo axon mutilado ó necrosado, y que la innervación del cabo periférico constituye un proceso de invasión rápida de los viejos conductos de Schwann por los botones finales de los axones nuevos llegados de la cicatriz. Tello ha puesto además de manifiesto que los axones motores y sensitivos, después de recorrer los viejos estuches de los nervieitos musculares, abordan los antiguos aparatos terminales (placas motrices y husos de Kühne), restaurando también, por vía de ramificación, la destruida arborización terminal.

Por lo que toca á la regeneración de las neuronas y vías centrales, las referidas investigaciones y singularmente las de Lugaro, Nageotte, Marinisco y Minea, Tello, H. Rossi y O. Rossi, G. Sala, Dustin, etc., han aportado la prueba de que tanto las neuronas sensitivas como los axones del nervio óptico y sustancia blanca de la médula, cerebro y cerebelo, gozan de la propiedad de crear retoños ó ramas nuevas, y han demostrado al mismo tiempo, de acuerdo con el dictamen de los anatomopatólogos antiguos, el carácter incompleto y provisorio de semejante regeneración.

Pero si los actos esenciales de los procesos degenerativo y regenerativo



se hallan actualmente bastante bien esclarecidos, en cambio, las causas y condiciones de tan importantes fenómenos se nos escapan en gran parte. En presencia del acto divisorio del axon, del botón de crecimiento caminante hacia el aparato terminal, de la neoformación de las placas motrices, del proceso creador de nuevas expansiones en las neuronas sensitivas estimuladas por causas patológicas ó consecutivamente á experimentos de transplatación (Nageotte, Marinesco, etc.), el histólogo se halla casi en el mismo estado de espíritu del explorador que descubriera caudaloso río y no pudiera señalar la cordillera y heleras de donde toma su origen. Sorprendemos fenómenos de movimiento y orientación, pero somos incapaces de señalar las fuerzas que los impulsan y las leyes porque se rigen.

Ciertamente, en la meritoria empresa de subordinar el crecimiento, división y orientación de los nuevos axones á condiciones químico-mecánicas, no han faltado esfuerzos plausibles.

Prescindiendo de nosotros (1), que ya en 1892 formulamos, un poco á la ventura, la hipótesis del quimiotactismo para explicar, en principio, la progresión y orientación de los axones durante la evolución ontogénica (hipótesis que aplicamos también últimamente á los nervios en vías de regeneración) (2), es preciso, sobre todo, citar á Forssmann (3), primer autor que llevó la cuestión al terreno experimental y que trató de probar que los residuos del nervio viejo degenerado, como cualquier deshecho de tejido nervioso, atraen, por acción química neurotrópica, los axones neoformados.

En tiempos posteriores, Lugaro (4), partidario con nosotros, Tello, (5) Nageotte, Marinesco y Minea, etc., de la doctrina neurotrópica, ha efectuado también interesantes experimentos de ingertación de nervios, cuyos resultados, si hablan en favor de la existencia de tales influjos, ponen de manifiesto la extrema complejidad del problema y la dificultad de resolverlo definitivamente por la vía experimental á causa de numerosas condiciones perturbadoras. Sin abordar directamente la cuestión, Nageotte (6) y Marinesco (7) han aportado asimismo, en sus importantes experimentos de transplatación ganglionar, hechos precisos de orientación constante de ramas nerviosas y de apéndices celulares en torno de neuronas sensitivas ó de conglomerados de corpúsculos satélites, que sólo son comprensibles invocando la teoría neurotrópica. Por nuestra parte, y en diferentes trabajos relativos á la neurogenesis normal y patológica (2 y 8), hemos señalado diversos fenómenos de ramificación y orientación de los axones neoformados, así como numerosos hechos de extravío inicial de axones y neuroblastos seguido de brusco recobro de la ruta perdida (como si súbitamente los botones de crecimiento se hubieran impresionado por la llegada



de algún estímulo químico), hechos que implican como postulado casi necesario la hipótesis neurotrópica.

En fin, Dustin (9), que ha examinado hace poco escrupulosamente el problema del neurotropismo, repitiendo los experimentos de Forssmann y Lugaro, é instituyendo otros muy ingeniosos, llega á la conclusión de que, si los estímulos neurotrópicos son reales, carecen de suficiente eficacia para esclarecer el mecanismo de la génesis, crecimiento y orientación de las fibras neoformadas, las cuales, en opinión de este sabio, seguirían tanto en el tejido conectivo cicatricial, como en el espesor del cabo periférico, vías intercelulares preestablecidas. A esta propiedad del corpúsculo conectivo embrionario de reservar espacios orientadores y caminos fáciles entre ambos cabos, central y periférico, designa Dustin *odogenesis*. A su juicio, el proceso de la orientación sería en gran parte, si no exclusivamente, de carácter mecánico, mero resultado (como suponía hace años Vanlair), de la marcha del axon en el sentido de la menor resistencia, impulsado ciegamente por *la turgescencia* incesante, es decir, por el continuo acrecentamiento de la materia asimilada en las fibras neoformadas.

No vamos á entrar aquí en el fondo de la cuestión, ni á discutir menudamente el por qué de los resultados, en parte negativos, obtenidos por Dustin. En ulteriores trabajos pensamos repetir estos experimentos y efectuar otros, reproduciendo en todo lo posible las condiciones en que obra la naturaleza; porque entendemos que si no se imitan estrictamente estas condiciones, si no se da á las fibras neoformadas todas las facilidades posibles para que sean exclusivamente impresionados por la fuente neurotrópica experimental, evitándose al efecto la acción perturbadora de otras fuentes quimiotácticas, así como el obstáculo de la barrera neurilemática y demás pantallas indiferentes, los resultados obtenidos serán negativos ó poco terminantes.

Nuestro propósito, por ahora, se contrae á consignar algunas observaciones experimentales favorables, en general, á la hipótesis de los estímulos neurotrópicos, estímulos que tendrían su fuente bien en el tejido conectivo embrionario, bien en las bandas de Büngner, ora en las neuronas sensitivas, etc.; añadiendo algunos hechos conducentes á justipreciar el papel que los obstáculos mecánicos y las barreras fibrosas desempeñan en la ramificación de las fibras jóvenes y en su marcha según derroteros no siempre congruentes. A la descripción de estos hechos, principalmente basados en experimentos de regeneración de ganglios, médula espinal y raíces nerviosas recaídos en animales jóvenes (perro, gato, conejo), seguirá un resumen de los datos más esenciales hoy poseídos tocante á la génesis, mecanismo divisorio, marcha y orientación de los retoños ner-



viosos, con algunas consideraciones críticas sobre las opiniones que sobre tales asuntos profesan algunos neurólogos.

I. ACCIÓN QUIMIOTRÓPICA EJERCIDA POR EL TEJIDO CONECTIVO EMBRIONARIO. — Ya hace años habíamos observado con ocasión del examen de cortes de la región mediante entre el cabo periférico y el central del nervio ciático seccionado (sección seguida de resección), que la inmensa mayoría de las fibras neoformadas sigue fielmente las tiras ó masas de tejido conectivo neoformado, evitando el tejido conectivo adulto, y en parte también el adiposo y el muscular, aunque por azares de la dislocación de los cabos nerviosos sea el espesor de éstos el más corto camino para alcanzar las bandas de Büngner. Ciertamente, ni el tejido muscular ni el adiposo dejan de ser invadidos cuando se interponen en el eje de la cicatriz, y sobre las curiosas disposiciones de los axones extraviados en el espesor de los músculos hemos publicado ya algunas observaciones (2) que completaremos luego con la descripción de las imágenes que nos ofrece el tejido adiposo eventualmente abordado por haces neoformados; pero si comparamos estos tejidos accidentalmente invadidos por los retoños nerviosos, con la trama conectiva embrionaria de la cicatriz, fácilmente reconoceremos que el número de fibras aferentes ramificadas en ésta siempre es mayor que en aquéllos, á menos que, según sucede con frecuencia, los intersticios mismos de músculos y lobulillos adiposos ofrezcan conglomerados de elementos conectivos de reciente producción.

Estas observaciones tienen, sin embargo, muy limitado valor en pro de la hipótesis neurotrópica, y ni siquiera las hemos mencionado en anteriores estudios. En efecto; en todas ellas tratábase de experimentos de sección nerviosa, y, naturalmente, los axones neoformados del cabo central desembocan forzosamente en la cicatriz que representa, de ordinario, no sólo el camino más corto, sino también el más libre de obstáculos ofrecido á los botones de crecimiento.

Pero la cicatriz no junta solamente los dos cabos nerviosos; extiéndose hacia la piel siguiendo el curso de la herida, y en ocasiones irradia entre los músculos, según los azares de la propagación del proceso flogístico.

Tenía, pues, algún interés el examen del trozo de cicatriz mediante entre el nervio y la piel. Esta exploración dió resultados positivos. El examen de preparaciones del nitrato de plata reveló que este territorio cicatricial es paraje preferente de haces nerviosos neoformados y de fibras extraviadas, aunque el caudal de éstas y su longitud sean inferiores al de las residentes en la cicatriz internerviosa.

En el curso de nuestros estudios sobre la regeneración de la médula espinal se nos presentó un hecho análogo. Cuando contemporáneamente



con la lesión medular se interrumpen las raíces motrices ó sensitivas, no sólo la cicatriz extramedular, sino hasta la intermedular aparece literalmente llena de haces y axones sueltos emanados de las raíces seccionadas ó meramente irritadas y en fase de deshilachamiento y neoformación. Semejante hecho ha sido observado también por diversos autores, señaladamente por Lugaro, O. Rossi, Marinesco, Dustin, etc.

Estas últimas observaciones de invasión del tejido conectivo embrionario por fibras sensitivas ó motrices, con ser bastante significativas, no resultan decisivas en favor de la acción neurotrópica de la célula conectiva joven. Pero he aquí otra que ha vencido completamente nuestra repugnancia hacia la mencionada influencia.

Durante nuestros experimentos, aún no publicados, de transplatación de cabos periféricos en plena maduración regenerativa, nos hemos convencido de que, entre los obstáculos más grandes con que lucha el estímulo neurotrópico derramado por las bandas de Büngner, se cuenta el neurilema y la vaina laminosa del nervio y paquetes nerviosos respectivamente. Aparte su indiscutible acción mecánica, tales membranas obran quizás á modo de filtros ó pantallas retentoras de las substancias neurotrópicas. En menor medida representan también obstáculo neurotrópico la mielina y membrana de Schwann, por lo cual la previa desorganización de la mielina resulta condición favorable á la creación de ese eretismo formativo que precede á la proyección de retoños nerviosos. Aunque no son los únicos, tenemos por probable que semejantes obstáculos han contribuido á dejar sin efecto en los experimentos de Lugaro y Dustin la producción de retoños en el nervio sano y la inervación del segmento nervioso transplantado (9). Ellos explican también los resultados negativos obtenidos por Marinesco (10), quien en experimentos de homotransplatación bajo la piel ó sobre cordones nerviosos sanos de pedazos de nervio, no vió jamás penetrar en éstos ninguna fibra neoformada.

Mas tales inconvenientes pueden obviarse, en parte, escogiendo para tales experimentos nervios desprovistos de neurilema y cubiertos solamente de blanda membrana endotelial. Tal ocurre con el trayecto subdural de las raíces nerviosas. Tomando como objeto de estudio la médula lumbo-sacra y la cola de caballo, disponemos de largos segmentos nerviosos aneurilemáticos bañados en el líquido cefalo-raquídeo y sobre los cuales pueden fácilmente depositarse trozos nerviosos de cabo periférico en fase de bandas de Büngner. La sensibilidad neurotrópica se acentúa todavía sirviéndonos de animales recién nacidos ó de pocos días, en los cuales muchos axones sensitivos, fácilmente abordables por el instrumento cortante, carecen aún de capa medulada. Dejando por ahora á



un lado los efectos de neurotización obtenidos con estos cabos y ciñendonos al asunto que nos ocupa, ó sea la demostración de la acción neurotrópica de la cicatriz, he aquí cómo hemos procedido:

Efectuamos en la médula espinal terminal, y á diferentes alturas, pequeñas y sucesivas heridas inmediatas á las raíces, pero sin interesarlas directamente, á fin de que por debajo de la dura-madre ó en los boquetes abiertos en ésta se produzcan nódulos cicatriciales. Los ensayos operatorios nos han probado que para no tocar á las raíces es preferible herir, no por fuera, sino por detrás de éstas, en plena médula espinal ó en el *filum terminale*. Claro es que no siempre se obtiene un resultado correcto, es decir, la producción de varios focos cicatriciales sucesivos que no interesen las raíces, sino sus inmediaciones; pero con algunos ensayos se consigue siempre el fin perseguido. Entre otros casos favorables de este género presentamos el reproducido en la fig. 1, correspondiente á un gato de ocho días, á quien se infirieron tres heridas medulares espaciadas en sentido longitudinal y ajenas por completo á las raíces, á las cuales tocaban solamente, por superficies poco extensas, las tres cicatrices mencionadas. Los animales operados (gatos y perros de pocos días) fueron sacrificados cuatro, cinco, diez y quince días después del traumatismo. El caso reproducido en la fig. 1, corresponde á un gato autopsiado cuatro días después de la operación. A él nos referiremos, sobre todo, en la siguiente descripción.

Ya el examen, á débil aumento, de los cortes longitudinales, resultó muy interesante. En efecto, cada cicatriz muestra un neuroma procedente de la raíz sensitiva sana más inmediata, y este neuroma aparece exclusivamente constituido por colaterales brotadas de fibras sensitivas sanas ó normales. Durante los largos intervalos entre cicatriz y cicatriz las radicales se presentan sin alteración, ó sea sin indicación de eretismo divisorio ni conatos de deshilachamiento.

Entremos ahora en algunos detalles descriptivos. Como aparece en la figura 1, B, D, la mayoría de las fibras neoformadas son gruesas colaterales de las preexistentes y nacen en ángulo casi recto y generalmente un poco inclinadas del lado opuesto á la posición del ganglio. A menudo la continuación del tallo hacia la médula es menos espesa que la rama. Las divisiones más fáciles de sorprender son las derivadas de aquellas radicales yacentes en la proximidad de la cicatriz y en la superficie del haz nervioso (fig. 1, B). Empero, se dan también muchas ramas que provienen del lado más profundo de la raíz y aun de raíces muy internamente colocadas. Estas ramas largas penetran en la substancia interfascicular, cruzan más ó menos transversalmente los cordones nerviosos y se distribuyen por la cicatriz. Naturalmente, cuando ésta es tan ex-



tensa que rodea enteramente los cordones, las citadas ramas irradian en todas las direcciones, pudiéndoselas clasificar en profundas y superficiales.

Con frecuencia, la marcha de los tubos neoformados no es tan sencilla. Si las nuevas fibras brotan de conductores profundamente emplazados, ocurre que antes de emerger transversalmente para desembocar en la ci-

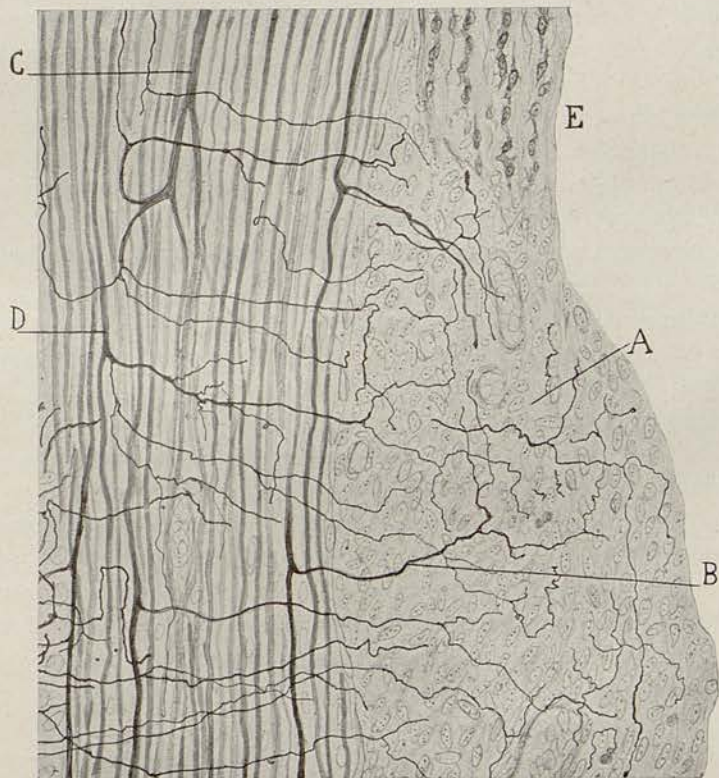


Fig. 1.—Raíz sensitiva de la médula lumbar de un gato de ocho días.—A, cicatriz; B, colateral nacida de un axon sano; E, dura-madre; D, axon que daba recias ramas complicadamente ramificadas; C, gruesa rama intersticial.

catriz corren á lo largo del haz nervioso, se dividen y subdividen repetidamente y generan, en fin, numerosas ramas, algunas de curso retrógrado. Cuando algunas de estas ramas extraviadas dentro del cordón surgen en la superficie (fig. 1, C), semejan á primera vista la porción terminal de axones sensitivos.

Llegadas las ramas nerviosas á la cicatriz, marchan á menudo en dirección transversal, es decir, hacia la herida, se dividen y subdividen



repetidamente y llenan literalmente de ramos, ramúsculos, mazas, anillos y puntas lanciformes, toda la trama conectiva, sobre todo si la observación se practica desde el quinto día de la operación. Aun en los animales sacrificados el día cuarto, la arborización terminal aparece muy complicada (fig. 1).

Hemos examinado cuidadosamente la dirección de estas ramas en relación con la de los corpúsculos conectivos, y hemos hallado que, con frecuencia y especialmente durante el trayecto de los tallos y ramos gruesos, la orientación es perpendicular á la predominante (generalmente paralela á los cordones nerviosos) en los corpúsculos conectivos. Las fibras marchan por los intersticios, y á menudo cruzan rectilíneas grandes distancias. Nótese, sin embargo, en las ramas secundarias y terciarias cierta tendencia á acomodarse á la orientación de las células, por lo cual abundan las ramitas paralelas á la superficie cicatricial. Mas sobre esto se dan muchas excepciones. En algunos parajes, la fibra detenida da origen á gruesa maza ó describe complicada revuelta.

Naturalmente, en aquellas raíces indemnes próximas á la lesión medular, las colaterales neoformadas abundan también y sus ramas se distribuyen por el tejido conectivo embrionario perimedular; algunas llegan á penetrar en la trama cicatricial de la herida de la médula.

En estas regiones profundas, sin embargo, las fibras neoformadas no son siempre colaterales brotadas de axon indemne; á menudo, el proceso inflamatorio y acaso también los efectos mecánicos provocados cuando se infringió la lesión, han acarreado en tales parajes la degeneración parcial de las raíces y la consiguiente producción de retoños de curso complicado. Todo esto, claro es, complica el fenómeno, por lo cual y desde el punto de vista del tema que nos ocupa, son muy de preferir como objetos de estudio las radicales alejadas de la herida medular, y poco ó nada influidas por el proceso flogístico.

Durante el largo itinerario intracicatricial de las ramas nerviosas, ningún núcleo las escolta; son fibras amielínicas sueltas y completamente libres. Transcurridos, empero, diez á quince días de la operación, en vez de fibras desnudas, es frecuente sorprender axones reunidos en manojos, y en torno de éstos células alargadas provistas de núcleos elipsoides, paralelos á las fibras y en un todo semejantes en volumen y estructura á los yacentes en los corpúsculos conectivos próximos. Esta particularidad, sobre la que hemos insistido en anteriores trabajos, habla en favor de la hipótesis de His y Kölliker acerca del origen mesodérmico de las células de Schwann.

En suma, la precedente observación parece demostrar la acción neurotrópica del tejido cicatricial. La dirección, á menudo transversal al cor-



dón radicular y al sentido de los elementos conjuntivos, de las ramas neoformadas; el brote de éstas en tubos íntegros no seccionados ni alterados por el proceso inflamatorio; la propiedad, en fin, de extender y circunscribir sus arborizaciones al espesor de la trama embrionaria, etc., son fenómenos que no explica satisfactoriamente la hipótesis de la odogenesis, ni aun añadida del principio de la turgescencia formulado por Dustin.

Los referidos hechos prueban, además, que los estímulos químicos nacidos en la trama conectiva embrionaria obran sobre los axones, causando en ellos un estado de eretismo formativo tan intenso, que los retoños colaterales son capaces de barrenar la cubierta de Schwann y el endotelio aracnoideo peri-radicular.

El neurotropismo por acción del tejido conectivo embrionario representa verosímilmente el resultado de una adaptación orgánica de carácter utilitario. Merced á la citada atracción, las fibras nerviosas jóvenes hallarían en la cicatriz las células satélites jóvenes necesarias para la ulterior evolución del axon, la formación de la mielina y el modelamiento definitivo de las células de Schwann.

*Atracción cicatricial de ramas neoformadas en las raíces anteriores.* — Hecho bien conocido es la penetración en las cicatrices peri-é intramedulares de ramas brotadas en las raíces anteriores (Ströbe, Lugaro, Cajal, Marinesco, O. Rossi, etc.), en los casos en que se ha producido una lesión de la médula espinal. Pero en tales condiciones no es dable precisar la acción atractiva de la cicatriz; natural parece que los axones neoformados en el cabo central de las raíces motrices interrumpidas se precipiten y rellenen el espacio subdural y las masas conectivas embrionarias de la herida.

Mucho más instructivos, desde el punto de vista del neurotropismo de origen cicatricial, son los efectos provocados por el aplastamiento experimental de las raíces anteriores. Esta operación, fácil de ejecutar en la cola de caballo, suscita, por reacción nerviosa, deshilachamiento de los axones y pujante desarrollo de colaterales y de aparatos de Perroncito. Convenientemente graduado, el aplastamiento necrosa pocos axones, desarrollando apenas, por tanto, fenómenos de neoformación terminal. Ahora bien, la inmensa mayoría de las colaterales neoformadas barrenan la cubierta aracnoidea, invaden, formando haces, la cicatriz y engendran en ella con sus ramificaciones un plexo de formidable complicación. No detallaremos el comportamiento de estas fibras cicatriciales que coincide con el más atrás expuesto; por ahora nos limitaremos á hacer notar que las radicales motrices gozan de exquisita sensibilidad á las excitaciones mecánicas y que, al igual de las colaterales sensitivas, son



susceptibles de inervar rápidamente, por acción neurotrópica, las masas cicatriciales vecinas.

Por lo demás, la excitación mecánica de los axones (apretamiento mediante pinzas) primeramente ensayada por nosotros (8) en nuestros experimentos de regeneración nerviosa, constituye excelente método para provocar rápidamente la formación de nuevas fibras. Marinesco y Minea (12) lo han aplicado también con ventaja en los ganglios, donde han producido, no sólo deshilachamiento de los axones de la substancia blanca, sino deshilachamiento de la porción periférica de las neuronas.

**Producción de nervios aberrantes en los ganglios transplantados y fenómenos de atracción cicatricial á través de la cápsula perigangliónica.**—

A ejemplo de Nageotte (6) y de Marinesco y Minea (13), etc., hemos efectuado en estos últimos años numerosos experimentos de homo y heterotransplantación ganglionar; pero en vez de servirnos como animal huésped del conejo adulto, y como inertos ganglios de conejos recién nacidos, hemos empleado animales hermanos, por ejemplo, gatos ó perros de ocho á quince días. De ordinario los ganglios escogidos han sido tomados de la región lumbar y transplantados bajo la piel del abdomen de otro animal de la misma edad. Para distinguir este modo de ingerto del usado de preferencia por Nageotte y Marinesco (*heterocronotransplantación*), designaremoslo *homocronoingertación*. Los animales fueron sacrificados desde el tercero al décimo día. En algún caso hemos ensayado también la *autotransplantación* de Marinesco, es decir, el ingerto de ganglios bajo la piel del animal mismo de que se tomaron.

En los preparados bien impregnados de ganglios de perro que han permanecido algunos días en el tejido conectivo de otro perro, confirmanse, aunque con ligeras variantes, los actos degenerativos y los interesantes fenómenos de retoñamiento del protoplasma neuronal y expansiones nerviosas descubiertas por Nageotte y confirmadas y estudiadas atentamente por Marinesco y Minea, O. Rossi, etc.

No nos ocuparemos aquí detalladamente de tan singular proceso neoformador, hoy bien conocido. Sólo mencionaremos algunos datos, no exentos á nuestro juicio de interés desde el punto de vista de la hipótesis de la influencia neurotrópica del tejido conectivo embrionario. La descripción siguiente atañe exclusivamente á los ganglios del perro; los del gato se comportan algo diversamente, como más adelante expondremos.

En la homocronotransplantación del perro de pocos días, los fenómenos de destrucción y regeneración de las neuronas sensitivas se desarrollan con gran rapidez. A los dos días se ha iniciado ya el proceso generador de expansiones en las neuronas superficiales, mientras que las profundas quedan reducidas á una masa granugienta que el nitrato de plata



colorea en negro granuloso. A los cinco días, las nuevas dendritas ó parafitos de Nageotte, han alcanzado gran longitud, desusado espesor y marchan entre las células sensitivas, formando plexo complicado. Estas recias expansiones se concentran predilectamente bajo la cápsula ganglionar,

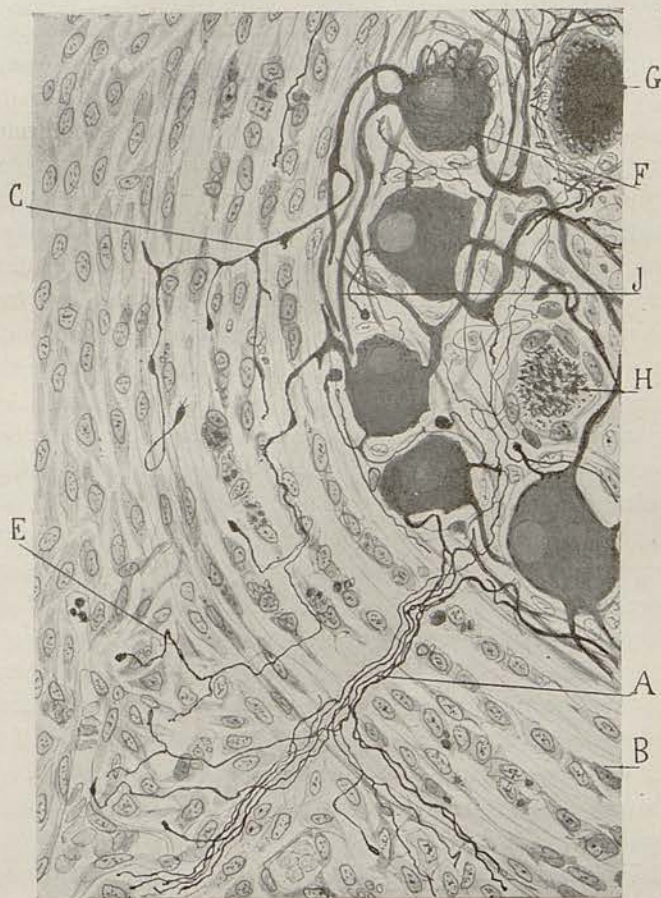


Fig. 2.—Trozo de ganglio transplantado de perro de pocos días.—A, nerviecito que cruza la cápsula ganglionar; B, cápsula infiltrada de células conectivas embrionarias; C, una fibra perforante ramificada al nivel de los intersticios conectivos de la cápsula; E, fibra nueva errante por el tejido conectivo del huésped; F, célula que daba ramas á la cápsula; G, neurona muerta rodeada de un nido; H, otra neurona muerta.

orientándose de preferencia en sentido tangencial. Algunas pocas y generalmente finas dendritas, acaban en bola ó ingresan en los conocidos nidos pericelulares bien descritos por Nageotte. En fin, el axon falta á menudo. Destruído por degeneración, aparece reemplazado por diversas



expansiones celulares profundas, ninguna de las cuales se comporta exactamente como un cilindro-eje, ya que, penetradas en la substancia blanca, si pueden dividirse en rama interna y externa, más á menudo se arborizan, generando haces de fibrillas y multitud de conductores retrógrados (fig. 2).

Pero, el fenómeno que, desde nuestro punto de vista, merece especial atención, es el comportamiento de las expansiones periféricas ó subcápsulares. Dos cosas pueden ocurrir. Si la cápsula ganglionar se muestra poco alterada, siquiera se halle envuelta en tejido conectivo neoformado, los parafitos superficiales no la penetran, limitándose á constituir un plexo cortical complicado. Mas si como ocurría en el caso reproducido en la fig. 2, B, la cápsula ha colaborado en el proceso neoformador, mostrando sus células multiplicadas, dispuestas en series espesas y entremezcladas de fagocitos conectivos rellenos de *detritus* grasientos y protéicos, es frecuente sorprender que algunos parafitos, ó más frecuentemente ramas de parafitos, tantean los puntos débiles de la cápsula, trazan zig-zags entre las capas fibrosas concéntricas de ésta, ramifícanse á menudo en su espesor, y, en fin, sus más largas ramas franquean el obstáculo y hacen irrupción en pleno tejido conectivo embrionario perigangliónico, es decir, en la trama cicatricial formada á expensas del animal huésped (C). Si en vez de una rama ó dos, han cruzado el obstáculo varias de ellas, prodúcese un haz nervioso más ó menos apretado (fig. 2, A), cuyos conductores, por su delgadez, lisura de contorno, mantenimiento del diámetro, formación de finos botones terminales y hasta de diminutos anillos, recuerdan por completo legítimos cilindros-ejes. El parecido con éstos se perfecciona aun en los días sexto, séptimo y octavo, durante los cuales hemos observado en pleno tejido conectivo perigangliónico, paquetes nerviosos costeados por células adventicias y axones sueltos escoltados por corpúsculos fusiformes que recuerdan enteramente los elementos formadores de la vaina de Schwann.

¿Qué suerte alcanzan tan singulares nervios sensitivos improvisados? Muy interesante sería averiguar si, andando el tiempo, son capaces de fabricarse vainas de mielina, y de persistir en la cicatriz, constituyendo con las células de origen una especie de neuroma ganglionar perfectamente adaptado al terreno. Por desgracia, á pesar de los muchos experimentos de transplantación intentados, nosotros no hemos logrado observarlos nunca después del noveno día. Acaso en ello haya intervenido el azar; de todos modos, cuando después de este plazo el animal ha sido sacrificado, constantemente los ganglios aparecían reabsorbidos y convertidos en vasta masa de tejido cicatricial, donde hasta los restos de la cápsula gangliónica comenzaban á desaparecer. Puesto que Marinesco (11),



en experimentos de autotransplantación, ha reconocido la supervivencia del plexo gangliiforme veintidós días después de la operación, no creemos imposible que nuevos ensayos de transplantación, en condiciones algo diversas, aporten la prueba de la producción á expensas de parafitos somáticos, de tubos nerviosos artificiales más ó menos persistentes.

Varias y muy curiosas son las enseñanzas de estos experimentos de homocronotransplantación en el perro joven.

La primera consiste en que toda expansión celular sensitiva, aunque primitivamente aparezca con los caracteres morfológicos de las dendritas, es susceptible de transformarse en nerviosa, ó más bien, desde *ab initio*, posee representación axónica, aun cuando no llegue á asociarse á las antiguas vainas de Schwann ni siga las vías ordinarias de la regeneración. Este resultado armoniza bien con la doctrina de la regeneración colateral de Nageotte (6). Recuérdese que todas las fibras nacidas del soma de las células sensitivas normales (Cajal) ó de las neuronas sensitivas de los tabéticos (Nageotte), exhiben maza terminal y aspecto de conductores axónicos.

La segunda, sobre la cual llamamos particularmente la atención, concierne á las aptitudes neurotrópicas del tejido conectivo embrionario. La atracción ejercida por las células embrionarias intra y extracapsulares es tan activa, que las fibras nerviosas nuevas solicitadas por la fuente neurotrópica vecina han llegado á barrenar el obstáculo que de ordinario las detiene, invadiendo el tejido conectivo del animal huésped, donde se fabrican con elementos mesodérmicos extraños vainas protectoras. Recordemos que en los casos ordinarios de regeneración de los nervios, el neurilema constituye obstáculo infranqueable para las fibras nuevas: la misma cápsula gangliónica no es nunca barrenada en los ejemplos de heterocronotransplantación, como se deduce de los experimentos de Nageotte, Marinesco y de los nuestros (transplantación en la oreja del conejo adulto). Por donde es lícito deducir que las cápsulas sanas, es decir, aquellas cuyos corpúsculos conectivos se mantienen adultos ó poco alterados, carecen de influencia neurotrópica, limitándose á su papel de barrera encauzadora de los axones neoformados.

En fin, la tercera consecuencia afecta al origen de los corpúsculos de Schwann. Dejamos ya consignado que, enfrente de la teoría clásica de His y Kölliker, para quienes los corpúsculos de la vaina de Schwann son de origen mesodérmico, otros sabios, como Lenhossék (22), Harrison (23) y Held (58) los estiman de extirpe ectodérmica, suponiendo que en la época embrionaria emigran á lo largo de los axones en vías de crecimiento, multiplicándose activamente. Ahora bien, en los casos citados de homocronotransplantación, las fibras perforantes ó axones neoformados



preséntanse al principio desnudos, sin que en los días sucesivos hasta la aparición de corpúsculos marginales sea dable sorprender la emigración de corpúsculos endocapsulares ó de células de Schwann antiguas, ni reconocer fenómenos mitóticos en los elementos ulteriormente aparecidos al lado de las fibras amielínicas invasoras.

De las varias observaciones precedentemente expuestas dedúcese, como muy probable consecuencia, la acción neurotrópica del tejido conectivo embrionario. Cabe preguntar ahora: esta influencia ¿es ejercida por cualquiera de las fases evolutivas de dicho tejido ó por una fase especial del mismo?

Necesario fuera, para resolver este problema, practicar experimentos de ingertación sobre la cola de caballo (en el espacio subdural de la región lumbo-sacra) de tejido cicatricial en diversas etapas de su desarrollo. De todos modos, y en tanto ejecutamos tan delicados experimentos, séanos lícito conjeturar, sobre la base de algunas observaciones comparativas tocantes á la riqueza nerviosa de las cicatrices, que la fase dotada de mayor energía neurotrópica es la primordial, esto es, la caracterizada por la presencia de corpúsculos poliédricos, estrellados ó ligeramente fusiformes. Cuando el tipo celular alargado domina, el poder neurotrópico se mantiene, pero nos parece ya un tanto mitigado. En fin, en cuanto comienza la formación de los haces conjuntivos y el número de fibroblastos disminuye, cesa ya enteramente, ó casi enteramente, dicho poder. La acción neurotrópica parece faltar al principio, cuando, junto al cabo central de los nervios traumatizados, sólo existe el exudado inflamatorio con restos de coágulo hemorrágico. Ciertamente, dentro de estos coágulos se encuentran á veces, como Perroncito (24) y nosotros hemos observado, fibras nerviosas jóvenes; mas este hecho se explica por efecto del crecimiento inicial vigoroso de los retoños que, al abordar la herida, tropiezan necesariamente con el exudado. En cuanto ha llegado el segundo ó tercer día, la trama conectiva embrionaria se esboza por proliferación de los corpúsculos conectivos; la mayoría de las fibras parece como evitar los restos hemorrágicos y líquidos plasmáticos ricos en leucocitos, para congregarse en las bandas de corpúsculos embrionarios. En fin, si la herida ha sufrido alguna infección, el pus es particularmente huído por los retoños nerviosos. Diríase que los leucocitos obran á modo de fuente quimioneurotrópica negativa. La falta absoluta de energía atrayente podría también explicar esta repugnancia.

Por lo demás, la atracción ejercida por el tejido conectivo embrionario sobre las fibras nerviosas jóvenes, si puede facilitar en las largas cicatrices (resección de nervios) el arribo de los axones al cabo periférico, no basta para determinar la neurotización de éste. Aquí deben intervenir



nuevas acciones neurotrópicas, que tienen verosímilmente su fuente en las *bandas de Büngner*, del segmento periférico. Impresionadas por algo que de los tubos viejos exuda y se difunde por los intersticios del tejido cicatricial, las pequeñas mazas en progresión pueden remover los tapones celulares que obstruyen la entrada de los vacíos tubos del cabo periférico (Lugaro (21) Cajal).

Verdad es que Dustin niega formalmente la acción neurotrópica de las bandas de Büngner. Si, como afirma dicho sabio, en la neurotización del cabo periférico sólo procesos mecánicos intervienen, el examen del hileo de este cabo debería mostrarnos la existencia de vías ó pasos expeditos en línea recta ó casi recta hacia la cicatriz. Al contrario, una cuidadosa exploración de dicho hileo, basada en el empleo de los métodos comunes, nos muestra los tubos de Schwann y bandas de Büngner doblados y en variedad de orientaciones y con extremos libres rellenos de células proliferadas que borran por completo la luz tubular. Si, pues, los intersticios celulares y la continuidad del tejido cicatricial son las solas condiciones de la penetración de las mazas en el cabo periférico, no se concibe cómo al abordar el hileo no toman éstas, después de chocar con el obstáculo de los tubos obstruidos y doblados, diversidad de direcciones, perdiéndose indiferentemente en las masas cicatriciales vecinas ó en los intersticios del segmento nervioso periférico. Ciertamente, en su marcha hacia el cabo periférico hay fibras que se insinúan entre los viejos estuches de Schwann; pero éstas son pocas y aisladas, mientras que las invasoras del camino más difícil, es decir, de la masa maciza de las bandas de Büngner, constituyen la inmensa mayoría y se disponen á menudo en haces paralelos. Frecuentemente se reconoce, según hicimos notar nosotros, que antes de abordar el estuche trazan las fibras revueltas complicadas y se ramifican prolijamente. En fin, su avidez por las bandas de Büngner es tal, que en algunas de éstas ingresan sucesivamente, desde parajes alejados, cuatro y seis ramas procedentes de otros tantos axones de la cicatriz.

Particularidades son éstas, sin contar otras que no mencionamos, difícilmente comprensibles en la teoría mecánica, á menos que no admitamos, según parece suponer Dustin, un sistema congruente de vías preestablecidas á través de la cicatriz entre las bandas de Büngner y el cabo central. Mas, fuerza es reconocerlo, esta hipótesis — que nos recuerda la aventurada teoría de los cauces preestablecidos de Hensen-Held (que creemos haber refutado en lo tocante á la neurogenesis normal) — pugna con la observación más somera de la cicatriz é hileo del cabo periférico, en los cuales, según dejamos apuntado más atrás, sólo se encuentran intersticios sin orientación determinada y dominante. Además, en el te-



reno teórico se hace difícil aceptarla, porque plantea una nueva cuestión más árdua todavía que la discutida, á saber: ¿en virtud de qué condiciones las células conectivas embrionarias y los corpúsculos de las bandas de Büngner (hileo del cabo periférico) se disponen de suerte que sus intersticios sean precisamente los caminos más convenientes á la orientación de las fibras nuevas y á su llegada sin errores á los aparatos terminales periféricos?

Dejando, por ahora, esta cuestión de la neurotización del cabo periférico de los nervios interrumpidos y volviendo al tema que nos ocupa, consignemos que la hipótesis del neurotropismo por influencia del tejido conectivo embrionario no es una idea nueva.

A título de concepto teórico, el poder neurotrópico de las células conectivas de la cicatriz mediante entre los cabos nerviosos ha sido defendida por Bethe (26), quien la invoca para explicar la unión por él supuesta entre las fibras auto-regeneradas del cabo periférico y las emanadas del cabo central.

Dustin (9) persigue muy de cerca el concepto del neurotropismo por acción de la trama conectiva cuando, estudiando muy atentamente la disposición del tejido cicatricial interpuesto entre los cabos nerviosos, reconoce que los retoños neoformados del cabo central no abandonan nunca la trama cicatricial, marchando constantemente por sus intersticios.

Hay un párrafo en el trabajo de Dustin en que hasta se alude explícitamente á las influencias quimiotácticas del tejido conectivo. Así, al tratar del mecanismo de la odogenesis afirma: «Cette odogénese se réalise grâce à une propriété speciale, peut-être chimiotactique des cellules conjonctives des nerfs périphériques». Y al describir el estado de las raíces posteriores en un perro operado con tres años de anticipación, refiere que en el espesor de la cicatriz existen conglomerados celulares, quizás de origen vascular, en donde penetran también ramas de nervios vasculares preexistentes arrolladas en glomérulo alrededor del montón celular. «Lorsque ces collatérales se forment (alude á las fibras nerviosas neoformadas que acaban en ciertos montones de corpúsculos mesodérmicos) au voisinage de la cicatrice, elles peuvent pénétrer celle-ci en formant une sorte de peloton autour des petites cellules rondes qui paraissent les attirer». En efecto; si no suponemos cierta acción atractiva de los corpúsculos mesodérmicos, es imposible comprender la producción de estos pelotones (1) ni los glomérulos complicados descriptos por Nageotte (15)

(1) Los pelotones nerviosos en torno de conglomerados mesodérmicos descriptos por Dustin son análogos á los que nosotros habíamos encontrado en los ganglios sensitivos humanos (27). Estos glomérulos intersticiales, es decir, extracapsulares, han sido, por lo demás, confirmados y bien descriptos por Nageotte,



en torno de los elementos satélites de neuronas necrosadas ó de nódulos de elementos subcapsulares ó satélites (*nódulos residuales*). De estos ovillos pericelulares vamos á decir algunas palabras.

II. ACCIÓN NEUROTROPICA DE LAS CÉLULAS PERI-GANGLIONARES SOBRE FIBRAS NEOFORMADAS RECURRENTES. — Hace años que primeramente Dogiel (28) y nosotros y Olóriz (30) después, estudiando los ganglios raquídeos coloreados por el azul de metileno, llamamos la atención sobre la existencia en torno de las neuronas sensitivas, de ciertos ovillos formados por fibras finas ameduladas que, en honor de Dogiel, y para diferenciarlos de otras arborizaciones pericelulares señaladas por Ehrlich, Aronson y nosotros, designamos *ovillos de Dogiel*.

Estos ovillos presentan con grande inconstancia en los animales de laboratorio (gato, perro, conejo, ratón y cobaya), no obstante la regularidad de los resultados del método de Ehrlich. Naturalmente, semejante veleidad se atribuyó á la técnica seguida y no al hecho mismo de la inconstancia de los nidos. En el hombre no se habían reconocido todavía, cuando aplicando á los ganglios sensitivos craneales y simpáticos de sujetos normales la nueva técnica del nitrato de plata reducido (27), sorprendimos la presencia de nidos pericelulares de la propia especie y más complicados aún que los descritos en los animales.

La cuestión de la significación de los ovillos de Dogiel, ha entrado modernamente en una fase interesante, gracias á las investigaciones anatómo-patológicas de Nageotte (15). Este sabio, renovador ya que no iniciador del método experimental en neuropatología ganglionar, ha logrado reproducir artificialmente dichos ovillos en las neuronas periféricas de ganglios transplantados debajo de la piel del conejo. Así, cuando días después del ingerto se estudia un ganglio de conejo (en este animal las células normales con ovillos son raras) á favor del proceder del nitrato de plata reducido, reconócese fácilmente que buena parte de las cápsulas perineuronales presentan nidos cuyas fibras nerviosas proceden á menudo de ramas colaterales brotadas en el glomérulo axónico. Aparte tales ovillos pericapsulares, existen otros, nacidos igualmente del glomérulo, que se encuentran en derredor de los montones de células satélites formados en el lugar de las neuronas muertas y reabsorbidas (*nódulos residuales*). Diversas especies de nidos han sido también observadas por Marinesco y Minea (12) y últimamente por O. Rossi (31) no sólo en ganglios transplantados, sino en los del hombre en diversos estados

y recientemente por O. Rossi, en ganglios humanos en estado patológico. Ciertas arborizaciones y pelotones libres últimamente descritos por Dogiel (29) en los ganglios del caballo, pertenecen verosimilmente también á este orden de formaciones.



patológicos. En fin, Levi (32) y Dogiel (29), aplicando respectivamente los métodos del nitrato de plata y el de Ehrlich, los han demostrado asimismo en numerosas especies animales, sobre todo Levi (33), á quien debemos estudios magistrales sobre los ganglios sensitivos de los reptiles y peces. Citemos aún á Veratti (34) y Pacheco (35) que han hallado nidos complicados respectivamente en los ganglios heridos de los animales y en los del hombre que ha sufrido amputación.

De las investigaciones experimentales efectuadas por Nageotte (16 y 17) deduce este autor la identidad de los referidos ovillos artificiales con los de antiguo descritos por Dogiel y con los últimamente señalados por nosotros en el hombre normal; declara además, que su presencia es fenómeno eventual que se exagera notablemente en el estado patológico; y en fin, añade que su origen hay que referirlo á un proceso neoformador ó regenerativo. Las fibras nuevas generadas procederían en todo caso del axon sensitivo y en virtud de una influencia neurotrópica ejercida por los corpúsculos satélites ó endocapsulares. En cuanto á las neuronas, no atraerían las fibras neoformadas; antes hay motivos para atribuirles un influjo trópico negativo.

Confesamos que esta audaz identificación entre disposiciones morfológicamente semejantes, pero halladas unas en los ganglios normales y otras en los patológicos (ganglios de los tabéticos, ganglios transplantados) nos produjo al principio algo de sorpresa. *A priori*, resultaba, en verdad, poco creíble que fueran expresión de simple proceso regenerativo, disposiciones presentadas normalmente hasta en animales jóvenes y en hombres sanos muertos de accidente. Mas los trabajos ulteriores de Marinesco (10), por los cuales se establece que los tales nidos aparecen también en los ganglios transplantados sobre un nervio seccionado, generándose á expensas de las fibras neoformadas del cabo central; la repetición por Ottorino Rossi (31) de este interesante experimento con iguales é instructivos resultados; el reconocimiento de ovillos en los ganglios heridos (Veratti), y, en fin, la observación publicada por Marinesco y Minea (12) de nidos pericelulares complicados en los ganglios excitados por aplastamiento, nos han persuadido al fin de que, en efecto, los ovillos de Dogiel, aun los formados por fibras aferentes evidentemente extrínsecas, pueden constituir algo eventual, el resultado inesperado de un acto neoformador incongruente.

Si alguna duda nos hubiera quedado, habríase disipado enteramente después del siguiente experimento, que reproduce en condiciones menos artificiales y por tanto más análogas á las de la naturaleza misma, los efectuados por Marinesco y O. Rossi.

Antes de proceder al anunciado experimento, hemos efectuado una ex-



ploración escrupulosa de los nidos nerviosos (ovillos de Dogiel) revelados por el nitrato de plata en los ganglios normales del gato de quince días. Este examen ha permitido concluir que en casi todos los ganglios lumbares y sacros faltan los ovillos de Dogiel. Sólo en una ó dos neuronas, entre miles de las examinadas, hemos sorprendido nidos, así como fibras extrínsecas ramificadas.

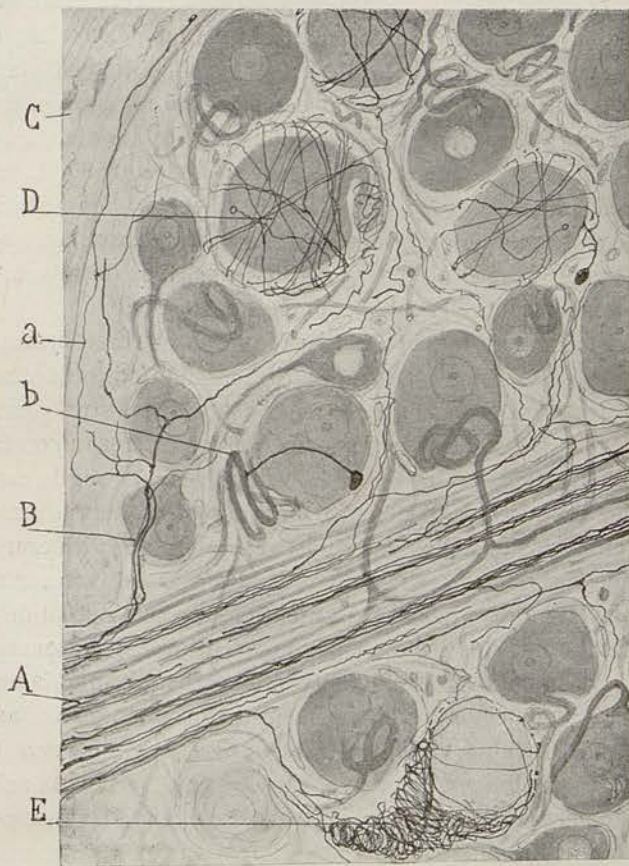


Fig. 3. — Corte de un ganglio lumbar de gato de pocos días, en quien se lesionó la raíz correspondiente. — A, haces de fibras nuevas penetrantes en la substancia blanca del ganglio; B, fibras perdidas bajo la cápsula ganglionar; C, cápsula; D, ovillo de Dogiel; E, pelotón periglomerular; *a*, glomérulo que daba una rama terminada en maza.

Fijados sobre la exigüidad numérica de los ovillos normales, hemos practicado lesiones en las raíces posteriores de la médula lumbar del gato de quince días. Los mejores resultados se han conseguido provocando el aplastamiento de las mismas á favor de una pinza. Según he-



mos consignado en uno de nuestros trabajos sobre la regeneración nerviosa (8), cuando se aprieta un nervio, el examen verificado cuatro ó seis días después de la lesión denuncia la transformación de la mayor parte de los axones en haces de hebras. Estas adquieren estado de excitación divisoria, ramificanse repetidamente y generan numerosos conductores intra y extratubarios, ya directos, ya retrógrados, los cuales corren á lo largo del nervio contundido. En los casos en que el aplastamiento es excesivo, el axon se necrosa y las fibras neoformadas por encima de la lesión generan un haz que, marchando por entre los detritus de la mielina, crece hacia la periferia, no sin emitir casi siempre algunas ramas retrógradas. Este curioso proceso de deshilachamiento axónico, que representa en el fondo un fenómeno de Perroncito simplificado, ha sido confirmado por Marinesco y Dustin. Dejamos dicho ya que Marinesco y Minea, utilizando también el proceder del aplastamiento, han provocado en la substancia blanca de los ganglios sensitivos deshilachamientos axónicos y consiguiente producción de ovillos de Dogiel.

En los animales tratados de esta suerte, y que fueron sacrificados cinco, seis y ocho días después del traumatismo, las raíces posteriores mostraban una neoformación activa de ramas colaterales intra y extratubarias. De ellas las ramas que particularmente nos interesan son las retrógradas, es decir, las dirigidas desde la lesión hacia el ganglio correspondiente. Tales conductores dispónense en manojos de hebras finas contenidas bajo cubiertas de Schwann, y después de un largo itinerario, abordan la trama ganglionar mezclados con los tubos sensitivos normales, de los que destacan en los preparados argénticos, no sólo por su delgadez y carencia de mielina, sino por su color negro intenso y ausencia de núcleos marginales (fig. 3, A). Finalmente, á diversas profundidades dentro del ganglio, los mencionados haces neoformados abandonan las vainas de Schwann de los tubos viejos y se lanzan á la región cortical gangliónica, donde se pierden en definitiva. Que las citadas hebras acaban en el ganglio lo persuade la exploración comparativa de las dos porciones intra y extraganglionar de la raíz posterior. Mientras la primera aparece surcada por numerosos manojos neoformados, en la segunda apenas se sorprende tal cual hebra negra que no pudo abandonar los haces de la región ganglionar central.

Aventuradas entre las células sensitivas, la suerte de dichas hebras errantes es muy diversa. Buen número de las mismas se extravía entre los haces de tubos sensitivos y en los intersticios de la corteza gris ganglionar, donde se dividen repetidamente, terminándose en diminutas mazas; otras, ganan la cápsula, por encima de la cual caminan paralelamente, generando también amplias arborizaciones (fig. 3, a); en fin, la



mayoría de ellas, después de abordar la corteza gris ganglionar, se resuelven en nidos ú ovillos pericelulares ó periglomerulares. La disposición de estos ovillos aparece en la fig. 3, D, donde podrá notarse cuán vario es el número de fibras aferentes de los mismos. Neuronas hay que reciben dos ó tres hebras, las cuales, llegadas á la cápsula, trazan en torno de ésta numerosas revueltas. Otras sólo exhiben un hilo aferente devanado en poco complicados ovillos. Corriente es sorprender en estos nidos bifurcaciones y finas esférulas ó anillos terminales (fig. 3, D). Al lado de ovillos pericelulares se descubren á veces ovillos periglomerulares, de que en la fig. 3, E, mostramos uno típico y de intrincadísima construcción. En él la fibrilla ó fibrillas aferentes trazan primeramente espiras en torno y por fuera de la membrana de Schwann de la porción extracapsular del tubo nervioso y acaban por penetrar bajo la cápsula y rodear las flexuosidades del glomérulo. Por lo demás, ovillos periglomerulares han sido también vistos por Nageotte y Marinesco y Minea en los ganglios transplantados.

Hemos explorado cuidadosamente numerosos cortes gangliónicos ricos en ovillos de Dogiel y no hemos sorprendido nunca espiras ni pelotones en torno de elementos conectivos, vasos sanguíneos ó tubos de la sustancia blanca alejados de los cuerpos celulares. Esta observación negativa, junto con la particularidad de que los ovillos prefieren la porción inicial de los axones y las cápsulas perineuronales, nos inclinan á admitir, con Nageotte, que las células satélites que rodean el soma y porción inicial del axon ejercen una acción neurotrópica sobre las fibras neoformadas. Con lo cual no negamos la posible influencia de otras causas, por ejemplo, de la adhesión táctil, así como de la configuración neuronal. Más adelante citaremos algún caso en que estos influjos de carácter puramente físico parecen incontestables.

La mayoría de nuestras observaciones refiérense á gatos sacrificados cinco y seis días después de la operación. Es muy probable que en tiempos más alejados del traumatismo el número de ovillos aumente.

Los mencionados nidos pericelulares no se presentan solamente en casos de aplastamiento radicular; aparecen también cuando se seccionan las raíces posteriores ó el par nervioso correspondiente por fuera del ganglio, ó se hiere y necrosa la porción del cordón posterior, donde éstas se terminan. Como luego veremos, en los ganglios heridos son abundantes.

Ultimamente hemos encontrado también numerosos ovillos en los ganglios del ciático del gato, cuyo tronco nervioso había sido aplastado en la proximidad de su emergencia. En todo caso, los experimentos de aplastamiento son más concluyentes que los de sección, pues nos revelan claramente el origen de las fibras aferentes á los nidos, el cual no puede



ser otro que los axones preexistentes de la porción lesionada de la raíz ó del nervio correspondiente.

En la operación de sección radicular, que casi siempre compromete (animales pequeños), por propagación inflamatoria, las dos especies de raíces anterior y posterior, se crea una amplia puerta de entrada, y por esta brecha artificial pueden penetrar fibras nerviosas de diversas procedencias, entre otras, axones neoformados en la raíz anterior, según han demostrado las investigaciones de Lugaro.

Las observaciones precedentes demuestran también la gran importancia que para la explicación de diversos fenómenos regenerativos más ó menos paradójicos tienen las fibras retrógradas.

*Ganglios transplantados con nidos nacidos de fibras nerviosas preexistentes.*—Para acabar de persuadirnos de la exactitud de la interpretación de Nageotte acerca de los ovillos de Dogiel, hemos verificado en el gato joven algunos experimentos de *homocronotransplantación*. Con el fin de estudiar el comportamiento de las fibras nerviosas radiculares, el injerto se ha hecho comprendiendo series enteras de ganglios de la cola de caballo, incluyendo á menudo la porción terminal de la médula espinal. En el gato de pocos días, los ganglios pequeños injertados sufren menos que los correspondientes del conejo (*heterocronoingertación*), padeciendo tan poco las neuronas con el cambio de terreno, que cuando el ganglio es muy pequeño, y por tanto, fácil la nutrición por imbibición, ocho y diez días después del injerto preséntanse todavía algunas células superficiales normales y completamente desprovistas de parafitos. En ellas la expansión nerviosa se conserva aún con leves alteraciones y se sorprende todavía la bifurcación en rama externa é interna dentro de la substancia blanca. Por lo demás, esta fácil adaptación del injerto de las células del gato joven ha sido ya notada por Marinesco y Minea (1), quienes en ciertos experimentos de autotransplantación han sorprendido, desde las cuarenta á las sesenta horas, axones y ramas de bifurcación casi normales, de cuyo itinerario intra y extracapsulár partían numerosas ramas en vías de crecimiento. Han observado asimismo dichos sabios axones en pleno proceso de deshilachamiento y hasta fenómenos regenerativos en un todo comparables á los actos de retoñamiento precoz característico del cabo central de los nervios seccionados. Semejantes actos regenerativos producen también en las ramas de bifurcación del axon, las cuales emiten colaterales sucesivamente ramificados y penetrantes en la corteza gris ganglionar. En fin, estos ramúsculos finos, llegados á las células, podrían

(1) G. Marinesco et G. Minea: Precocité des phénomènes de régénérescence consécutifs à la greffe des ganglions sensitifs chez le chat. *Comp. rend. des séances de la Société de Biol.*, 27 Juillet 1907, t. LXIII.



generar tanto en torno de ellas como de sus glomérulos, plexos, pelotones y nidos complicados. Hay que distinguir estos ovillos, producto de la regeneración axónica de aquellos otros nidos pericelulares compuestos por apéndices finos ó robustos brotados de la porción glomerular del ci-

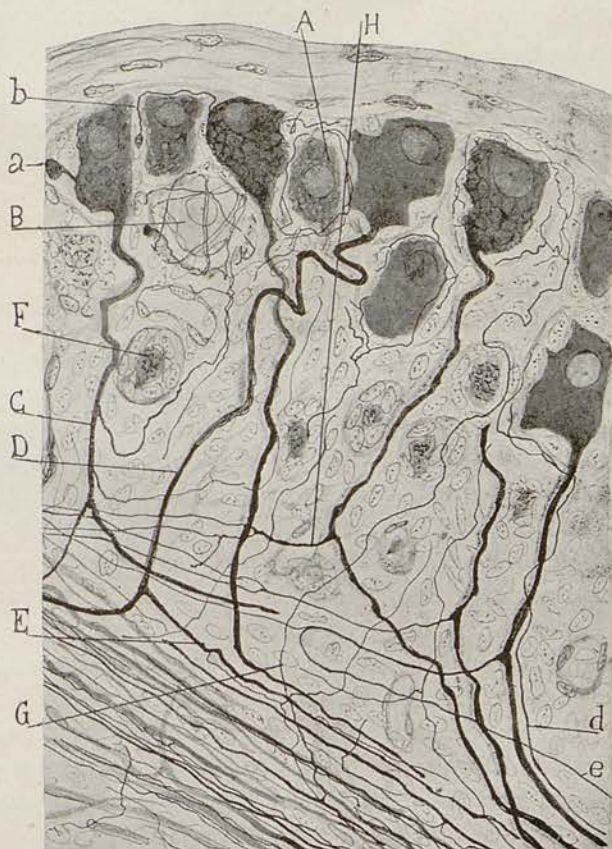


Fig. 4. — Ganglio transplantado de gato joven sacrificado nueve días después de la operación. — A, capa de células gangliónicas supervivientes; B, célula con ovillo de Dogiel; C, axon de que brota una colateral para ovillos; D, célula casi normal, cuya rama de bifurcación externa daba una colateral; E, otra con colateral análoga; F, nódulo residual; G, colateral llegada de la substancia blanca; a, b, apéndices terminados en mazas; e, ramo retrógrado de la rama interna de bifurcación de un axon.

lindro-eje sensitivo, y que han sido particularmente estudiados por Nageotte en los ganglios transplantados del conejo. Los primeros merecen la designación de *nidos vivaces*, los segundos podrían llamarse *nidos agónicos* ú *ovillos de Nageotte*, en honor de su descubridor (6). En las pre-



paraciones á que aludimos, estas ramas glomerulares, formadoras de nidos agónicos, faltan por completo (fig. 4).

En la fig. 4, mostramos detalladamente algunas células de un ganglio transplantado del gato joven. Notemos que, no obstante los días transcurridos desde la operación (nueve días), las células corticales consérvanse bastante bien, así como el axon y la bifurcación de éste en los paquetes ó en la inmediaciones de la sustancia blanca. Sin embargo, la normalidad no es perfecta ni mucho menos. Reconócese desde luego que la mielina de los axones ha sido reabsorbida, apareciendo todos ellos desnudos, en pleno tejido de neoformación conectiva ó rodeados de algún núcleo marginal. Además, tal cual neurona exhibe apéndices intracapsulares con mazas (fig. 4, *a, b*); otras ofrecen un retículo hipertrofiado y como salpicado de vacuolas; algunas, en fin, ostentan un soma de contornos desiguales y con fosetas periféricas. El glomérulo aparece laxo, desarreglado, al modo del de los corpúsculos sensitivos en la rabia.

Por lo que toca á los nidos, preséntanse constantemente en un cierto número de neuronas, con especialidad en las necrosadas (fig. 4, *A, B*). Pero aunque raros no faltan en torno de células normales ó poco alteradas. En torno de nódulos residuales son rarísimos. Estos ovillos yacen fuera de la cápsula y se componen de fibras finas, lisas, poco ramificadas y arribadas de la sustancia blanca. Perseguidas hasta su origen, reconócese, como describe Marinesco (11), que en su mayor parte representan brotes colaterales retrógrados nacidos en las ramas de bifurcación del axon. Algunas, empero, nacen de la porción extracapsular de éste y ninguna del glomérulo. Esta última observación no concuerda con la opinión de Nageotte, para quien las fibras de los nidos brotan necesariamente de la porción glomerular del cilindro-eje sensitivo. En sentir de este sabio, sólo las ramas intracapsulares serían atraídas por las células satélites; las nacidas en la porción extracapsular axónica tendrían carácter de fibras regenerativas, y marcharían, en virtud de un tropismo específico, hacia las células de Schwann en vías de multiplicación (*bandas de Büngner*) de la sustancia blanca gangliónica. Pero las observaciones referidas y los experimentos de aplastamiento ganglionar de Marinesco y Minea (12) enseñan que este último tropismo de las ramas extracapsulares no es exclusivo, sino que, en determinadas condiciones, sobre todo cuando los ganglios transplantados se acomodan perfectamente al medio, las citadas colaterales son también atraídas por las cápsulas y acaso también por las neuronas sensitivas. Es más; de aceptar literalmente el parecer del ilustre neurólogo francés, correría riesgo hasta su misma ingeniosa interpretación de los ovillos normales de Dogiel, dado que, con toda evidencia, las fibras nerviosas de que proceden vienen de lejos, por



lo menos de la sustancia blanca gangliónica, y en nuestro sentir, más á menudo aún, del curso de los nervios y raíces nerviosas.

Por lo demás, en nuestros preparados cabe estudiar muy bien las ramas de bifurcación de los axones normales. Nótese en la fig. 4, H, la perfecta conservación de la división y repárese que tras breve trayecto una de las ramas, á veces las dos, emiten fibras en ángulo agudo, las cuales se dividen y subdividen repetidamente, retrocediendo algunas hasta la sustancia cortical. Algunas de ellas, como se verá en la fig. 4, C, emanan de la porción extracapsular del axon. En ocasiones, la rama interna de bifurcación se divide en dos ramos iguales: uno que representa la rama primitiva y otro la neoformada. Esta puede descomponerse aún en nuevos ramúsculos. No es raro observar que las ramas neoformadas en la sustancia blanca retroceden á la gris, adosadas estrechamente á un cilindro eje (*d*). En fin, en ocasiones la rama interna de bifurcación, reconocible por su delgadez, genera un conductor más espeso que ella, que marcha en sentido inverso, es decir, hacia el nervio periférico (fig. 4, *e*).

No todos los axones se han mantenido incólumes. Sin contar los de las neuronas profundas en vías de reabsorción, han desaparecido también algunos de los superficiales. Es curioso notar que la rama externa resiste mejor que la interna, la cual, en muchos axones, ha desaparecido. En general, la rama interna es la más metamorfoseada, no siendo raro verla convertida en una arborización fina terminada en plena sustancia blanca.

La persecución de las ramas indemnes, singularmente de la externa, á lo largo de los cordones emergidos del ganglio, nos conduce á la cicatriz, dentro de la cual desembocan y se ramifican algunas fibras neoformadas, convirtiéndose en nerviecitos errantes. La mayoría, sin embargo, de dichos conductores, cuando se acerca á la cicatriz (tejido conectivo embrionario del huésped) divídese en dos ramas: una fina, que se aventura en el tejido conectivo neoformado; otra más gruesa, verdadera continuación de la fibra, que, después de trazar un arco y hacerse retrógrada, retorna resueltamente al territorio del ganglio. En las ramas internas estas ramas recurrentes nos han parecido raras, lo que puede depender de la escasez de conductores vivaces suficientemente largos para alcanzar la cicatriz.

Interesante sería examinar el comportamiento ulterior de las fibras sensitivas errantes por la cicatriz y los tejidos del huésped. Por desgracia, nuestras preparaciones de ingertación, cuando el animal se sacrificó desde el oncenno día en adelante, no han mostrado fibras ni células sensitivas supervivientes. Todo lo ingertado, incluso los restos de la médula lumbo-sacra, se ha reducido á detritus esparcidos en el seno de una masa



cicatricial salpicada de fagocitos ó de células granulosas. Esta desaparición de las neuronas vivas, ¿es fenómeno accidental ó proceso necesario? He aquí otro importante punto á dilucidar en futuros experimentos.

*Nidos en los ganglios heridos.* — Plexos intercelulares complicados y ovillos de Dogiel aparecen en gran número, como ha descrito Veratti (34), cuando se corta un ganglio y se sacrifica el animal pocos días después de la operación (1). En la fig. 5 mostramos el aspecto presentado por la herida de un ganglio de gato (región sacra) seis días después del acto operatorio. Nótese que los ovillos de Dogiel (F, E, J), abundantes en los bordes de la lesión, disminuyen progresivamente hacia el cabo sano (el cabo interno) del ganglio, donde faltan casi enteramente. Muy numerosos son también los pelotones periglomerulares y los arrollamientos de fibras neoformadas en torno de la porción extracapsular de los axones. Ovillos hay tan extensos que comprenden, bajo sus revueltas, dos y tres células vecinas. La inmensa mayoría de las fibras constructoras de tales ovillos representan conductores neoformados recurrentes llegados de la cicatriz y continuados con ramas periféricas gangliónicas. Las ramas brotadas de los glomérulos son muy escasas, y toman, por tanto, poca participación en los referidos pelotones.

Revélase en este corte un hecho curioso, á saber: que gran número de axones de la substancia blanca del ganglio se halla en fase de deshilachamiento y excitación divisoria (S), llegando sus paquetes fibrilares á la herida y retornando en gran parte al ganglio, después de trazar en la cicatriz un arco más ó menos cerrado (D, C). De este arco dimanan, á veces, ramas penetrantes y ramificadas en el tejido conectivo embrionario ó tejido cicatricial, innervado también por algunos axones brotes en su mayoría de la rama periférica de división de la expansión ganglionar preexistente. La presencia de estos arcos y fibras retrógradas, de que más adelante hemos de hallar aún nuevos ejemplos, parece indicar que el neurotropismo ejercido por el tejido conectivo cicatricial sobre los axones neoformados es menos intenso que el desarrollado por las células proliferadas de Schwann de los viejos tubos del ganglio.

(1) Veratti interpreta con gran timidez é indecisión los ovillos aparecidos en los ganglios heridos, pues se limita á manifestar que dichos ovillos se colorean mejor que en el estado normal y poseen mayor riqueza y complicación de fibras. No se decide, pues, á reputarlos como enteramente neoformados, ni se pronuncia siquiera acerca de su carácter regenerativo. «Non è possibile—declara—però asserire con sicurezza se questo insolito modo di presentarsi degli apparati pericellulari si a da considerarse como espressione di un processo degenerativo o rigenerativo». Por lo contrario, O. Rossi, al resumir en la *Rivista di pat. ner. e ment.* este trabajo de Veratti, se inclina á pensar que tales formaciones (los nidos) pueden ser en los ganglios patológicos más numerosos que los usuales (O. Rossi: *Rivista di pat. ner. e ment.*, vol. XII, fasc. 8, 1907.



Algunos detalles interesantes más aparecen en esta figura. Compruébase que la irritación traumática, productora cerca de la herida de ovi-

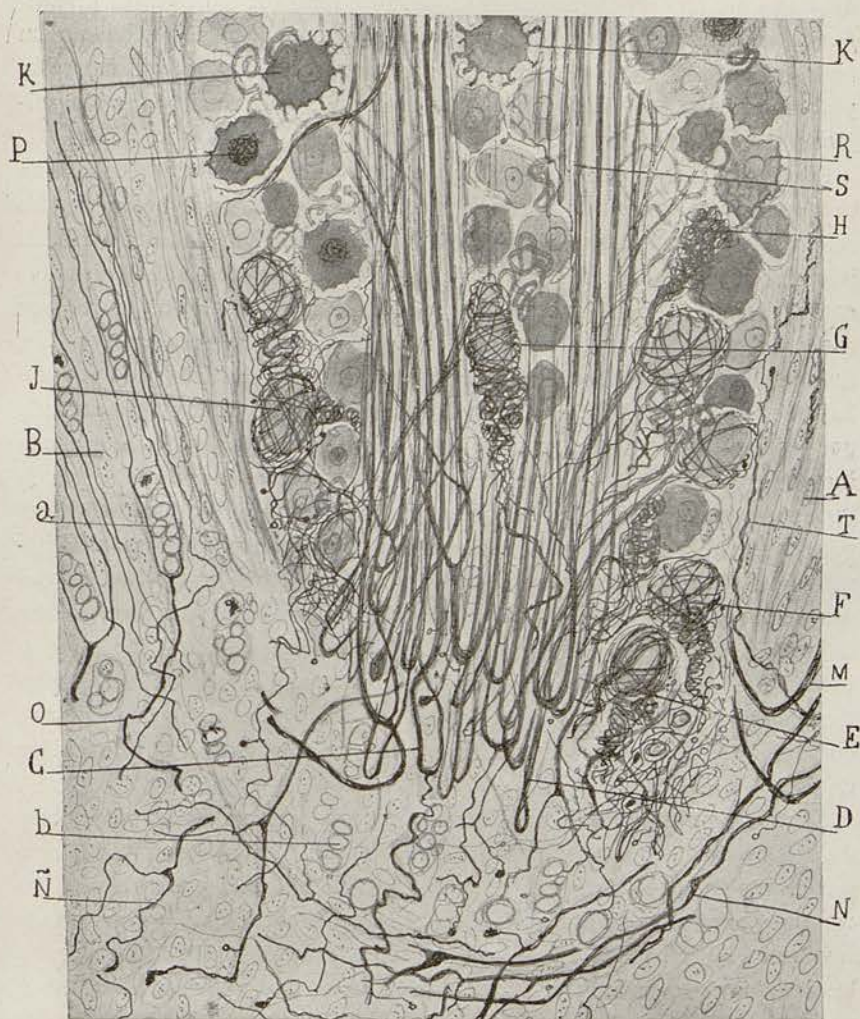


Fig. 5.—Corte axial de un ganglio sensitivo de la región sacra, cortado transversalmente (gato joven sacrificado seis días después de la operación). — A, cápsula conjuntiva del ganglio; B, raíz sensitiva vecina seccionada y en plena degeneración; C, D, arcos trazados al llegar á la cicatriz, por manojos de hebras (axones deshilachados y en vías de crecimiento); E, F, G, J, nidos pericelulares; H, nido periglomerular; K, células desgarradas; R, células esquinadas; P, células hirudiformes; M, fibras llegadas de otra raíz vecina; S, axones en fase deshilachada; N, Ñ, fibras sensitivas ramificadas en la cicatriz.

llos, espirales y plexos nerviosos, tradúcese en las partes alejadas del traumatismo por otras lesiones, entre las cuales citaremos: la célula que



nosotros hemos llamado *desgarrada* ó provista de cortas dendritas subcapsulares (K); la *célula esquinada* ó sembrada de fosetas superficiales, donde se alojan (R) elementos satélites proliferados, y la *célula hirudiforme*, es decir, un elemento cuyo protoplasma, poco colorable en su porción cortical, muestra en torno del núcleo cierta curiosa red de recias y oscuras neurofibrillas (P), á semejanza de las neuronas de la sanguijuela (tipo I de Apathy).

Reparemos, en fin, fuera del ganglio, una particularidad que confirma una vez más la observación de Lugaro acerca de la innervación de las raíces cortadas mediante axones extrínsecos arribados de la cicatriz. El instrumento cortante interrumpió, entre otras cosas, dos raíces situadas en la vecindad: una externa, no reproducida en la fig. 5, lo fué por fuera del ganglio, y sus axones, en plena actividad regenerativa (N), invaden, no sólo la cicatriz, sino el ganglio herido, deslizándose por debajo de la cápsula (M, T); y la otra raíz, situada por dentro (B), cortada por encima del ganglio y en plena degeneración walleriana, aparece innervada por fibras llegadas de la cicatriz y procedentes en definitiva de las expansiones periféricas de los corpúsculos del ganglio herido (O).

En suma, las disposiciones indicadas comprueban una vez más la opinión de Nageotte y Marinesco acerca de la génesis de los ovillos nerviosos de los corpúsculos sensitivos; ellas hacen también verosímil, según dejamos dicho, una acción atractiva de las células satélites y acaso también del soma vivo sobre las fibrillas neoformadas errantes. Demuestran, además, que los nidos pueden nacer, tanto de ramas glomerulares, como de la porción extracapsular del axon y de los ramos de bifurcación de éste.

En fin, la observación más atrás expuesta acerca de la producción de ovillos mediante brote á gran distancia de retoños recurrentes (experimento de aplastamiento de nervios ó de raíces), permite conjeturar que los ovillos normales de Dogiel constituyen síntoma cierto de la neoformación nerviosa y prueba inequívoca de que, en el largo itinerario de los nervios sensitivos, una condición normal ó patológica (¿fatiga, presiones excesivas, acciones tóxicas, etc.?), ha estimulado localmente el axon, promoviendo el estado de dendroamiboidismo ó de excitación neurocládica (1). Las fibras constitutivas de los nidos parecen todas de naturaleza sensitiva; no cabe, sin embargo, excluir la posibilidad de que alguna vez participen también en su construcción ramas regeneradas de origen motor ó simpático. Este último punto exige, empero, nuevas observaciones.

(1) De *κλαδος*, rama.



III. PENETRACIÓN, POR ESTÍMULO NEUOTRÓPICO DE FIBRAS SENSITIVAS ERRANTES EN EL CABO CENTRAL DE RAÍCES POSTERIORES. — Hecho bien conocido es, desde los magistrales estudios de Lugaro (4), la neurotización de las raíces posteriores degeneradas, llevada á efecto, ya por retoños del cabo periférico (porción de la raíz unida al ganglio), ya por fibras neoformadas de la cicatriz, ya, en fin, por conductores originados en la raíz anterior, más ó menos comprometida en el proceso inflamatorio.

La siguiente observación no tiene más novedad sino mostrar cómo muy pocas fibras aferentes de la cicatriz pueden inervar, por vía de ramificación múltiple, numerosos tubos nerviosos radicales degenerados y en fase de *bandas de Büngner*.

Tratábase de un gato de diez días, cuya médula lumbar, al nivel de la cola de caballo, fué casi completamente seccionada asépticamente. Cinco días después de la operación sacrificóse el animal, encontrándose la herida convertida en enorme quiste longitudinal, un poco anfractuoso. Por el lado ventral, este hueco hallábase rodeado de una capa bastante espesa del cordón antero-lateral, que se adelgazaba sucesivamente hacia las partes laterales; por detrás, el hueco desembocaba en pleno espacio subdural. Atacados por la inflamación y acaso también por el instrumento cortante, varios fascículos radicales sensitivos próximos á la médula aparecían interrumpidos y en plena degeneración. La interrupción se hallaba naturalmente por dentro del ganglio y á no mucha distancia de la entrada de las raíces en la médula espinal. Por consecuencia de la buena orientación sagital de los cortes, pudo explorarse toda la extensión un poco larga del cabo central, es decir, del segmento continuado con la médula.

Los cortes bien impregnados mostraron detalles interesantes. En las raíces degeneradas destacaban varias fibras viejas, pálidas, con abultamientos varicosos, que habían resistido al proceso degenerativo (fig. 6, E). Próximas al quiste, ó sea á la interrupción, espesábanse tales conductores, exhibiendo larga maza terminal, no rara vez lobulada (fig. 6, E). Al lado de estos axones más ó menos resistentes, veíanse muchos tubos de Schwann degenerados con rastros y acúmulos de gotas grasientas y en fase de *bandas de Büngner*.

Las fibras neoformadas yacentes dentro de estas bandas son numerosas. Como el nervio de que se trata representa el cabo central de una larga raíz de la cola de caballo, tales conductores jóvenes no pueden provenir del ganglio ó del cabo periférico; la enorme distancia de la porción sana de éste y la extensión del quiste medular y necrosis vecina, constituyen serios obstáculos para esta neurotización, dado el poco tiempo transcurrido después de la operación (cinco días).



El más somero examen revela que las fibras sorprendidas en el cabo yuxtamedular proceden de la cicatriz y penetran por la herida. Se las reconoce por su delgadez, color negro intenso y su carencia de mielina y de núcleos marginales. En la fig. 6, C, D, reproducimos algunos detalles

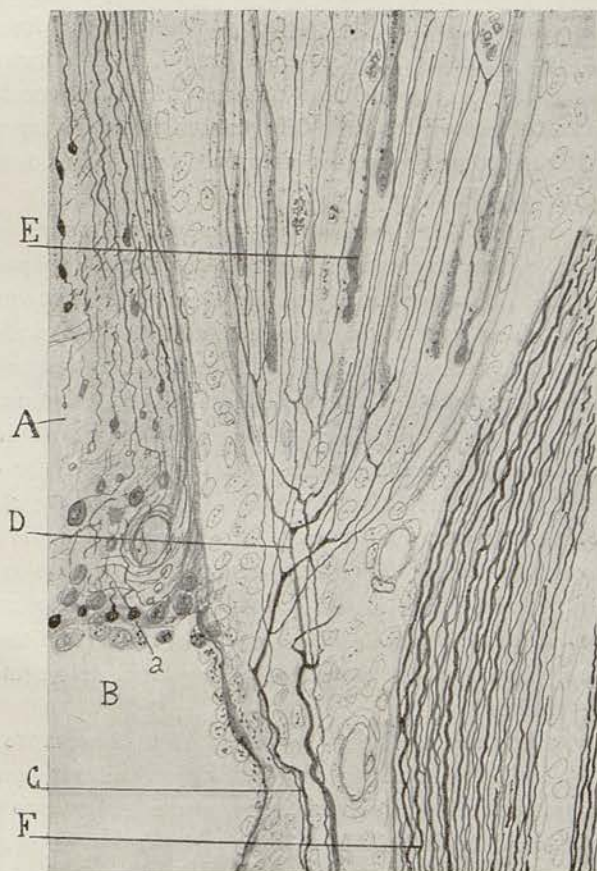


Fig. 6.—Sección contemporánea de la médula espinal y de una raíz posterior en el gato joven, que fué sacrificado cinco días después de la operación. — A, cordón posterior de la médula; B, quiste desarrollado en la herida; C, fibras nerviosas de la cicatriz penetradas en un cabo central de raíz posterior seccionada; E, axones viejos de la raíz posterior; D, ramas producidas en el hileo de la raíz; F, raíz sensitiva indemne.

acerca del origen y curso de estas fibras invasoras. Nótese que antes de su entrada son pocas; redúcense á dos axones gruesos y á dos ó tres más finos asociados en hacecillo. Ya antes de llegar al hileo del cabo central, las fibras gruesas divídense en ángulo agudo, orientándose resueltamente las ramas en dirección de las bandas de Büngner; las divisiones se multi-



plican todavía en el hileo y aun dentro de las bandas. Resulta, en virtud de todas estas ramificaciones, que dos fibras gruesas generan 22 ramas finas penetrantes en el cabo central. En su mayoría, caminan estas fibras finas entre las bandas de Büngner, es decir, por los intersticios del nervio; algunas, empero, invaden también los tubos viejos degenerados. Todas ellas marchan en línea recta sin dividirse ulteriormente.

Repárese también, y este es un hecho muy instructivo desde el punto de vista de la hipótesis neurotrópica, que varias ramas gruesas aferentes atraídas por ambos cordones radiculares suministran conductores á los dos. Pero el detalle más interesante consiste en que, perseguidos los axones aferentes hacia su origen, se reconoce fácilmente que provienen de un fascículo errante solitario, que marcha oblicuamente por el tejido cicatricial periquístico durante largas distancias. El estudio comparativo de una serie de cortes revela que el fascículo solitario emana de una región en donde penetran numerosas colaterales nacidas de radiculares sensitivas no lesionadas directamente y en plena fase de excitación divisoria.

Trátase, pues, de radiculares irritadas por el proceso flogístico, las cuales, además de proveer de ramas á la cicatriz, envían á largas distancias dos gruesas fibras, amén de algunas delgadas, al cabo central degenerado de la raíz seccionada. Lo solitario del fascículo errante, el largo itinerario por éste recorrido para abordar los haces radiculares degenerados, la orientación de las ramas terminales y, sobre todo, la excitación formativa de estas últimas al nivel del hileo radicular, como si de súbito recibieran algún estímulo de su capacidad divisoria, ¿no inclinan el ánimo en favor de una acción neurotrópica y hasta neurocládica, provocada por el cabo radicular central sobre las fibras jóvenes errantes?

Ofrecía especial interés averiguar cómo se terminaban en los referidos preparados las citadas fibras invasoras del cabo central y dirigidas hacia la médula. Como mostramos en la fig. 7, C, D, la mayoría de estos conductores, en cuanto se acercan al cordón posterior, se desorientan, vuelven rápidamente sobre sí mismos y constituyen largas ramas retrógradas. Del arco así trazado brota á veces fina colateral, terminada en la proximidad medular mediante fina esférula ó botón libre.

Aunque escasos, no faltan en absoluto conductores arribados al cordón posterior, donde parecen detenerse, ofreciendo gruesa y desproporcionada maza terminal (fig. 7, F). En fin, alguna hebra fina traspasa la frontera medular, ingresando en pleno cordón posterior, en cuyo complexus fibrilar se pierde de un modo desconocido (H). Esta última disposición, sin embargo, parece rara y su admisión definitiva exige nuevas observaciones, al objeto de asegurarnos de que no se trata aquí de esas fibras



centrifugas de la raíz posterior que Lugaro ha sorprendido incólumes después de la ablación de los ganglios raquídeos.

En el caso anterior, la interrupción de las radicales sensitivas se verifica á bastante distancia de la médula. Mas en el mismo animal á que se refiere la precedente observación sorpréndense también raíces inte-

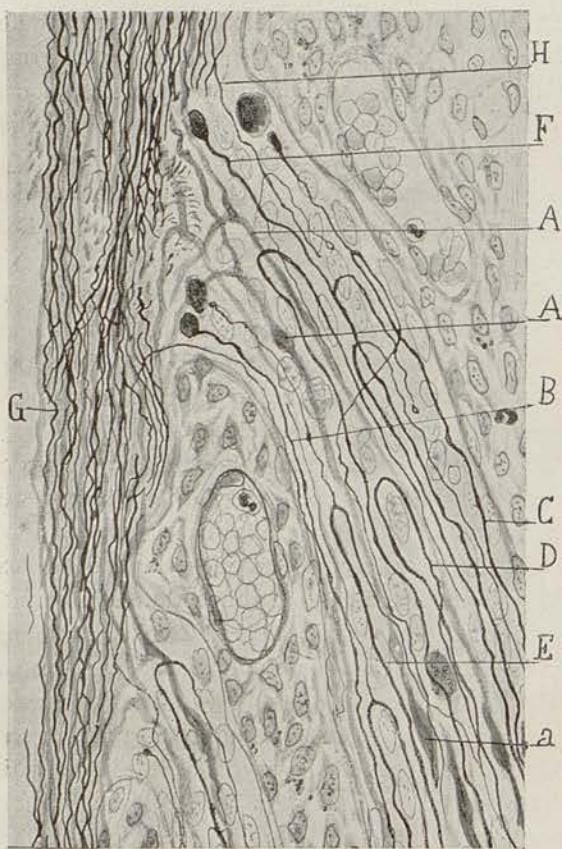


Fig. 7.—Porción unida á la médula de una raíz posterior seccionada por dentro del ganglio. Gato de pocos días, sacrificado cinco después de la operación.—A, fibras viejas de la raíz posterior; B, F, ramas nuevas acabadas, junto al cordón posterior, en botón de crecimiento; C, D, ramas retrógradas; E, fibra retrógrada que emitía una colateral fina dirigida á la médula; H, hebra penetrante en la médula.

rrumpidas por la inflamación traumática en el paraje mismo de su entrada en el cordón posterior desorganizado. El estudio de estas radicales interrumpidas á ras de la médula, ofrece esencialmente las mismas disposiciones que las descritas en las raíces seccionadas á distancia. Como aparece en la figura 8, los restos del segmento necrosado (degeneración



traumática) comprensivo de la bifurcación terminal y porción radicular vecina á la médula, han desaparecido en gran parte. Alejándonos algo hacia el ganglio, numerosos axones sensitivos muéstranse en fase de excitación divisoria, singularmente los de gran diámetro.

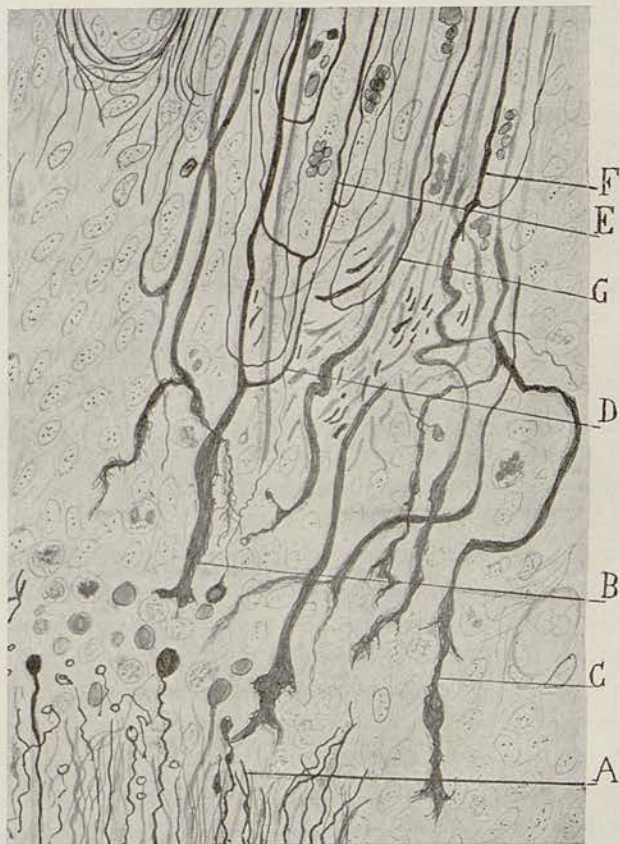


Fig. 8. — Porción yuxtamedular de una raíz sensitiva incólume, pero cuya entrada en el cordón posterior hallábase interceptada por destrucción de la sustancia blanca. — A, restos del cordón posterior; B, radicales gruesas acabadas mediante cabos hirudiformes; B, C, otros axones ramificados; E, F, axones que suministraban fibras retrógradas.

Diversidad de aspectos exhiben los cabos de estas fibras excitadas, que aparecen como flotantes en el tejido embrionario suprapial (figura 7, B, C). Algunos afectan desusado espesor, incúrvanse caprichosamente y terminan en una especie de cono truncado que da al conjunto aspecto de sanguijuela; otros, voluminosos también y como deshilachados, hállanse en plena actividad divisoria, ofreciendo ramificaciones cortas,



divergentes, sin tendencia á progresar hacia la médula (fig. 8, F). En fin, un gran número de radicales, después de enviar alguna endeble colateral hacia la médula, generan robustas ramas retrógradas que parecen huir de la zona inflamada, camino del ganglio. La abundancia de fibras arciformes es tan grande como en el caso anterior. Axones hay que generan dos y más ramas recurrentes (E). Tales ramos pueden ramificarse aun en su trayecto retrógrado, caminando durante largas distancias. En su mayoría yacen entre los tubos de Schwann, en pleno tejido conectivo intrafascicular.

El poco tiempo transcurrido después de la necrosis medular, nos impide averiguar si la raíz posterior interrumpida, sin enlaces con el cordón sensitivo, es capaz, andando el tiempo, de restablecer la bifurcación final y de elaborar un esbozo de cordón posterior, como asegura Abundo que se observa cuando, meses después de descartado un trozo de médula espinal, se explora el conducto raquidiano. Sin pronunciarnos sobre esta interesante cuestión, parécenos *à priori* poco probable el restablecimiento del cordón posterior en ausencia de médula espinal; porque, á nuestro juicio, la bifurcación de las raíces sensitivas, como todas las ramificaciones nerviosas, no son acontecimientos anatómicos predestinados, consecuencia necesaria de tendencias internas del protoplasma neuronal, según creen Abundo y Dustin, sino mero efecto reactivo del protoplasma axónico á los estímulos del ambiente; y nos confirma en esta presunción el recuerdo de todas esas complicadas, variadísimas é incuestionablemente imprevistas ramificaciones de los axones en vías de regeneración por causa traumática, ó los de las neuronas transplantadas y transformadas, según se sabe, de monopolares en multipolares.

Además, cuando las células sensitivas ingertadas sobreviven al trasplante con la pérdida del axon, no se advierte en ellas tendencia á regenerar un solo y único cilindro eje, con sus ramas de bifurcación interna y externa, sino numerosas fibras esparcidas sin orden, y que si crecen hacia la substancia blanca lo hacen siempre al azar, ó, mejor dicho, á merced de los diversos impulsos neurotrópicos recibidos.

Las precedentes observaciones acerca de la recurrencia de las fibras neoformadas en las fronteras del cordón posterior, sugieren la hipótesis defendida por Lugaro, de la existencia en la médula espinal de estímulos neurotrópicos negativos para las ramas nerviosas. Hemos visto que, en efecto, la mayoría de las fibras neoformadas parece detenida cerca del cordón posterior por obstáculo imprevisto, quizás por algún principio exudado de la substancia blanca alterada y hostil á las mazas nerviosas asaltantes. Que este impedimento no es solamente de carácter mecánico, lo persuade el hecho de que el arco de retorno yace en cada fibra



á diversas distancias del cordón posterior necrosado, aunque siempre en la vecindad medular.

Pero apresurémonos á declarar que las citadas observaciones no son suficientes para resolver la cuestión planteada por el neurólogo de Florencia. Necesario sería para ello repetir los experimentos de ablación de la raíz posterior, descartando mediante un análisis escrupuloso todas las causas posibles de error, entre las cuales contamos, sobre todo, estas dos: la conservación relativa de algunas radicales sensitivas separadas de su centro trófico, persistencia de que presentamos ejemplos (fig. 7, A), y la presencia de conductores motores centrífugos. Importa, en todo caso, hacer notar que los hechos de detención y retrogradación de fibras sensitivas neoformadas que dejamos apuntados, no implican necesariamente la existencia de un neurotropismo negativo normal, medular ó del cordón posterior alterado; bastaría para explicarlos imaginar simplemente la ausencia en la médula de estímulos quimiotrópicos. Estos estímulos, actuantes sobre las mazas mientras circulan por las bandas de Büngner, cesarían en cuanto las células de Schwann desaparecen, paralizándose por ende la progresión y orientación de las fibras neoformadas hacia el cordón posterior.

IV. NEUOTROPISMO POSITIVO DE LAS BANDAS DE BÜNGNER DE LA RAÍZ ANTERIOR CON RELACIÓN Á LAS FIBRAS CORDONALES. — Sabido es que las fibras cordonales de la médula espinal, interrumpidas por un traumatismo, entran en turgescencia ó excitación divisoria y producen una arborización terminal que, extendiéndose por la porción necrótica de la médula, es capaz de invadir más ó menos completamente la cicatriz.

Las ramificaciones regenerativas de los tubos nerviosos cordonales interrumpidos, adivinadas por Stroebe (50) (decimos adivinadas, porque con el método de que se sirvió, no pueden verse bien), demostradas por nosotros (52), con ayuda del proceder del nitrato de plata reducido, y bien estudiadas después por Marinesco (53), O. Rossi (36), Guido Sala y Cortese (59), Schwarz (60), Dustin (9), etc., pueden observarse fácilmente en todos los cordones, pero muy singularmente en el anterolateral, cuando se produce una sección parcial ó total de la médula lumbar. A este propósito son de preferir los mamíferos de pocos días, porque la capacidad regenerativa de los axones es muy superior á la de los animales adultos. Nosotros hemos escogido para nuestros recientes experimentos, gatos de ocho á veinte días y perros de una semana ó recién nacidos, los cuales han sido sacrificados cuatro, cinco y seis días después de la sección medular. Los cortes mejores son los longitudinales, pero orientados en el sentido mismo de las raíces anteriores.

El examen de los cortes medulares muestra lesiones en la substancia



blanca y en la gris. En la blanca (cordón antero-lateral), aparecen dos zonas sucesivas: *la zona necrosada*, próxima á la herida é invadida por numerosos leucocitos; y *la zona metamórfica* ó regenerativa, situada por encima. Dejando á un lado *la porción necrosada*, salpicada de bolas sueltas y recorrida por recios axones provistos de mazas y botones de retracción, y fijándonos en la metamórfica, adviértense señales evidentes de regeneración. En ella figuran numerosos axones terminados por ramificaciones penetrantes en el territorio necrosado, cilindros-ejes finos acabados en botones de crecimiento, y en fin, ciertos conductores cuyos cabos exhiben mazas deshilachadas y apéndices finos y flexuosos, que recuerdan, como hace notar atinadamente O. Rossi, (36) las raicillas de las plantas bulbosas.

Para el estudio de los componentes cordonales de las raíces anteriores degeneradas, el territorio preferible es el transitivo entre la zona necrosada y la metamórfica. En tal paraje, rico en ramas neoformadas, las raíces motrices ó centrifugas, así como sus neuronas de origen, han sido parcial ó totalmente destruídas por el proceso flogístico. Y á los cinco ó seis días de la lesión, estas raíces, reabsorbida la mielina y los trozos de los viejos axones, ofrecen el aspecto del cabo periférico de un nervio seccionado, es decir, que exhiben bandas de Büngner bien modeladas y reliquias de conglomerados grasientos. Entre las bandas suele destacar tal cual cilindro-eje motor más ó menos bien conservado, á causa sin duda de la persistencia de su neurona de origen (fig. 9). Ahora bien; en estos haces radiculares, medio vacíos ó enteramente privados de axones motores, es donde cabe sorprender el curioso fenómeno de la emigración de fibras cordonales de la médula espinal.

El caso más común es el que reproducimos en la figura 9, c. Una fibra cordonal gruesa, en fase de excitación divisoria y bien reconocible por su apetencia hacia la plata coloidal, carencia de vaina medular y desigualdad de contorno, llega enfrente de la raíz motriz y en tal paraje se bifurca: una rama, frecuentemente más delgada, continúa el curso originario, hasta abordar los bordes de la herida ó su vecindad, donde se ramifica ó acaba por un extremo espesado y como deshilachado; la otra dirígese hacia afuera, traza una curva cuyo radio mira hacia la posición del centro trófico é ingresa resueltamente y sin titubeos en la raíz anterior, dentro de la cual se prolonga en línea recta durante largos trayectos.

Otro caso frecuente, aunque algo menos que el anterior, es el representado en la figura 9, b, d. En vez de una rama de bifurcación, el tubo progenitor envía á la raíz dos colaterales robustas, generalmente distanciadas por casi todo el espesor de la raíz anterior. La fibra cordonal descendente, después de tales desprendimientos, se mantiene gruesa, á veces se adel-



gaza y sigue su curso hacia la herida, aunque no es raro verla también acabar á poco trecho. En fin, la segunda colateral afecta en ocasiones trayecto recurrente (*d*).

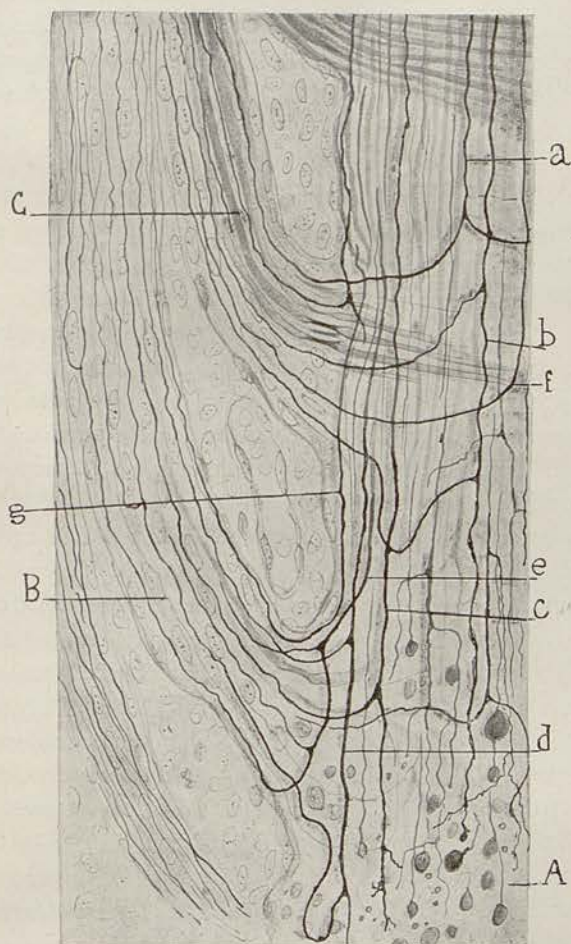


Fig. 9.—Corte longitudinal del cordón antero-lateral del gato de pocos días, en que se seccionó la médula lumbar. — A, borde de la herida del cordón anterolateral; B, C, raíces anteriores invadidas por ramas cordonales neoformadas; *a*, *b*, fibras funiculares que daban ramas á las raíces motrices; *e*, axon que suministraba tres ramas á una raíz; *g*, axon emigrado y no ramificado; *d*, axon que daba una rama retrógrada, etc. (En esta figura se han reunido las fibras encontradas en tres cortes sucesivos).

El tercer caso es también interesante. Toda la fibra cordonal, después de trazar un arco amplio, invade la raíz (*g*). Estas fibras terminales podrían confundirse con ciertos conductores aferentes radiculares de que



luego hablaremos; de ellos discrepan principalmente por su mayor espesor y el largo trayecto intramedular que describen. De todos modos, la duda acerca del carácter terminal de tales conductores cordonales no es siempre descartable. Cabe siempre la posibilidad de que fibras aparentemente terminales representen ramas de bifurcación ó colaterales descendentes de axones funiculares mutilados por la hoja del microtomo.

La incertidumbre, sin embargo, no es posible en el cuarto caso, reproducido en la figura 9, *e*, donde se advierte que todo un tallo cordonal ingresa en la raíz anterior, á la que suministra dos ramas colaterales y una terminal. En fin, no son raros ejemplos de fibras funiculares que, llegadas á la raíz, se bifurcan en ángulo agudo, marchando sus ramas por entre los tubos motores durante largas distancias (fig. 12, *F*).

De todas estas colaterales y terminales, las más impresionantes y particularmente significativas desde el punto de vista de la teoría neurotrópica, son las ramas arciformes que emanan de axones longitudinales profundamente emplazados, y sobre todo las colaterales recurrentes, penetrantes en la raíz después de haber rebasado el nivel de los manojos radiculares. De estas últimas ramas recurrentes presentamos en la figura 9, *b*, *d*, dos ejemplos.

En la preparación copiada en la figura 9, llamaba la atención el carácter ascendente de todas las fibras funiculares invasoras de las raíces motrices, conforme se advierte por la dirección de éstas, que, según es sabido, es ascendente en la región lumbar. Sin embargo, en el lado opuesto de la herida, no representado en dicha figura, pudieron sorprenderse también, aunque con más rareza, fibras cordonales descendentes, cuyas neuronas de origen deben residir por encima de la lesión.

Por lo que toca á la abundancia de tales conductores cordonales extra-  
viados, existen grandes diferencias en los haces radiculares. En los algo alejados de la herida, y yacentes en el confín de la región metamórfica del cordón anterolateral, casi todos los axones motores aparecen íntegros; entre ellos habita una, dos, á veces ninguna, de las citadas ramas extra-  
viadas. Por el contrario, cerca de la herida, donde los haces radiculares carecen de axones motores ó conservan muy pocos y el fascículo motor aparece relleno de bandas de Büngner (figs. 9, *B* y 12, *E*), las fibras cordonales son numerosísimas, hasta el punto que en algunos casos constituyen un manojito centrifugo de fibras delgadas, capaz de ser confundido á un examen somero con una raíz normal aunque singularmente adelgazada.

Dentro de las raíces, las ramas medulares recorren grandes distancias. Alguna vez las hemos visto acabadas por una pequeña bola de crecimiento ó iniciando alguna ramificación. La marcha intra-radicular debe



ser muy rápida, puesto que á los cinco días de la operación han ganado ya cerca de medio milímetro.

Muy interesante y significativo para la teoría fuera determinar la suerte ulterior de semejantes conductores dislocados. De pensar es que se atrofien en cuanto, pasada la primera semana, se inicie en la substancia blanca medular el período de reabsorción de las fibras neoformadas. Punto es este que merece, de todos modos, nuevas y más puntuales observaciones. Curiosísimo y de gran alcance resultaría, por ejemplo, averiguar si tales axones intrusados en la raíz motriz llegan á recubrirse de células de Schwann y á transformarse (lo que *à priori* parece poco verosímil) en conductores motores.

La precedente observación prueba que en las raíces nerviosas no existe ninguna substancia neurotrópica negativa capaz de estorbar el crecimiento y la nutrición de las fibras escapadas de los cordones. Y adquiere gran verosimilitud la opinión de que las bandas de Büngner de la raíz anterior, producidas con ocasión de la destrucción de las neuronas motrices, dejan en libertad alguna materia susceptible de atraer las ramas de los axones cordonales. La opinión de Lugaro (18 y 19), para quien los axones de los centros serían repudiados por las células de Schwann en virtud de un neurotropismo negativo, parece, pues, poco verosímil.

Se objetará quizás que la salida de dichas ramas es fenómeno accidental y fortuito, subordinado á condiciones puramente mecánicas, acaso al choque de la corriente protoplásmica del axon contra el obstáculo transversal representado por las radicales motrices. Pero sobre que á menudo la fibra extramedular brota antes ó después del plano ocupado por la raíz, recordemos que precisamente las colaterales emigratorias abundan en aquellos preparados en que los axones motores fueron desde el principio entera ó casi enteramente destruídos. Particularmente significativas son las colaterales y terminales recurrentes; su marcha sin titubeos hacia la raíz después de haber avanzado más allá de ésta, en dirección de la zona necrótica, constituye fenómeno difícil de comprender fuera de la hipótesis neurotrópica.

Por lo que hace á las lesiones de la substancia gris, nada importante podemos consignar. En la vecindad de la herida, las neuronas motrices y funiculares exhiben las alteraciones bien conocidas desde los trabajos de Stroebe (50), nosotros (52), Da Fano (43), Marinesco (53), O. Rossi (36), G. Sala (54), Miyake, etc., á saber: palidez de las neuronas en presencia del nitrato de plata coloidal, cromatolisis, núcleo marginal que abulta en el contorno protoplásmico, esfericidad del soma, etc.

Además de tales modificaciones, nosotros hemos advertido recientemente en las neuronas vecinas de la herida una alteración morfológica



que acaso tenga algún alcance teórico. Consiste en la sucesiva reabsorción de las expansiones y la transformación de la célula multipolar en un elemento monopolar, piriforme, que recuerda enteramente el *neuroblasto* de His. Los tipos neuroblásticos más perfectos encuéntrase entre las neuronas funiculares medianas y pequeñas del asta anterior y de la región central. De ordinario se tiñen pálidamente por la plata coloidal. En ellos, el núcleo yace periférico, casi tocando á la membrana, mientras que el protoplasma acumulado en el polo opuesto prolóngase en recia expansión, verosímilmente representada por el axon persistente. Tan curioso retorno á la época embrionaria se observa más raramente en las neuronas motoras, en las cuales descúbrense de preferencia fases de transición entre el estado monopolar y el multipolar, esto es: *a*, soma ovoideo ó fusiforme, de que emanan dos gruesas expansiones polares y algunos apéndices laterales menos robustos; y *b*, figura en huso, provista de dos expansiones polares, una representada por el axon y otra por una espesa dendrita radial. Este último estadio precede muy de cerca á la fase neuroblástica y parece homólogo del estado de bipolaridad señalado recientemente por nosotros (57) en la evolución de los neuroblastos de la médula embrionaria.

Los referidos neuroblastos yacen cerca de la porción necrosada de la herida, en un territorio en donde, por causa de la inflamación y de la fragmentación degenerativa de las fibras, la substancia gris aparece sembrada de bolas finas y de fibras varicosas. En las regiones en que los plexos de la substancia gris hállanse poco modificados, mántiènese la figura neuronal ordinaria, aunque mostrando los signos característicos de la cromatolisis y de la hinchazón hidrópica. Añadamos que, en general, la coloración neurofibrillar se acentúa desde los parajes donde yacen las células de tipo neuroblástico hasta aquéllas en que residen corpúsculos normales.

¿Qué significación entraña este fenómeno de retrogradación morfológica? ¿Es anuncio de regresión y muerte, ó más bien de futuro resurgimiento y neoformación? La pérdida de las expansiones, ¿constituye mero efecto de la destrucción de las colaterales nerviosas de que la neurona recibía los impulsos dinámicos y neurotrópicos?

Esta última consideración plantea el arduo problema del origen de las dendritas y lleva implicado el postulado de que éstas, como defendimos en otro tiempo (51), no son sino el efecto de las influencias neurotrópicas de fibras ó colaterales nerviosas, sensitivas ó sensoriales, arribadas tardíamente al foco nervioso.

En este orden de ideas entra la tesis ingeniosamente sostenida por Kappers (38) en estos últimos años, según la cual, no sólo la forma y



orientación de las dendritas, sino hasta la posición y dirección de las neuronas motrices resultarían función del influjo de las fibras aferentes. Para dar base objetiva á tan interesante concepción, entrégase el sabio neurólogo de Amsterdam á una serie de investigaciones comparativas muy sugestivas, por el terreno de la anatomía comparada, tomando como objeto preferente de estudio los focos motores del bulbo de los vertebrados inferiores. La hipótesis de Kappers parece muy plausible y armoniza bien con el estado actual de nuestros conocimientos neurogénicos. Su consagración definitiva, empero, exige todavía, á nuestro modo de ver, la realización de estudios ontogénicos comparativos referentes á los focos motores y sensitivos.

V. NEUOTROFISMO INDIFERENTE DE LA MÉDULA ESPINAL PARA LAS COLATERALES MOTRICES NEOFORMADAS. — Consignado dejamos que Lugaro probó, mediante experimentos de sección y ablación de las raíces posteriores, que el cabo central de éstas, es decir, el continuado con la médula espinal, después de degenerar, es invadido no sólo por las fibras neoformadas en el segmento nervioso continuado con el ganglio, sino también por ramas procedentes de la raíz anterior. Si en vez de seccionar las raíces sensitivas se extirpan los ganglios, las fibras sensitivas no penetran en el citado cabo central, pero sí conductores motores neoformados y axones aberrantes, al parecer normales, que van desde las raíces anteriores á las posteriores. Mas para que semejante invasión por fibras centrifugas se efectúe, es condición precisa que la raíz anterior haya sido más ó menos comprometida por el acto operatorio ó por el proceso flogístico consecutivo. Las fibras motrices interesadas en la raíz posterior podrían prolongarse hasta la médula, en cuyas fronteras se detienen constantemente.

Reflexionando acerca de esta repugnancia de las fibras motoras á penetrar en el cordón posterior, nos hemos preguntado si no ocurriría lo mismo con conductores sensitivos penetrados en la raíz anterior ó con fibras motrices retrógradas, es decir, nacidas á distancia durante el trayecto extramedular de las radicales anteriores.

Nuestros experimentos, encaminados á provocar la penetración de radicales sensitivas en el cordón anterior de la médula, no han dado todavía resultados bien definidos. Numerosas causas de error, difíciles de evitar, han estorbado llegar á una conclusión precisa. Una de ellas consiste en la invasión contemporánea de la cicatriz intermedular y de los tejidos vecinos por buen número de conductores sensitivos y motores neoformados que es imposible perseguir suficientemente para determinar su origen y trayecto.

En cambio, los experimentos de invasión retrógrada de las raíces an-



teriores y médula espinal han sido singularmente afortunados. Verdad es que nada es más fácil, según dejamos expuesto más atrás, que provocar fenómenos de deshilachamiento en las raíces anteriores y producción exuberante de ramas nerviosas directas ó retrógradas. Basta apretar extra ó intraduralmente un grupo de cordones de la cola del caballo, del gato, perro ó conejo de una semana para encontrar cuatro ó seis días después de la operación gran cantidad de axones transformados en haces de fibrillas, muchas de las cuales se dividen y subdividen bajo la vaina de Schwann, creciendo en dirección retrógrada.

La simple sección de las raíces anteriores provoca también la formación de fibrillas retrógradas en el cabo central. En fin, cuando se exploran las radicales motrices consecutivamente á ciertos experimentos de sección medular, es frecuente observar á distancia de la lesión raíces motoras no comprometidas por el traumatismo, que se presentan en plena reacción de deshilachamiento y de neoformación. Acaso en este último ejemplo el escalpelo que hirió la médula produjo al mismo tiempo la compresión enérgica de las raíces contra la pared del conducto raquídeo.

En todos los casos citados es facilísimo observar y perseguir los haces de fibras neoformadas. Naturalmente, una buena observación exige la ejecución de cortes longitudinales, en lo posible paralelos al itinerario de las radicales. De preferir para el examen son aquellas raíces en que, por estar alejadas del paraje en que obró el estímulo, exhiben escaso caudal de fibrillas retrógradas. Por lo demás, estos conductores neoformados reconocense facilísimamente, tanto por su delgadez inusitada como por su carencia de mielina y color intensamente negro ó café.

No estará de más recordar aquí brevemente la composición de un haz radicular normal de los animales (perro y gato de diez á veinte días).

Consta cada manojo, según mostramos en la fig. 11, de un gran número de tubos medulados gruesos y de algunos pocos conductores, también medulados, pero de diámetro menor (c). Todos ellos marchan rectilíneos, aparecen rodeados de un espacio claro correspondiente á la mielina y presentan bien marcadas estrangulaciones de Ranvier. Los preparados del nitrato de plata reducido (reacción III) les prestan tono café claro ó amarillento, tonalidad que se intensifica en las fibras finas y en la porción estrangulada de los axones.

De notar es la última estrangulación, sumamente pronunciada, que reside, según probó hace tiempo Ranvier, cerca de la emergencia de la radicular (fig. 11). Este detalle tiene su importancia para distinguir, al primer golpe de vista, una fibra normal de cualquier elemento extraño á la constitución de la raíz. En efecto, toda fibra extraña á la constitución normal del haz radicular se conoce fácilmente por su color negro,



delgadez notable y carencia de estrangulaciones. Otro importante rasgo distintivo consiste en que las fibras nuevas ofrecen á menudo dicotomías y acaban en diminutas mazas terminales, atributos por completo ausen-

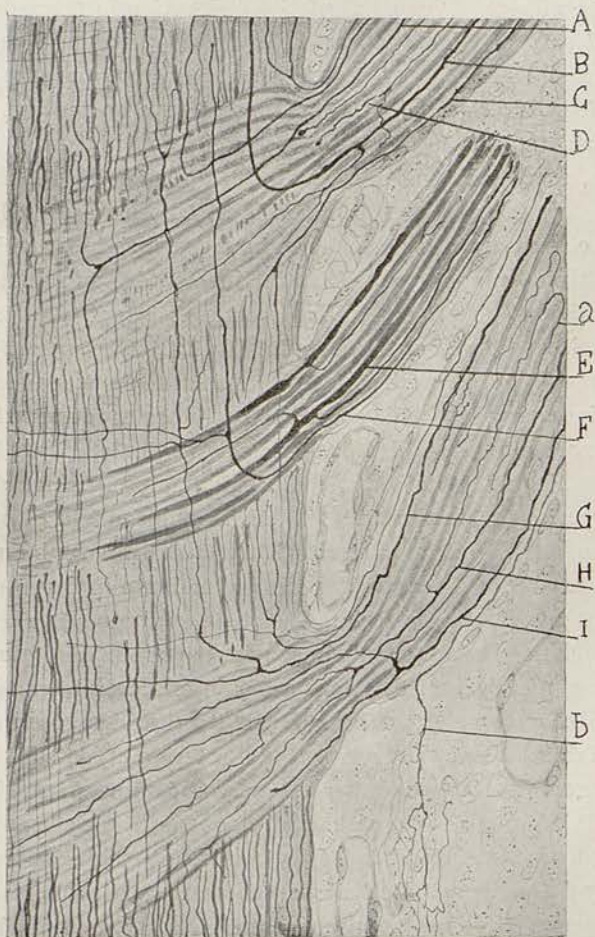


Fig. 10.—Invasión de la médula espinal por colaterales motrices retrógradas nacidas en las raíces anteriores. Gato de pocos días, sacrificado cuatro después de la operación.—A, B, C, D, ramas motrices recurrentes que invaden la médula espinal; E, axon casi normal de que emanaban dos colaterales; F, rama que se hacía longitudinal; H, I, ramas invasoras, varias veces divididas; a, ramitas arciformes; b, rama nerviosa que, barrenando la membrana de la raíz, se distribuye en el tejido conjuntivo perimedular. (En esta figura se han dibujado las fibras halladas en tres cortes sucesivos).

tes en las radicales normales, cuyas colaterales retrógradas (que no se tiñen por el método del nitrato de plata reducido), emergen muy adentro, en el espesor del cordón anterior, y más comunmente en plena subs-



tancia gris, y no pueden, por tanto, confundirse nunca con las fibras aferentes de origen exterior.

Puntualicemos ahora algunos detalles referentes á las mencionadas fibras retrógradas. Si la causa flogística ó el estímulo mecánico (experimento de deshilachamiento) obran á distancia (y este es el caso más favorable para el examen), las radicales anteriores aparecen normales, es decir, afectando dimensión, forma y estructura ordinarias, coloración pardo-amarillenta y ninguna señal de excitación divisoria. Pero entre estos tubos, al parecer indiferentes al proceso formador, destacan acá y allá ciertos conductores amedulados finos, coloreados por la plata en pardo negro, exentos de núcleos marginales y dirigidos evidentemente hacia la médula, como lo prueban la inclinación de sus ramas y la posición de sus botones terminales. Exploremos el origen y la terminación de estas curiosas fibras extrínsecas (fig. 10, A, B, C, etc.).

Perseguidas hacia la periferia, no tardaremos en reconocer que tras variable itinerario se continúan, bien con colaterales retrógradas nacidas en axones poco alterados, bien con fibras de radicales en pleno deshilachamiento. Seguidas hacia la médula espinal, marchan por las raíces en dirección rectilínea, sin titubeos, y llegadas que son á la frontera medular, invaden resueltamente el territorio de la substancia blanca, dentro del cual se ramifican. Tocante á su comportamiento intramedular, danse varios casos que vamos á referir:

El más sencillo y bastante común consiste en que la fibra aferente, después de chocar contra los tubos del cordón antero-lateral, traza una curva de concavidad externa y toma dirección longitudinal, recorriendo trayectos variables, á veces muy largos, del referido cordón (fig. 10, B, F). El curso seguido en éste puede ser ascendente ó descendente. El segundo caso (fig. 10, A), también frecuente, es el de las fibras aferentes, que se bifurcan á distintas profundidades de la substancia blanca en ramas ascendentes y descendentes. De ordinario estas fibras dicotomizadas poseen espesor superior al de las no bifurcadas. En lugar de división en rama ascendente y descendente, ciertas fibras generan en ángulo agudo, dos ramos de igual dirección (fig. 10, H). En fin, más raramente se encuentran conductores aferentes que, antes ó poco después de adquirir orientación longitudinal, emiten una ó dos colaterales transversales que, asociadas á las radicales, penetran profundamente en el espesor de la médula (F, G). Añadamos aún que todas estas fibras emiten, á menudo, ramos secundarios y terciarios. De ordinario, la rapidez de crecimiento de estas ramas y las facilidades halladas para su instalación entre los tubos cordonales impiden sorprender sus mazas ó botones terminales.

Cuando el punto de emergencia de la raíz motora reside cerca de la



herida ó de la lesión traumática, las fibras invasoras son abundantísimas. Reconócese entonces con gran facilidad su nacimiento en axones motores y que representan colaterales, rápidamente divididas en ramas centrifugas y retrógradas (fig. 11, B, C). A veces, las ramas retrógradas forman compactos manojos no disociados hasta la proximidad de la médula. Como es natural, la copiosidad de fibras aferentes opone obstáculo á su entrada en dicho centro nervioso, como lo atestigua la presencia frecuente de mazas y hebras recurrentes en las fronteras del cordón antero-



Fig. 11.—Detalles de un manejo radicular en plena producción de ramas directas y retrógradas. Gato joven sacrificado cuatro días después del apretamiento de las raíces anteriores.—A, cordón antero-lateral de la médula; B, C, axones de la raíz anterior en plena actividad divisoria; D, ramas detenidas en la frontera medular; a, ramita brotada dentro del cordón antero-lateral; c, una fibra fina penetrante en la médula.

lateral (fig. 11, D). Por lo demás, estos hacecillos compactos son la progenie de un axon deshilachado.

En resumen, los hechos que acabamos de exponer demuestran que el interior de la médula espinal carece de sustancias quimiotrópicas negativas capaces de rechazar las colaterales motrices retrógradas de nueva formación. Una acción quimiotrópica positiva sobre las referidas ramas motrices parece poco probable si tenemos en cuenta la dispersión de éstas á través del cordón anterior y sus frecuentes cambios de dirección intramedular. En nuestro sentir, la penetración de las susodichas fibras en la médula obedece, en primer término, al *vis à tergo* de Held, es decir, al



crecimiento incesante del protoplasma nervioso, y en segundo término á la influencia mecánica de los intersticios longitudinales de la raíz anterior, que representan, con la membrana perirradicular, verdaderos cauces orientadores del movimiento amiboide.

Las fibras colaterales retrógradas no son los únicos conductores capaces de invadir las raíces anteriores y la médula espinal. En preparaciones en que á causa de la vecindad de una ancha herida medular, seguida de producción quística, había dado ocasión á la destrucción de muchas neuronas motoras y á la consiguiente desorganización de varios manojos radiculares, hemos observado en éstos, además de fibras brotadas del cordón anterior, otros conductores llegados evidentemente de la cicatriz.

En la figura 12, A, presentamos este curioso modo de inervación de una raíz motriz degenerada. Notemos (y este hecho posee valor general) que la neurotización mediante fibras extrañas efectúase precisamente por la puerta de entrada de la raíz, esto es, por el lado desorganizado y desprovisto, por tanto, de membrana protectora, y jamás á través de la cubierta y durante el trayecto del cordón nervioso.

Las ramas extrínsecas aludidas, una vez dentro de la raíz, marchan en dirección centrífuga, bifúrcanse á menudo al tropezar con gotas ó masas grasientas y pueden perseguirse durante largos trayectos. Repárese la presencia á veces al nivel de la puerta de entrada de finas colaterales retrógradas.

La invasión de los manojos radiculares por fibras cicatriciales errantes ¿obedece á influjos neurotrópicos? El caso actual se parece mucho al más atrás referido de raíces posteriores desorganizadas é invadidas por conductores sensitivos errantes y debe, por tanto, atribuirse á las mismas causas. Sin embargo, en el ejemplo de ahora el tropismo parece menos evidente. Dada la abundancia de fibras neoformadas circulantes por la cicatriz y admitida su tendencia á inervar toda la masa disponible de tejido conectivo embrionario, pudiera pensarse que al insinuarse en la raíz aquellos conductores no han sido movidos por ninguna condición química, sino que han llenado mecánicamente el hueco ofrecido á su tendencia expansiva. No obstante, como mostramos en la figura 12, A, el trayecto retrógrado de algunos paquetes de fibras inavasoras y la excitación divisoria sufrida por éstas una vez arribadas al manajo radicular (B), parecen implicar un influjo atractivo y trófico de las bandas de Büngner de la raíz degenerada.

VI. INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES MECÁNICAS SOBRE LA DIRECCIÓN Y RAMIFICACIÓN DE LAS FIBRAS NEOFORMADAS.—Cuanto autores, desde Ranvier y Vanlair, se han ocupado de la dirección y crecimiento de las fibras regeneradas del cabo central de los nervios seccionados, han reconocido



la grande influencia que sobre el curso de aquéllas ejercen los obstáculos mecánicos. Las mazas de crecimiento que se deslizan por dentro de la membrana de Schwann en el fenómeno de Perroncito; los axones extra-  
viados del cabo central, generadores de ovillos y pelotones complicados; los que, según demostramos nosotros, rodean y costean las fibras muscu-



Fig. 12.— Corte longitudinal de las raíces anteriores de un gato á quien se produjo una herida medular. —A, fibras sensitivas de la cicatriz invadiendo una raíz anterior degenerada; B, fibras invasoras ramificándose al nivel de un conglomerado grasiento; C, porción necrosada del cordón anterior en la inmediación de la herida; D, E, fibras cordonales penetrantes en un haz radicular motor.

lares, formando en torno de éstas plexos complicados; los que resbalan y marchan durante grandes distancias por debajo del neurilema, de una aponeurosis ó de la cubierta de un ganglio; los que caminan ciegamente á lo largo de los vasos, etc., son otros tantos ejemplos reveladores de la tendencia que poseen las mazas y retoños nerviosos á detenerse ante los obstáculos, moldeándose y marchando sobre ellos como sobre cauces có-



modos y seguros. Si, cual ocurre en el cabo periférico de los nervios interrumpidos ó durante el fenómeno de deshilachamiento, el espacio en que se mueve el axon afecta forma de tubo larguísimo, las fibras nuevas crecen rápidamente por él y marchan rectilíneas como el tren sobre sus rieles. Una figura saciforme ó tubular cerrada provoca la creación de espirales; la esferoidal, pelotones ú ovillos.

A ejemplo de Vanlair, nosotros hemos creado obstáculos artificiales á la progresión de las fibras jóvenes y confirmado la capacidad que poseen éstas de insinuarse por los intersticios de cuerpos extraños, á condición de que en los huecos hayan previamente penetrado el exudado plasmático y colonias de corpúsculos conectivos. El hueso ó el diente decalcificados, trozos menudos de corcho ó de médula de saúco, el papel secante, cuantas materias, en fin, poseen espacios comunicantes algo capaces suelen ser en un plazo relativamente largo (diez á treinta días) atravesadas por algunos conductores.

Los cuerpos extraños ofrecen, sin embargo, positivas resistencias á la neurotización. El aire y los leucocitos que rellenan las oquedades al principio, parecen rechazar ó detener las mazas de crecimiento. Más rápidos é instructivos efectos se logran interponiendo entre los cabos de un nervio seccionado, trozos de otros tejidos, y mejor aún, repliegues ó mazas dislocadas de tejidos vecinos, tales como el muscular y el adiposo. El perro joven, cuyos espacios perinerviosos son ricos en grasa, préstase fácilmente á este experimento, que, en ocasiones, se verifica también espontáneamente después de la operación, con dislocación del cabo central y su dispersión en la trama grasienta.

En la fig. 13 presentamos la invasión de un lóbulo adiposo del perro joven, dieciséis días después de la sección del nervio ciático. A la progresión de las fibras nuevas, las células adiposas han opuesto resistencia, aunque no insuperable, dado que el cabo periférico aparece bastante bien neurotizado. Nótese cómo los axones han aprovechado los intersticios celulares, concentrándose en ellos y abrazando íntimamente la membrana del corpúsculo adiposo. Esta progresión no se ha verificado sin detenciones y sin titubeos: la abundancia de mazas terminales (relativamente raras en la cicatriz por este tiempo), la no menor copiosidad de varicosidades de trayecto (que son restos de mazas), los frecuentes retrocesos, etc., denotan que la operación de salvar el obstáculo fué empresa laboriosa. Repárese que la mayoría de las fibras yacen enérgicamente adheridas á las membranas celulares, sobre las cuales, en virtud de un movimiento ciego, han trazado revueltas y hasta verdaderos ovillos, aunque nunca tan complicados como los más atrás descritos en los ganglios sensitivos (D). Nótese, sobre todo, el gran número de conductores



que aparecen bifurcados precisamente al chocar contra el contorno celular. Interesante es también el hecho de que en algunos parajes la bifurcación tiene lugar justamente al nivel de una maza que se ha convertido en varicosidad más ó menos triangular (E). Conglomerados semejantes de materia argentófila continuados con ramas nerviosas fueron ya señalados por nosotros al estudiar la marcha de las fibras invasoras de los estuches de Büngner del cabo periférico de los nervios; ellos revelan que la maza de crecimiento detenida ante una barrera, especie de dique al movimiento

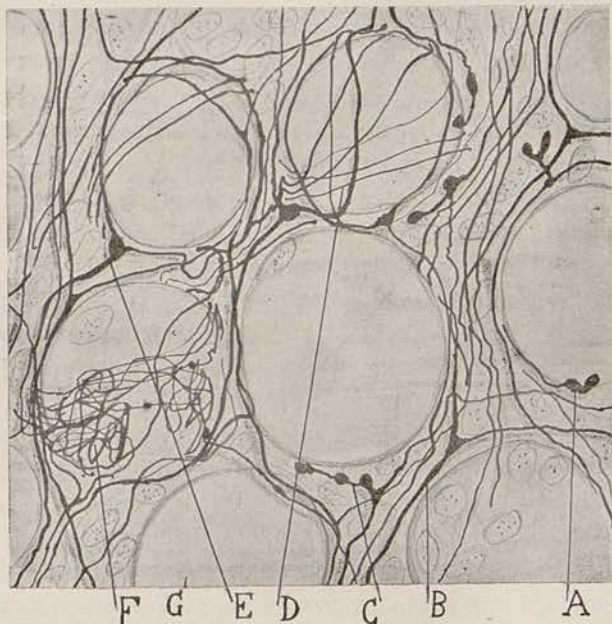


Fig. 13.—Trozo de tejido adiposo interpuesto entre los dos cabos de un nervio seccionado. Perro joven sacrificado dieciséis días después de la operación.—A, mazas terminales; B, división de axones; C, rama provista de varias mazas en vías de reabsorción; D, ovillos periadiposos; E, pelotones nerviosos; G, célula adiposa; F, maza de que partían dos ramas, etc.

amiboide, ha emitido dos ramas destinadas á contornear el obstáculo, pero subsistiendo aún cierto tiempo bajo la forma de varicosidad triangular la antigua maza atascada. Por lo demás, estas mazas, de que brotan ramas secundarias, fueron primeramente descubiertas por Perroncito.

Hemos mencionado ya la frecuente presencia en el trayecto de los axones interadiposos de gruesas varicosidades. Señaladas hace tiempo (61) por nosotros y por G. Sala en los centros nerviosos en vías de evolución, precisamente en los parajes de tránsito difícil para las mazas (por ejemplo, el rafe del bulbo raquídeo, donde el paquete de las expan-



siones epiteliales radiadas constituye un dique difícil de franquear), indican siempre fases anteriores de atascamiento de las fibras nerviosas. Dicho atascamiento accidental provocó, por una suerte de retención protoplásmica, la formación de gruesos botones terminales, de los cuales ulteriormente brotó recia rama que logró salvar el obstáculo, dejando como reliquia y señal cierto acúmulo de materia de lenta y difícil reabsorción. Semejante interpretación resulta hoy más verosímil después del hallazgo de numerosas varicosidades de trayecto en los axones invasores del tejido adiposo (fig. 13, C).

Dejamos apuntado que al chocar con las células adiposas las fibras nerviosas se dividen.

Este fenómeno, consignado hace tiempo por nosotros (2), compruébase perfectamente en las fibras empeñadas en salvar los intersticios del tejido adiposo, donde los haces conjuntivos, las asas capilares, el choque contra las células adiposas, etc., oponen serias barreras á la expansión progresiva de los axones. A nuestro juicio, existen, atendiendo á la causa productora, dos especies de divisiones: las operadas por obstáculo mecánico y las suscitadas por estímulos neurotrópicos. A estas últimas pertenecen, sobre todo, las arborizaciones de las fibras errantes cuando se aproximan á una fuente rica en estímulos químicos, por ejemplo, al hileo del cabo periférico de un nervio interrumpido.

No todas las disposiciones de los axones errantes obedecen á procesos químicos ó mecánicos. Varias de ellas implican la intervención de cierta atracción adhesiva (*sensibilidad táctil* de Dustin), análoga á la revelada por los leucocitos en presencia de las superficies duras y lisas. Los ovillos ó espirales del cabo central, el adosamiento tenaz de las fibras á la superficie de un capilar ó del neurilema, la aplicación íntima de cada axon joven á los axones viejos ó á los anteriormente emigrados en pleno tejido conectivo para formar haces, las revueltas complicadas de dichas fibras en torno de corpúsculos adiposos ó musculares, etc., dependen verosímilmente de dicha adhesividad, que podría compararse (si no es fenómeno del mismo orden) á la atracción que ejercen sobre el agua los cuerpos mojables. Compréndese que la adhesión de las fibras á los soportes ó tutores hallados en su camino, representa importante resistencia para la acción neurotrópica. Sólo cuando surge ante la maza de crecimiento una corriente neurotrópica poderosa abandona la fibra su tutor para orientarse definitivamente. Añadamos que la colisión con otras fibras, el choque con nuevos obstáculos, obliga también en ocasiones al axon á apartarse del soporte y adoptar nuevos derroteros.

Es indudable que la lisura y acaso también la naturaleza química del soporte, entran por algo en el fenómeno de la atracción adhesiva. Las



mazas parecen preferir las superficies pulidas, por las cuales pueden resbalar y estirarse cómodamente (membrana de Schwann, sarcolema, etcétera). Ciertas partes ásperas, como las arteriolas y las venas, los haces conectivos, los fascículos tendinosos, etc., no suelen ser nunca rodeados por las fibras en vías de crecimiento.

¿Qué debemos pensar de las fibras retrógradas? En diferentes escritos, nosotros hemos aludido á estos conductores recurrentes, numerosísimos en el cabo central de los nervios intermedios y todavía más abundantes en los cordones nerviosos aplastados. Dentro de las bandas de Büngner faltan ó son rarísimos, pero aparecen constantemente cuando las fibras neoformadas caminan por un terreno accidentado, por ejemplo, por el tejido muscular ó el adiposo. A nuestro juicio, la retrogradación de las fibras en vías de crecimiento podría explicarse suponiendo dos condiciones, una positiva y otra negativa: por un lado, el choque contra un obstáculo imprevisto, y por otro, la falta de influjos neurotrópicos orientadores. Cuando estos últimos actúan, los obstáculos serán capaces de desviar las mazas y de ocasionar alguna revuelta inútil, pero no producirán definitivo extravío. Nada prueba mejor la ausencia de fuentes orientadoras que el curso en zig-zag, con enormes revueltas, descrito por los axones extraviados en el interior del cabo central de un nervio cortado ó en el espesor del tejido conectivo pericicatricial.

VII. LEYES QUE RIGEN LA FORMACIÓN, CRECIMIENTO Y DIRECCIÓN DE LAS FIBRAS REGENERADAS.—Para terminar esta larga relación de observaciones más ó menos favorables á la hipótesis neurotrópica, vamos á formular aquí, en breves términos, las leyes empíricas y condiciones generales á que obedecen los axones jóvenes durante su génesis, ramificación, marcha, tanto en los centros y vías nerviosas en curso de evolución ontogénica normal, como en los centros y cordones periféricos en vías de regeneración. Porque, inútil es declararlo, la naturaleza, amiga siempre de la unidad de procedimientos, adopta en los procesos de regeneración patológica iguales mecanismos que en los fenómenos de evolución normal. Las citadas leyes han sido más ó menos explícita y siempre fragmentariamente consignadas en nuestros anteriores trabajos sobre la neurogenia y regeneración de nervios y vías nerviosas. Sobre ellas han formulado también algunos sabios, singularmente Forssmann, Lugaro, Schiefferdecker, Bethe, Harrison, Langley y Anderson, Marinesco, Tello, Nageotte, Levi, Held y Dustin, apreciaciones importantes ó aportado confirmaciones objetivas de considerable valor. A cada ley ó condición señalada seguirá, si ello fuere conveniente, un comentario explicativo ó una alusión polémica. Para mayor claridad y orden expositivos, daremos á nuestros enunciados la forma de proposiciones:



1.<sup>a</sup> *Todo axon ó rama recién formados crece en línea recta, en virtud de un proceso de asimilación no interrumpido, y conserva su dirección inicial mientras no tropieza con obstáculos mecánicos ó recibe el influjo de estímulos neurotrópicos ó neurocládicos.*— Semejante enunciado, que constituye postulado racional equiparable al principio físico de la inercia, despréndese de todos los modernos estudios sobre la regeneración nerviosa. Con más ó menos vaguedad han aludido á él Held (56 y 58), al formular la hipótesis del *vis à tergo*, es decir, esa tendencia constante del axon á crecer, en virtud de la continuidad de la asimilación protoplásmica, y Dustin (9), al invocar el fenómeno de la *turgescencia* de las mazas y cilindros-ejes neoformados. Afirmar que un axon tiende á crecer en línea recta es consignar que la materia nuevamente asimilada en el botón terminal y corteza axónica (neurobionas, neuroplasma, capa limitante ó cortical, etc.), mantiene indefinidamente el plan inicial, geométrico y arquitectural, del retoño nervioso originario. Corolario obligado de esta ley es atribuir á una acción exterior perturbadora cualquier cambio ocurrido en la trayectoria ó en la individualidad (ramificación) del cilindro-eje.

2.<sup>a</sup> *En presencia de un obstáculo ó de un influjo neurotrópico ó neurocládico, la fibra nerviosa no se desvía bruscamente trazando, por ejemplo, un ángulo recto ú obtuso, sino que adopta una dirección parabólica, especie de diagonal entre el impulso rectilíneo inicial y la línea de resistencia ó de acción del agente perturbador.* Igual ley se cumple en la emisión de ramas. Antes de adoptar su orientación definitiva, todo ramo nervioso describe diagonales parabólicas entre las direcciones de impulsión interna del tallo y del influjo trópico exterior. Juzgamos, empero, aventurado, dada la complicación de las acciones perturbadoras y nuestro desconocimiento de la cantidad, número y dirección de las fuerzas en conflicto, precisar, en forma matemática, esta ley, cuya generalidad se comprueba en todas las desviaciones y ramificaciones de fibras ó tubos histológicos (vasos sanguíneos, fibras elásticas, conductores nerviosos, conductos glandulares, etc.).

3.<sup>a</sup> *Las fibras nerviosas neoformadas tienen tendencia á adherirse á los obstáculos, y muy singularmente á los representados por superficies lisas, por las cuales resbalan rápidamente, y en torno de las que trazan, á veces, revueltas complicadas. Esta atracción adhesiva, de que hemos hablado ya, constituye una seria resistencia á los influjos neurotrópicos orientadores.* A ella se deben muchas disposiciones de los axones embrionarios (que se conservan en el adulto), entre otras: la formación de haces nerviosos, fenómeno que se inicia desde la aparición de las raíces anteriores en el embrión y que aparece corrientemente en la cicatriz y



cabos central y periférico de los nervios interrumpidos. En este curioso proceso de convivencia ó simbiosis axónica, pudiera, empero, intervenir también algún quimiotropismo recíproco de las fibras congéneres ó de análoga conducción. La disposición fascicular no debe, sin embargo, obedecer á impulsos atractivos muy vigorosos, porque se deshace fácilmente en presencia de obstáculos mecánicos ó de fuentes neurotrópicas específicas.

4.<sup>a</sup> *Todo axon en vías de crecimiento regular por un terreno favorable ofrece en su cabo terminal un espesamiento á modo de ariete destinado á remover los obstáculos y á fraguarse un camino por entre las células mesodérmicas.* Tal es el botón ó maza terminal de las fibras regeneradas, homólogo del cono ó huso de crecimiento de los axones del embrión. Desde el punto de vista fisiológico, este ensanchamiento terminal parece responder á dos propósitos utilitarios: aumentar la impulsión mecánica del cabo axónico y ensanchar la superficie de recepción de las sustancias neurotrópicas.

5.<sup>a</sup> *La forma y dimensión del mencionado espesamiento terminal varían mucho, según las circunstancias,* habiendo necesidad de distinguir, por lo menos, seis formas principales: 1.<sup>a</sup>, el cono de crecimiento de las fibras embrionarias; 2.<sup>a</sup>, el botón terminal pequeño de las fibras regeneradas en vías de crecimiento rápido; 3.<sup>a</sup>, la bola ó botón terminal voluminosa de los axones recientemente detenidos ó en vías de crecimiento lento; 4.<sup>a</sup>, la bola colosal, más ó menos degenerada, de los axones atascados desde mucho tiempo; 5.<sup>a</sup>, la bola de retracción de los axones atacados de degeneración traumática, y 6.<sup>a</sup>, en fin, la bola agónica del cabo periférico de los axones. De todas estas modalidades del cabo nervioso terminal, sólo las dos primeras y en parte la tercera constituyen disposiciones normales; las demás son resultado de condiciones patológicas.

a) *Cono de crecimiento de los axones embrionarios.* — Como en diversos trabajos (57) hemos expuesto este abultamiento terminal, modélase dentro de los centros en forma de cono de base periférica erizada de expansiones (método de Golgi) en el espesor del cual existe un pincel neurofibrillar fusiforme (métodos neurofibrillares). Llegado al mesodermo, dicho cono se modifica, adoptando, á menudo, forma lanceolada comparable á la de un grano de cebada (métodos neurofibrillares).

b) *Botón terminal de los axones regenerados en vías de crecimiento rápido y regular.* — Constituye la disposición típica del cabo terminal de los axones que caminan sin obstáculos al través de la cicatriz internerviosa (nervios seccionados), y sobre todo, de las fibras insinuadas en el interior de las bandas de Büngner del cabo periférico neurotizado. Se le halla también, á menudo, durante el estado fetal (fetos humanos, de



perro, gato, conejo, etc.), en aquellas fibras de tardío desarrollo que abordan los nervios y vías nerviosas centrales, cuando la mayoría de los axones llegaron á su destino (61). Este abultamiento final, que puede considerarse como típico, es poco voluminoso, afecta figura olivar ú ovoidea, pende de un pedículo relativamente espeso y carece constantemente de cápsula protectora. Su estructura parece homogénea, ó mejor dicho, la red neurofibrillar de que consta es igualmente tupida en todo el espesor de la maza, tiñéndose intensa y uniformemente por los métodos neurofibrillares. En fin, el volumen del botón terminal, nunca muy grande, según dejamos dicho, es constantemente proporcional al diámetro de la fibra; así, en las recias (axones directos), es grueso; en las medianas, mediano, y diminuto en las finas.

Las hebras más delicadas terminan, según mostró primeramente Perroncito, por una esférula donde se aloja un anillo neurofibrillar. Los choques y la acomodación á los resquicios intercelulares pueden deformar la configuración del botón, que adopta en ocasiones figura piriforme, tuberosa, bilobada, triangular, etc. No son raras tampoco las formas en huso, en pincel ó brocha, etc.

c) *Bolas voluminosas en los axones de crecimiento lento ó que sufren detenciones y retardos.*—Tales son los gruesos botones que exhiben á menudo las fibras extraviadas y recurrentes de la cicatriz internerviosa, las que se pierden por encima ó por debajo del neurilema del cabo central, las que coronan los axones de los pelotones y aparatos espirales de este mismo cabo, etc., etc. Semejantes voluminosas mazas aparecen algo tardíamente (desde los diez días en adelante) y suelen exhibir, así como los axones de que dependen, una membrana protectora guarnecida de núcleos.

Esta cubierta, que representa la membrana de Schwann, aparece en toda fibra que ha permanecido algún tiempo en el cabo central ó en el tejido cicatricial intermedio sin arribar á su destino. Su presencia permite reconocer al primer golpe de vista los axones y mazas viejas de los axones y mazas jóvenes ó en vías de rápido crecimiento.

Añadamos que estas mazas perezosas, aunque no degeneradas todavía, pueden orientarse aún ó emitir ramas salvadoras del obstáculo, en cuyo caso la antigua bola queda transformada en la que hemos designado *varicosidad de detención*.

d) *Bolas ó esferas colosales.*—A partir de la segunda ó tercera semana preséntanse en la cicatriz, pero más á menudo en el cabo central ó sus alrededores (nervios cortados) ciertas bolas colosales ya vistas por Meyer y Ranvier, y confirmadas por todos los autores que han empleado los métodos neurofibrillares y el azul de metileno de Ehrlich.



Caracterízanse estas bolas no sólo por su tamaño enorme y disposición capsulada, sino por exhibir estos dos rasgos esenciales: desproporción de su masa con el diámetro del axon y aparición en su interior de fenómenos degenerativos (hialinización ó desaparición de las neurofibrillas corticales, creación de redes centrales, vacuolizaciones, etc.). Naturalmente, entre la bola colosal ó degenerativa y la maza gruesa pero viva de las fibras detenidas se dan todas las transiciones. Las bolas colosales son resultado del atasco y extravío definitivo de los botones de crecimiento; su masa desmesurada parece consecuencia de la ingurgitación ó concentración por reposo de todo el material asimilado durante el período de detención, material que se habría extendido en línea recta de no haber sobrevenido obstáculos insuperables. Estos obstáculos no son siempre mecánicos: la detención de la bola terminal podría también provenir del arribo insuficiente ó nulo de materias neutrópicas.

Su formación nos revela que la asimilación de crecimiento se efectúa de preferencia al nivel del cabo axónico. En suma, la esfera colosal constituye una especie de quiste protoplásmico por retención. La fibra que la lleva puede estimarse como definitivamente perdida para la neurotización del cabo periférico, ya que en su espesor ocurren tarde ó temprano procesos degenerativos de finalidad eliminatoria.

e) *Bolas de retracción*.—Así hemos designado las esferas gruesas generadas en el cabo de los axones centrales cuando en virtud de una degeneración traumática ha desaparecido la porción axónica próxima á la herida. *Bolas de retracción* se presentan, después de una herida, en la substancia blanca, en el cabo central del axon de las pirámides cerebrales, en el de las células de Purkinje, en el de los corpúsculos cordinales de la médula, etc. Como esferas de retracción cabe estimar también los recios espesamientos, bien conocidos, que dos ó tres días después de la sección nerviosa exhiben los gruesos axones del cabo central, una vez desprendida la porción necrosada del cilindro-eje.

En los nervios las mazas de retracción pueden convertirse todavía en botones de crecimiento; pero en los centros nerviosos ignoramos la suerte reservada á estas bolas, aunque hay algunas observaciones (Cajal, H. Rossi, O. Rossi, etc.) favorables al supuesto de que en algunos casos constituyen el punto de partida de retoños nerviosos. Interesante es, sobre todo, el hecho descubierto por Humberto Rossi (37) de que las bolas de retracción de los axones interrumpidos del cerebello humano aparecen provistas de colaterales recurrentes.

f) *Mazas agónicas*.—Todas las mazas y bolas hasta aquí referidas pertenecen al cabo central de los axones seccionados ó alterados por causa patológica. Empero existen también abultamientos, y á veces legítimas



bolas en el extremo periférico de los cilindros-ejes cortados (nervios y vías centrales), es decir, en la porción de la fibra exenta de relaciones con el centro trófico (Perroncito, Cajal, Marinesco, etc.). A esta categoría de mazas de carácter pasajero (sólo duran unos días) y reveladoras de que la vida del cabo periférico no se apaga súbitamente, sino que es capaz todavía de ensayar actos regenerativos fugaces y necesariamente frustrados, daremos el nombre de *bolas ó mazas agónicas*.

Pertenecen asimismo á esta especie de abultamientos esas varicosidades en forma de rosario que preceden al proceso de rápida fragmentación y reabsorción del cabo periférico de los cilindros-ejes (nervios y vías centrales). Para distinguirlas de las *varicosidades de detención*, más atrás señaladas (restos de botones antiguos de que brotó una rama), convendrá llamarlas *varicosidades degenerativas*.

6.<sup>a</sup> *Mientras conservan su individualidad y marchan regularmente hacia su destino, los axones (ó sus ramas) mantienen sus mazas ó botones terminales; pero en cuanto se interpone un obstáculo superable ó sufren la acción de estímulos neurotrópicos múltiples, dichos abultamientos se reabsorben, generándose rápidamente una ramificación terminal.*

Las ramas así producidas marchan en variadas direcciones, muestran bien diseñado el contenido neurofibrillar y se terminan ordinariamente por cabos apuntados, á veces por esférulas, pinceles y anillos. Creadas las ramas y convenientemente orientadas, aparecen los botones finales de moderado tamaño. Al período de excitación formativa sucede, pues, una fase de relativo reposo en que el proceso formador se limita al cabo axónico y botón terminal.

Cuando este proceso neoformativo surge de improviso en una maza ó bola voluminosa más ó menos retardada, el protoplasma del abultamiento no pasa enteramente á las ramas formadas, sino que se mantiene cierto tiempo (bolas con ramificaciones señaladas por Perroncito), disminuyendo progresivamente.

Esta notable fase de ramificación axónica, resultado de una especie de excitación formativa paroxística y fugaz, ha sido designada por nosotros estado de *amiboidismo divisorio*, que Marinesco traduce *dendroamiboidismo*. Acaso sería más exacto denominarla estado de *excitación neurocládica ó neurocládica*.

Su finalidad parece ser unas veces salvar obstáculos accidentales, otras multiplicar las vías nerviosas para asegurar mejor la neurotización del cabo periférico.

En general, los autores que se han ocupado de los fenómenos de regeneración nerviosa, como Nageotte, Marinesco, Tello, Deineka, Sala, etc., convienen con nosotros en que la maza ó botón terminal yacente en ganglios, centros nerviosos y ner-



vios periféricos en vías de restauración representa un órgano terminal indicador del sentido del crecimiento y del carácter regenerativo de la fibra que lo posee.

Algunos autores dudan, sin embargo, de que dicho botón constituya disposición constante del cabo terminal de las fibras neoformadas, y sea, en todo caso, expresión inequívoca de un proceso regenerativo.

Tal es la opinión de Perroncito (48), quien la funda en las siguientes observaciones: *a*, de tales espesamientos, al parecer finales, brotan á veces fibras nuevas; *b*, encuéntrase alguna vez mazas en el trayecto de las fibras; *c*, engrosamientos análogos sorprende en el extremo proximal del cabo periférico de los nervios cortados algunos días después del traumatismo y, por tanto, en axones evidentemente degenerativos; *d*, en fin, bolas y botones semejantes, aparecen en la substancia blanca de los centros atacados de degeneración. En sentir de Perroncito, tales hechos demuestran que los botones finales no son disposiciones homólogas á los conos de crecimiento de los axones embrionarios, y que si ciertos botones anuncian indiscutiblemente actos neoformativos, otros poseen caracteres evidentemente degenerativos. Puesto que algunos de los más gruesos abultamientos pertenecen á fibras atascadas, su formación podría explicarse por una especie de amiboidismo retrógrado, algo así como el almacenamiento hacia atrás del protoplasma neoformado en el cabo de las fibras.

Para Conrado Fano (43), que ha estudiado los botones finales y bolas atascadas en los ganglios y raíces nerviosas de los tabéticos, dichas disposiciones son el resultado de procesos degenerativos.

Marinesco admite sin reservas el carácter regenerativo de los botones y bolas terminales, pero estima que, por lo común, representan un retardo en la marcha del axon joven, retardo relacionado con la disminución de las fuerzas atractivas ejercidas por las células de Schwann ó apotróficas del cabo periférico. En cambio, considera la fase de creación de ramas (nuestra *fase de amiboidismo divisorio*) como el verdadero mecanismo del crecimiento activo de las fibras, crecimiento motivado por el arribo al axon de poderosas corrientes de materias reclamos.

Dustin (9) acepta la opinión de Marinesco, exagerándola mucho todavía, pues afirma que las mazas y bolas finales pertenecen siempre á fibras neoformadas en reposo ó atascadas por consecuencia de obstáculos infranqueables. A veces, para salvar este obstáculo, la maza emite una ó varias ramas y el proceso de crecimiento se restablece.

Las precedentes opiniones se basan en hechos bien observados, pero excesivamente generalizados. Parécenos probable que dichos sabios han analizado poco detenidamente las diversas especies de mazas, y distinguido insuficientemente la *bola de retracción* y la *atascada* del legítimo *botón de crecimiento*.

La convicción de que éste representa el órgano final de los axones neoformados en vías de crecimiento regular se saca, sobre todo, del encuentro constante de tales abultamientos en las finas fibras caminantes por el cabo periférico regenerado, por los nerviecitos terminales y las placas motrices; y precisamente los referidos sabios han desdeñado la exploración minuciosa del dicho cabo distal (del séptimo día de la sección en adelante), como lo prueba el que ni Perroncito, ni Marinesco, ni Dustin reproducen en sus dibujos un solo caso de botón terminal yacente en el mencionado segmento. No es, pues, de extrañar que partiendo de hechos y aun de interpretaciones parcialmente acertadas lleguen á conclusiones generales inexactas.

Con lo expuesto quedan ya suficientemente despejadas las principales causas de confusión acerca del valor fisiológico y significación de las varias categorías de abul-



tamientos terminales. No estará, sin embargo, demás resumir aquí las razones demostrativas de que el botón terminal representa signo evidente de regeneración y claro indicio del crecimiento normal de las fibras nerviosas neoformadas:

a) Los abultamientos finales encuéntrase tanto en las fibras nerviosas del embrión, conforme revelaron nuestras investigaciones (61), así como las de London y Pezker (42), como en los nervios en vías de regeneración.

b) Los botones finales (no las gruesas bolas) sorpréndense constantemente en el cabo periférico de los nervios cortados, coronando el extremo de las fibras penetradas en las viejas vainas de Schwann, es decir, en el territorio orgánico en donde más rápidos y activos son la progresión y el crecimiento de los axones jóvenes.

c) Las observaciones de Tello, confirmadas por nosotros, denuncian la presencia de botones finales en todas las fibras recién llegadas a los nervieitos periféricos y placas motrices, lo mismo en las insinuadas en las viejas vainas de Schwann que en las que marchan libremente por rutas francas de obstáculos.

d) El hecho de existir ramificaciones brotadas de las mazas ó botones de trayecto (Perroncito), lejos de ser contrario á nuestra opinión, la ratifica, puesto que hemos repetidas veces declarado que al *estado de maza* sucede á veces la *fase de amboidismo divisorio*. Natural es que cuando por consecuencia del choque contra un obstáculo ó de la súbita irrupción de un estímulo neurocládico, el botón terminal pasa por la fase de amboidismo divisorio, el acúmulo protoplásmico final no se disipe instantáneamente, sino que se mantenga cierto tiempo con las ramas formadas de su seno. Esta relativa persistencia obsérvese, sobre todo, en los botones atrasados y detenidos; en los pequeños en curso de rápida progresión no se da porque al producirse una división toda la substancia de la maza se reparte en las ramas hijas.

e) Marinesco y Dustin generalizan demasiado la fase de amboidismo divisorio, olvidando que este proceso representa no más que un fugitivo momento de la evolución de las fibras. En general, no se han distinguido bien por los autores cosas tan diferentes como el fenómeno de crecimiento de las fibras formadas y el acto de su multiplicación. Ciertamente el acto divisorio implica un fenómeno de crecimiento; pero no es menos exacto que una vez generada y orientada la nueva rama crece indivisa durante largas distancias, armándose rápidamente del botón terminal, de que necesita para remover los obstáculos del camino.

f) Según afirman Perroncito, Dustin, etc., las *gruesas bolas* pertenecen á axones atascados, inútiles y perdidos para el proceso de la regeneración; mas este parecer, ya defendido por nosotros desde nuestros primeros trabajos (\*), nada dice en con-

(\*) En nuestro primer trabajo sobre la regeneración (*Boletín del Instituto de Bacteriología*, fascículo II, Junio 1905), decíamos ya: «Estas excrescencias del axon (aludíamos á los botones colosales) provienen á menudo de fibras que, detenidas por algún obstáculo, no han logrado estirarse y crecer hacia la periferia».

En nuestra segunda Memoria sobre el mismo tema (*Boletín del Instituto de Bacteriología*, fascículo III, Septiembre de 1905) se desarrolla también esta idea: «Ciertos axones gruesos, retrógrados y extraviados dentro del cabo central, exhiben á menudo y en fechas muy tardías (dos y tres meses después de la operación), aparatos claviformes colosales, más ó menos pálidos y en vías de alteración. Juzgamos probable, después de nuevas experiencias, que estos aparatos representen mazas de crecimiento comunes detenidas en su marcha y notablemente hipertrofiadas».

Y en nuestra Memoria sobre *La génesis de las fibras nerviosas en el embrión* (*Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo IV, 1905-1906), insistimos



tra del papel regenerativo y significación fisiológica de los pequeños botones de las fibras libres.

g) El hecho cierto, señalado por Perroncito y confirmado por nosotros y Marinesco, de que el hileo del cabo periférico recién separado (dos á seis días después de la sección) posea mazas terminales y aun ramificaciones de fibras, sólo prueba que los cilindros-ejes separados de su centro trófico no mueren instantáneamente, sino que ensayan durante su larga agonía la producción de retoños.

7.<sup>a</sup> *Toda rama nueva brotada de un axon quiescente ó neoformado va precedido de un estado más ó menos agudo de excitación formativa neurofibrillar, que designaremos eretismo preformativo.* En los axones normales tradúcese este eretismo por su espesamiento local, su mayor afinidad por la plata coloidal (fórmulas que tiñen de preferencia las fibras ameduladas), cierta exageración del diámetro de las neurofibrillas, que se hacen (no siempre) más aparentes, y en ocasiones por la aparición de redes y asas en la capa cortical del conductor. Si el tubo es medulado, tales signos precursores se asocian á menudo á la fragmentación de la mielina, lateralización de sus segmentos y multiplicación de las células de Schwann.

El eretismo preformativo conduce, en virtud del exceso de creación neurofibrillar interna (multiplicación de las neurobionas), á la producción de ramas nuevas, las cuales se clasifican en estas cuatro categorías: *a*, transformación del axon en un paquete de hebras nerviosas (fenómeno de deshilachamiento) dotadas de gran actividad de crecimiento; *b*, emisión de colaterales, ya al nivel de las estrangulaciones de Ranvier, ya de cualquier paraje del axon; *c*, neoformación y estiramiento del cabo final del axon, el cual crece indiviso, armado de botón terminal; *d*, en fin, brote en el cabo axónico, rejuvenecido ó excitado, de una arborización terminal de varia riqueza y complicación. En suma, el eretismo divisorio puede ser colateral y terminal, limitarse á pequeño territorio del axon ó extenderse á largos trayectos de éste.

8.<sup>a</sup> *Ni el eretismo preformativo ni la excitación divisoria son procesos espontáneos.* Representan reacciones constructivas del axon bajo la provocación de dos órdenes de estímulos: los *físicos* (apretamiento experimental del axon, choque de éste durante su marcha, influencia del calor, etc.), y los *químicos*.

sobre la misma opinión: «En nuestro sentir (y esta opinión está basada, sobre todo, en recientes observaciones acerca del crecimiento de las fibras nerviosas regeneradas), todo botón terminal accidentalmente atascado crece desmesuradamente, pudiendo llegar á degenerar, á menos que una parte del material del acúmulo protoplásmico no acierte á filtrarse por entre los obstáculos que le detienen, proyectando una rama, más adelante convertida por reabsorción del citado acúmulo en continuación del cilindro-eje primitivo» (61).



9.<sup>a</sup> Los *estímulos físicos* provocan, sobre todo, el deshilachamiento de los axones, seguido de ramificación y crecimiento de las fibrillas neoformadas. Este deshilachamiento productivo se comprueba hasta en las neuronas gangliónicas (como Marinesco y Minea han observado), consecutivamente á presiones y aplastamientos experimentales. En cambio, los obstáculos suscitan á menudo en las fibras nuevas divisiones dicotómicas y resolución de las mazas en ricas arborizaciones terminales. Parecidamente á los estímulos mecánicos, obran el calor y el frío. Este último produce activos deshilachamientos de los nervios no seccionados (experimento de tocar con un trozo de hielo el ciático normal del conejo). En fin, los estímulos mecánicos promueven también en las neuronas la fase de excitación divisoria (ganglios traumatizados y aplastados), conduciendo á la creación de parafitos.

10. Los *estímulos químicos* no obran solamente orientando y atrayendo las fibras neoformadas, sino provocando la creación de ramas y el consiguiente estado de eretismo divisorio. Existen, por tanto, dos clases de acciones neuroquímicas: acción de atraer y orientar las ramas nerviosas jóvenes, es decir, el *quimioneurotropismo* propiamente dicho, y efecto de promover el eretismo formativo y la aparición de retoños, ó sea el *quimioneurocladismo*, ó más brevemente, el *neurodendrismo*. Una misma fuente química puede provocar ambos efectos, pero á menudo la materia reclamo produce tan sólo uno de los dos. El *quimioneurocladismo* es colateral ó terminal, difuso ó circunscripto, según el paraje y la extensión del axon impresionados por la corriente estimulante.

11. Los *estímulos químicos neurodendricos y neurotrópicos* son muy numerosos, hallándose acaso, con más ó menos intensidad, en todos los tejidos nobles (glándulas, músculos, células nerviosas, etc.). Sin embargo, los que parecen más activos durante la época embrionaria son los elaborados por los corpúsculos del miotomo, los elementos conectivos primordiales, los epitelios primitivos y las neuronas en fase de creación de dendritas. Todos estos estímulos son específicos.

Acabado el desarrollo nervioso, las fuentes neurodendricas y neurotrópicas aparecen especialmente en las *células de Schwann* proliferadas de los nervios (elementos *apotróficos* de Marinesco, etc.), *lemmoblastos* de Lenhossék) en la materia de las placas motrices degeneradas, en los *corpúsculos satélites* de las células gangliónicas sensitivas, en los *elementos de los aparatos sensitivos terminales* (husos de Kühne, corpúsculos de Meissner, etc.) y, en fin, en el *tejido conectivo embrionario*.

Que las células de Schwann no intervienen en el crecimiento de los nervios primitivos, lo persuaden los trabajos ya antiguos de His, Kölliker y Lenhossék, los recientes efectuados por nosotros con ayuda del ni-



trato de plata reducido (61) y los ingeniosos experimentos de Harrison (23), quien ha sorprendido en larvas de batracio privadas de gérmenes de células de Schwann raíces motrices perfectamente modeladas y orientadas y exentas de lemmoblastos.

12. *Los estímulos químicos orientadores podrían ser, en cuanto á su poder seleccionador, genéricos y específicos.* Así, la materia reclamo elaborada por las células conectivas embrionarias y por los corpúsculos apoptóficos poseería carácter genérico, obrando sobre todas las fibras jóvenes; mientras que los reclamos liberados por los *husos de Kühne*, *placas motrices*, *aparatos sensitivos cutáneos*, etc., tendrían carácter específico, no ejerciéndose sino sobre categorías funcionales de tubos nerviosos regenerados. Estos estímulos específicos gozarían tanto de la virtud neurotrópica como de la neurocládica. La arborización terminal de la placa motriz y el pelotón final del corpúsculo de Meissner representan, tanto en el desarrollo ontogénico normal como en la regeneración patológica, el último efecto neurocládico de los estímulos específicos.

13. El carácter local de la excitación divisoria y de todas las respuestas reaccionales á los estímulos mecánicos y químicos, ora impresionen fibras unidas al centro trófico, ora actúen sobre axones aislados (cabo periférico de los nervios cortados), obliga á reconocer cierta autonomía nutritiva y formativa del protoplasma del cilindro-eje. Nuestra hipótesis de las *neurobionas*, unidades ultramicroscópicas constitutivas de las neurofibrillas (y acaso también del neuroplasma) susceptibles de asimilación, de multiplicación y de agrupación en colonias reticuladas y lineales, tiende á explicar esta autonomía relativa de los territorios axónicos.

14. *Es dudoso que exista un neurotropismo negativo* como, para ciertos casos especiales, han supuesto Lugaro, Nageotte y Marinesco. Los ejemplos de incapacidad de las fibras nerviosas nuevas para invadir la médula espinal (Lugaro), la repulsión de los retoños nerviosos por las neuronas sensitivas (Nageotte), y, en general, por su célula de origen (autotropismo negativo); su indiferencia, en fin, por los cordones nerviosos normales (Marinesco), etc., podrían explicarse con sólo imaginar la ausencia en tales territorios de materias neurotrópicas positivas. De igual modo podrían comprenderse los bruscos retrocesos de las fibras sensitivas jóvenes en las fronteras de ganglios transplantados ó en el cabo de las raíces sensitivas interrumpidas. De todos modos, demanda todavía este punto nuevas investigaciones.

15. Sobre una misma maza de crecimiento pueden concurrir simultáneamente varias corrientes quimiotácticas. En tal supuesto, el axon es arrastrado siempre en la dirección de la más poderosa. Los frecuentes retrocesos de fibras nuevas intracordones al llegar á la cicatriz; la pre-



dilección que por el cabo periférico tienen las fibras errantes, no obstante residir en la cicatriz, terreno de positiva acción neurotrópica, etc., son fenómenos explicables por el predominio del influjo de las células de Schwann embrionarias sobre el ejercido por los corpúsculos conectivos.

16. *En la marcha y orientación de los axones nuevos, tienen las membranas ó tejidos de neurotropismo indiferente positiva influencia.* Algunas cubiertas, tales como la de Schwann, el neurilema, la vaina laminosa de los fascículos nerviosos, la membrana perimedular, representan pantallas de las corrientes neurotrópicas y neurocládicas. A ellas se debe el que, vecina una fuente de materias reclamos, las fibras nerviosas adultas ó en fase de eretismo sean retenidas en el nervio ó centro correspondiente. Ellas, en fin, obrarían secuestrando más ó menos dichas materias, impidiendo ó moderando su difusión y creando algo así como terrenos de cultivo limitados para los retoños nerviosos. En ciertos casos, los obstáculos mecánicos, al modo de los espolones de un puente ó de la proa de un barco, producirían el efecto de dividir las corrientes neurotrópicas, con que, solicitada la maza en dos sentidos diversos, entraría en división. Así se explicarían las bifurcaciones enfrente de obstáculos mecánicos superables (células grasientas, acúmulos de mielina desintegrada del cabo periférico, fibras musculares, etc.).

La teoría neurotrópica aplicada á la génesis y orientación de las fibras nerviosas regeneradas, gana terreno de día en día, habiendo sido aceptada con leves modificaciones ó restricciones por Lenhossék, Lugaro, Harrison, Marinesco, Minea, Nageotte, Tello, Langley y Anderson (44), Schiefferdecker (45), Deineka (40), etc.

El mismo Bethe, partidario acérrimo de la regeneración autógena, la ha invocado también, á ejemplo de Langley y Anderson, para esclarecer el fenómeno de unión específica fisiológica de las fibras del cabo central (nervios cortados) con sus correspondientes aparatos nerviosos terminales.

Dejamos ya apuntado más atrás que Kappers invoca también el neurotropismo para comprender la forma y posición de las neuronas motoras del bulbo en presencia de las ramificaciones de las fibras aferentes.

En fin, paralelamente á estas aplicaciones de la teoría al dominio neurogenético, ha surgido en el de la fisiología nerviosa una tendencia, cada vez más acentuada, á subordinar á condiciones químicas el proceso de la propagación interneuronal del impulso nervioso. Hace algunos años Lugaro expuso la idea de que la ramificación nerviosa terminal, para producir la descarga en la neurona asociada, obra sobre ésta mediante un mecanismo químico.



Modernamente, esta opinión ha sido precisada por Schiefferdecker (45), para quien toda terminación nerviosa segrega ciertas sustancias específicas que, penetrando en el cuerpo neuronal, causarían, reaccionando sobre los principios contenidos en éste, un nuevo impulso nervioso. Parecidas doctrinas profesa Langley (46), quien admite en toda neurona la existencia de materias específicas receptoras destinadas á reaccionar con las liberadas por las terminaciones nerviosas pericelulares. En fin, en la esfera de la biología general, las interesantes investigaciones de Verworn, Loeb (62), Bohm (63) y otros han demostrado la gran importancia que en los tropismos de los animales tienen las variaciones químicas del ambiente, singularmente la adición de oxígeno, ácido carbónico y otros estimulantes.

Los agentes químicos, singularmente ciertos ácidos, obrarían, según Loeb (64), al modo de los fermentos, ó mejor, como agentes catalizadores, acelerando ó moderando las reacciones químicas del protoplasma y avivando ó retardando — á veces contrariando — los actos de movimiento y orientación. Recordemos también las citinas y anticuerpos con que los bacteriólogos explican hoy el proceso de la inmunidad y las reacciones defensivas del organismo atacado por toxinas ó microbios.

Sorprende, en verdad, el parentesco ideal existente entre los sensibilizadores ó amborreceptores específicos creados en la sangre por la llegada de toxinas, endotoxinas y células, y las sustancias específicas supuestas por Schiefferdecker y Lugaro en las terminaciones nerviosas y capaces de reaccionar individualmente con otras materias específicas intraneurónicas. En suma, y sin ahondar más en estas analogías entre hipótesis casi simultáneamente surgidas en esferas diferentes de la ciencia de la vida, es incuestionable que la tendencia general de nuestra época es á convertir las cuestiones de biología en problemas químicos y explicar la exquisita selectividad y orientación de ciertos fenómenos celulares por la especificidad reaccional de los compuestos químicos orgánicos.

Pero viniendo á la cuestión del neurotropismo, séanos lícito consignar algunas consideraciones críticas. En general, nuestras opiniones han sido bien comprendidas. Algunos autores, sin embargo, aunque partidarios en principio del neurotropismo, parecen no haber comprendido bien nuestro pensamiento. Por ejemplo, Lugaro y Dustin motéjannos de exclusivistas, atribuyéndonos la idea de concretar toda la acción neurotrópica en las bandas de Büngner del cabo periférico de los nervios cortados.

El reproche de exclusivismo es inmerecido. Si en el texto de nuestra obra extensa sobre la regeneración nerviosa insistimos de preferencia sobre la acción neurotrópica y neurocládica ejercida por las antiguas



vainas de Schwann, es porque dicho trabajo se consagra casi exclusivamente á inquirir el mecanismo de la neurotización del cabo periférico. Ni debe olvidarse que dicho estudio inspiróse principalmente en un fin polémico, el de combatir el pernicioso error del catenarismo, entronizado con tal empuje en las escuelas, que amenazaba con arruinar definitivamente la doctrina neuronal. La urgencia de tal tarea nos obligó, por consiguiente, á consagrar toda nuestra atención al proceso de la aparición y orientación de las fibras jóvenes en las antiguas vainas de Schwann.

Así y todo, en el resumen final del citado trabajo consignamos explícitamente la necesidad de admitir, además de la *acción neurotrópica genérica* obrada por las bandas de Büngner, *diversos influjos neurotrópicos específicos* localizados en los músculos, glándulas, piel, husos de Kühne, etc., á fin de asegurar la unión individual de cada fibra con su especial aparato terminal. Y en nuestros antiguos y modernos trabajos sobre la neurogénesis normal (51) (57) (61) hemos proclamado también repetidamente la existencia en el miotomo, epitelios y centros nerviosos embrionarios de fuentes específicas de estímulos orientadores, cuyo oficio sería garantizar tanto las conexiones interneuronales sistemáticas como la unión de las fibras nerviosas nuevas con los tejidos extracentrales.

Por lo demás, fuerza es confesar que la hipótesis del neurotropismo ofrece serias dificultades, según hace notar atinadamente Dustin, para explicar detalladamente todos los complejos hechos concernientes al proceso de la neurotización del cabo periférico. Pero ello depende de que dicha concepción no ha salido todavía de la vaga región de las ideas abstractas. Para dar á la hipótesis la determinación y corporeidad que le falta y elevarla al rango de doctrina científica, fuera necesario precisar mejor los elementos ó fuentes de acción neurotrópica; aislar las materias reclamos, ó al menos determinar su naturaleza y modo de acción, como han hecho los bacteriólogos con las diversas especies de anticuerpos; descubrir las leyes rectoras de su producción y apagamiento; esclarecer, en fin, el mecanismo de las reacciones y equilibrios químicos resultantes entre las substancias activas ó receptoras residentes en el axon joven y maza terminal y los principios atrayentes de los corpúsculos neurotrópicos, equilibrios variables en cada fase del proceso regenerador, y cuya expresión química debe ser la producción de cuerpos relativamente estables. Todo esto se halla desgraciadamente aún harto lejano, apareciéndose como ideal inaccesible.

No nos hagamos ilusiones. Las investigaciones de estos últimos años sólo han esclarecido, y no completamente, los primeros términos del complejo problema: la determinación de algunas fuentes neurotrópicas y la



sensibilidad que hacia ellas poseen las fibras nerviosas jóvenes y algunos apéndices neuronales (parafitos de células ganglionares). Pretender forjar una teoría completa comprensiva de todos los detalles del proceso neurogenético, normal y patológico, sin aguardar los nuevos materiales que debe aportar el análisis empírico, es edificar en el vacío.

No somos, empero, adversarios de prestar provisoriamente, por la vía especulativa, alguna mayor precisión á la concepción neurotrópica y aun de enriquecerla con otras suposiciones ó conjeturas subordinadas, á fin de integrar en orgánico sistema todos los datos objetivos tocantes á la génesis, crecimiento y orientación de los axones jóvenes. Pero tales síntesis prematuras, indispensables para la acción, necesitan, como correctivo para evitar *tropismos intelectuales* harto pujantes en las escuelas, la continua recordación de sus endeblecimientos y la inexcusable tarea de revisarlos y de contrastarlos á diario con los resultados de la observación y experimentación.

Previas estas reservas, he aquí cómo podría concebirse en detalle el proceso neurotrópico, aprovechando, al efecto, al par del material de datos objetivos que poseemos, orientaciones teóricas reinantes en otros dominios de la biología, y muy singularmente la hipótesis de los *catalizadores* de Loeb (64).

Comencemos por imaginar que la materia reclamo liberada por los diversos elementos de acción neurotrópica representa una substancia actuante sobre las mazas, al modo de las diastasas ó enzimas ó los agentes catalíticos, es decir, activando las reacciones químicas del protoplasma, y, por tanto, la asimilación y el crecimiento del extremo axónico. Habría agentes diastásicos generales, esto es no específicos, elaborados por el tejido conectivo embrionario y células de Schwann rejuvenecidas, y fermentos de igual ó parecida naturaleza, con carácter específico, segregados en la época embrionaria por las neuronas jóvenes y órganos periféricos, y en la época adulta por los aparatos nerviosos terminales y células satélites de nervios y ganglios. Desde el punto de vista de los resultados, los espacios ricos en agentes catalizadores (\*), vendrían á ser para los

(\*) Sabido es que las diastasas difieren químicamente de los agentes propiamente catalíticos, pero obran del mismo modo, provocando grandes metamorfosis, sin consumirse ni modificarse. Al emplear, pues, nosotros indistintamente las voces *enzima*, *diastasa* y *catalizador*, entiéndase que aludimos, no á la especie química del estímulo neurotrópico, sino á su modo de acción. Por lo demás, en el estado actual de la ciencia sería aventurado pretender precisar la naturaleza de los supuestos catalizadores nerviosos, cuando hasta los fermentos más comunes no están hoy exactamente definidos en su composición elemental, á causa de la imposibilidad de aislarlos de las impurezas que los acompañan.



axones jóvenes como el suero sanguíneo para algunos microbios, es decir, excelentes terrenos de cultivo.

En ausencia de estos agentes, el axon crece también, pero este crecimiento se efectúa más lentamente y sin orientación definida, á merced de los obstáculos mecánicos y de las resistencias de la atracción adhesiva. Compárese la enorme celeridad de crecimiento del axon dentro de las bandas de Büngner, territorios llenos de fermentos con la lenta y premiosa progresión en el cabo central durante los primeros días del proceso regenerador. Este crecimiento primitivo y automático del axon representa una reacción formativa inicial del protoplasma nervioso, bajo la provocación de toda clase de estímulos (mecánicos, térmicos, químicos). Entre los estimulantes figura acaso el oxígeno aportado por la congestión inflamatoria.

El mecanismo creador de los primeros retoños (eretismo formativo, deshilachamiento, creación de colaterales, etc.) se nos escapa, como ignoramos también el íntimo resorte de la asimilación y crecimiento. Presumimos tan sólo que en el protoplasma axónico reside un aparato constructivo en posesión de energías rápidamente utilizadas, al modo que las aprovecha el leucocito que, impresionado por el oxígeno, emite un pseudopodo. Sin embargo, cometeríamos un error si identificáramos con el proceso amiboide el acto del nacimiento, ramificación y marcha de las fibras neoformadas. El axon no camina ni se inclina, sino que crece en virtud de un proceso asimilativo especialmente localizado detrás del botón terminal ó en los cabos de la arborización en vías de creación (fase de neurocladismo).

No sería extraño que en los preliminares de este proceso reaccional influyera la disminución de la *tensión superficial* axónica, disminución provocada por el arribo de algún principio capaz de modificar la composición del protoplasma nervioso, según afirma Marinesco (¿oxígeno?). También podrían colaborar las variaciones de la presión osmótica (Nageotte). Sin embargo, semejantes mecanismos físicos, si pueden influir algo en la emisión de apéndices nerviosos, no son poderosos á crearlos, porque el acto esencial de la ramificación no consiste tanto en el estiramiento ó distribución de un material preexistente, como en un proceso de multiplicación de partículas de materia viviente (¿división y crecimiento de neurobionas?) constructoras de un conductor persistente.

Establecida ya la fase de eretismo divisorio, formadas automáticamente las ramas nerviosas, entran en juego los enzimas, provocando el rápido crecimiento de los retoños y su orientación hacia el cabo periférico. Las primeras diastasas elaboranse quizás en las células de Schwann excitadas del cabo central (sección de nervios), ó en las de los cordones



nerviosos lesionados (nervios contundidos ó alterados por diversos agentes). En tal concepto tendrían plausible explicación el curso retrógrado de muchos axones intranerviosos y la lujuria proliferativa característica del fenómeno de Perroncito. Pero los enzimas enérgicos y verdaderamente útiles á la orientación de los axones y neurotización del cabo periférico, son los tardíos elaborados por el tejido cicatricial y las bandas de Büngner, fuentes de los estímulos más enérgicos de la asimilación y crecimiento axónicos. El acto de la orientación axónica hay que concebirlo, según dejamos apuntado, como un resultado trófico, es decir, como efecto del crecimiento del axon, según la dirección de una corriente de catalizadores. La maza, brocha ó anillo terminal representarían aparatos sensibilizadores ó colectores de los fermentos.

El proceso asimilador del axon y la marcha de la maza hacia las fuentes neurotrópicas serán tanto mayores cuanto más grande sea la velocidad de difusión y la proporción de los enzimas disueltos. En presencia de varios estímulos, el más enérgico ó el más rápidamente difundido arrastrará al axon, marcándole su ruta. Al nivel de las membranas conectivas, las diastasis se detienen por incapacidad dialítica.

Desde el punto de vista de la acción sobre los axones nuevos, las materias que éstos pueden hallar en su camino son de tres clases: *activas* ó *estimulantes*, es decir, excitadoras del proceso de asimilación, crecimiento y ramificación; *indiferentes* y *moderadoras*. Poco probable parece la existencia de principios *paralizantes* del crecimiento axónico, dado que, aun en las fibras atascadas y desorientadas, la bola terminal y el axon mismo aumentan de diámetro hasta que se inicia la degeneración final. En cuanto á las *materias moderadoras*, podrían resultar de oxidaciones ú otras reacciones químicas desarrolladas en el protoplasma nervioso durante el proceso de crecimiento y ramificación. En condiciones ordinarias, estas materias *fatigantes* son rápidamente eliminadas y no estorban, por tanto, al crecimiento y ramificación axónicas; mas, cuando la neoformación es activísima, revistiendo carácter paroxístico (fase de amiboidismo divisorio), dichos principios tardan en ser descartados; por donde se explica el estadio de relativo reposo consecutivo á la de sobreactividad neurocládica. Esta relativa inhibición del poder trófico del fermento, podría compararse á la moderación ó suspensión de las fermentaciones comunes cuando hay exceso de productos de desdoblamiento.

La precedente hipótesis explica bastante satisfactoriamente las principales dificultades de la teoría neurotrópica. Entre ellas contamos las siguientes:

*Marcha rápida del axon por el cabo periférico.*—El postulado de la hi-



pótesis quimiotrópica de que, cuando un axon halla sustancias reclamos reacciona con ellas, creando nuevos principios desprovistos de acción estimulante, dificulta algo la comprensión del mecanismo de la progresión de los axones en las bandas de Büngner. Si las células de Schwann —afirma Dustin— representan fuentes neurotrópicas, al llegar á cada una de ellas, el axon joven debería detenerse, ya que el principio ó materia reclamo quedaría sucesivamente saturado. Dejando á un lado las explicaciones posibles de la continuidad del crecimiento axónico dentro de la antigua concepción neurotrópica (posibilidad de que los estímulos deramados por las bandas de Büngner sirvan solamente para atraer axones, los cuales, saturados, crecen encauzados por los citados estuches, en virtud del *vis à tergo* asimilativo), es indudable que con la hipótesis de los fermentos esta dificultad desaparece, ya que las fibras penetrantes en las bandas ó en sus intersticios viven en un terreno rico en agentes excitadores de la asimilación y crecimiento, agentes que no se consumen por neutralización de las sustancias receptoras del protoplasma nervioso.

*Incapacidad de las fibras nerviosas para atravesar membranas.*— Hemos visto que todo nervio degenerado se neurotiza por su hileo y no á través del neurilema. Además, los resultados negativos de neurotización de trozos nerviosos puestos sobre nervios indemnes (Lugaro, Marinesco, Dustin), enseñan que las sustancias neurotrópicas no obran á través de la cubierta nerviosa. Este fenómeno se explica bien si estas sustancias son fermentos que, como se sabe, son poco ó nada dializables.

*La temperatura presta más actividad á la regeneración* (Deineka). He aquí otro hecho fácilmente comprensible si la sustancia activadora del crecimiento de los retoños nerviosos es una diastasa.

*Incapacidad regenerativa de los centros nerviosos.*— Explícase sencillamente recordando: *a*, la falta en los centros de células de Schwann, susceptibles de orientar genéricamente los nuevos axones á lo largo de la sustancia blanca; y *b*, la enorme distancia á que, en el estado adulto, yacen las neuronas con quienes las nuevas fibras deben mantener conexión. Tan grande es ésta que, aun cuando se admitiera en los focos nerviosos la conservación más ó menos atenuada del estado secretor específico de la época embrionaria, fuera difícilísimo comprender la eficacia orientadora de las sustancias reclamos.

Importante es, asimismo, para explicar dicha radical impotencia regenerativa de las vías interrumpidas, la ausencia de membranas de Schwann, cuyo papel de tutor mecánico y de acumulador de materias diastásicas ofrece positivas ventajas.

Por lo demás, el citado fracaso restaurador no puede achacarse ni á in-



capacidad regenerativa del axon ni á insensibilidad de éste hacia las materias neurotrópicas, como lo persuaden los experimentos de sección medular más atrás referidos.

*Arribo de las fibras á los aparatos terminales.*— Este fenómeno, el más sorprendente de los constitutivos del proceso regenerativo, nos obligó á suponer la existencia de sustancias neurotrópicas específicas capaces de atraer cada categoría fisiológica de conductores. En la nueva forma de la hipótesis estos reclamos representarían fermentos específicos, los cuales se derramarían en los espacios próximos al aparato terminal, creando terrenos tróficos, es decir, estimuladores selectivos del crecimiento axónico. Por ejemplo, el axon motor, solicitado por varios estímulos, crecería exclusivamente en la dirección del fermento específico elaborado por las placas motrices, etc.

Tal es, en resumen, la nueva forma que, al objeto de precisar mejor el mecanismo de la orientación nerviosa, podría darse á la hipótesis neurotrópica. Excusado es declarar que distamos mucho de estimar esta nueva conjetura como infalible dogma. Otras teorías vendrán, sin duda, á transformarla ó á sustituirla. Las hipótesis, aun siendo prematuras, resultan útiles porque cumplen el fin primordial de espolear la acción y despertar el entendimiento. Ellas son á la verdad, como son al óvulo esas miríadas de células epitelicas nutrices de la vesícula de Graaf. Viven y prosperan cuando la célula madre vegeta obscuramente en fase de germen; marchitanse y mueren cuando, maduro y fecundado el óvulo, prepárase éste á la gloriosa empresa de perpetuar la especie. Así son las especulaciones teóricas. Gozan de vida brillante, aunque efímera, en tanto no surge la verdad, y en todo caso son necesarias porque, sin ser la verdad, son sus nutrices y sus heraldos. Y si bien se mira, no todo muere en las hipótesis prematuras. Así como en la nutrición del óvulo aprovecharonse materiales elaborados por las modestas células epitelicas, también en la urdimbre conceptual de toda doctrina científica quedan definitivamente integradas nociones parciales pertenecientes á varias hipótesis precursoras.

#### LISTA BIBLIOGRÁFICA

- (1) *Cajal*: La rétine des vertébrés. *La Cellule*, tomo IX, fasc. 1, 1892.
- (2) *Cajal*: Mecanismo de la regeneración de los nervios. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo II, fasc. 3, 1905 á 1906.
- (3) *Forssmann*: Zur Kenntniss des Neurotropismus. *Zieglers Beit. zur Pathol. Anat.*, &. Bd. XXVII, 1900.
- (4) *Ingaro*: Sulla presunta rigenerazione autogena delle radici posteriori. *Rivista di Patol. nerv. e mentale*, vol. XI, fasc. 8, 1906.



- (5) *Tello*: Dégénération et régénération des plaques motrices après la section des nerfs. *Trav. du Lab. de Rech. biol.*, tomo V, 1907.
- (6) *Nageotte*: Etude sur la greffe des ganglions rachidiens, &. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXXI, núm. 9 y 20, 1907.
- (7) *Marinesco*: Quelques recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. *Revue neurologique*, núm. 6, 1907.
- (8) *Cajal*: Les metamorphoses précoces des neurofibrilles dans la régénération et la dégénération des nerfs. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo V, fasc. 12, 1907.
- (9) *Dustin*: Le rôle des tropismes et de l'odogenèse dans la régénération du système nerveux. *Arch. de Biol.*, tomo XXV, 1910.
- (10) *Marinesco*: Le mecanisme de la régénérescence nerveuse, 2<sup>a</sup> partie: les transplantations nerveuses. *Revue générale des Sciences pures et appliquées*. 18 Année, núm. 5, 15 Marzo 1907.
- (11) *Marinesco*: Plasticité et amiboidisme des cellules des ganglions sensitifs. *Revue Neurologique*, núm. 21, 25 Noviembre, 1907.
- (12) *Marinesco y Minea*: Recherches experimentales et anatomo-pathologiques sur les lésions consécutives à la compression et à l'écrasement des ganglions sensitifs. *Folia neurobiologica*. Bd. I, núm. 1, Noviembre 1907.
- (13) *Marinesco y Minea*: Nouvelles recherches sur la transplantation des ganglions nerveux (transplantation chez la grenouille). *Compt. rend. à la Société de Biol. de Paris*, 25 Febrero 1907.
- (14) *Marinesco*: Le mecanisme de la régénérescence nerveuse. 1<sup>a</sup> partie. *Revue générale des Sciences*, &. 18 année, núm. 4, 28 Febrero 1907.
- (15) *Nageotte*: *Bulletins de la Société de Biol.*, 19 Enero, 23 Febrero, 3 Marzo, 13 Abril, 22 Junio, 13 Julio, 1907.
- (16) *Nageotte*: Recherches experimentales sur la morphologie des cellules et des fibres des glanglions rachidiens. *Revue neurol.*, núm 8, 1907.
- (17) *Nageotte*: Note sur l'apparition precoce d'arborisations pericellulaires, etc. *Compt. rend. de la Société de Biol.*, 13 Abril 1907.
- (18) *Lugaro*: Sul Neurotropismo e sui Trapianti dei Nervi. *Riv. di Patol. nervosa e mentale*, vol. XI, fasc. 7, 1906.
- (19) *Lugaro*: La fonction de la cellule nerveuse, XVI<sup>e</sup> Congrès intern. de Médecine. Budapest, 29 Agosto 1909.
- (20) *Krassin*: Zur Frage der Regeneration der peripheren Nerven. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXVIII, núm. 17 y 18, 1906.
- (21) *Lugaro*: Handbuch der path. Anat. des Nervensystems. Kap. Allgemeine Pathol. der Nervenfasern. Karger, 1903-1904.
- (22) *Lenhossek*: Zur Frage nach der Entwicklung der peripherischer Nervenfasern. *Anat. Anzeiger*, núm. 11-12. Bd. XXVIII, 1906.
- (23) *Harrison*: Further experiments on the developpement of peripheral nerves. *Amer. Journal of Anat.*, vol. V, 1906.
- (24) *Perroncito*: La rigeneratione delle fibre nervose. *Bolletino della Società Medico-Chirurgica di Pavia*, 2.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> notas preventivas, 1905 á 1906.
- (25) *Bethe*: Allgemeine Anatomie und Physiologie der Nervensystems, 1903.
- (26) *Bethe*: Notiz über die Unfähigkeit motorische Fasern mit rezeptorischen Fasern zu verheilen. *Arch. f. die gesam. Physiol.* Bd. 116, 1907.
- (27) *Cajal*: Tipos celulares de los ganglios sensitivos, etc. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo IX, 1905-1906.

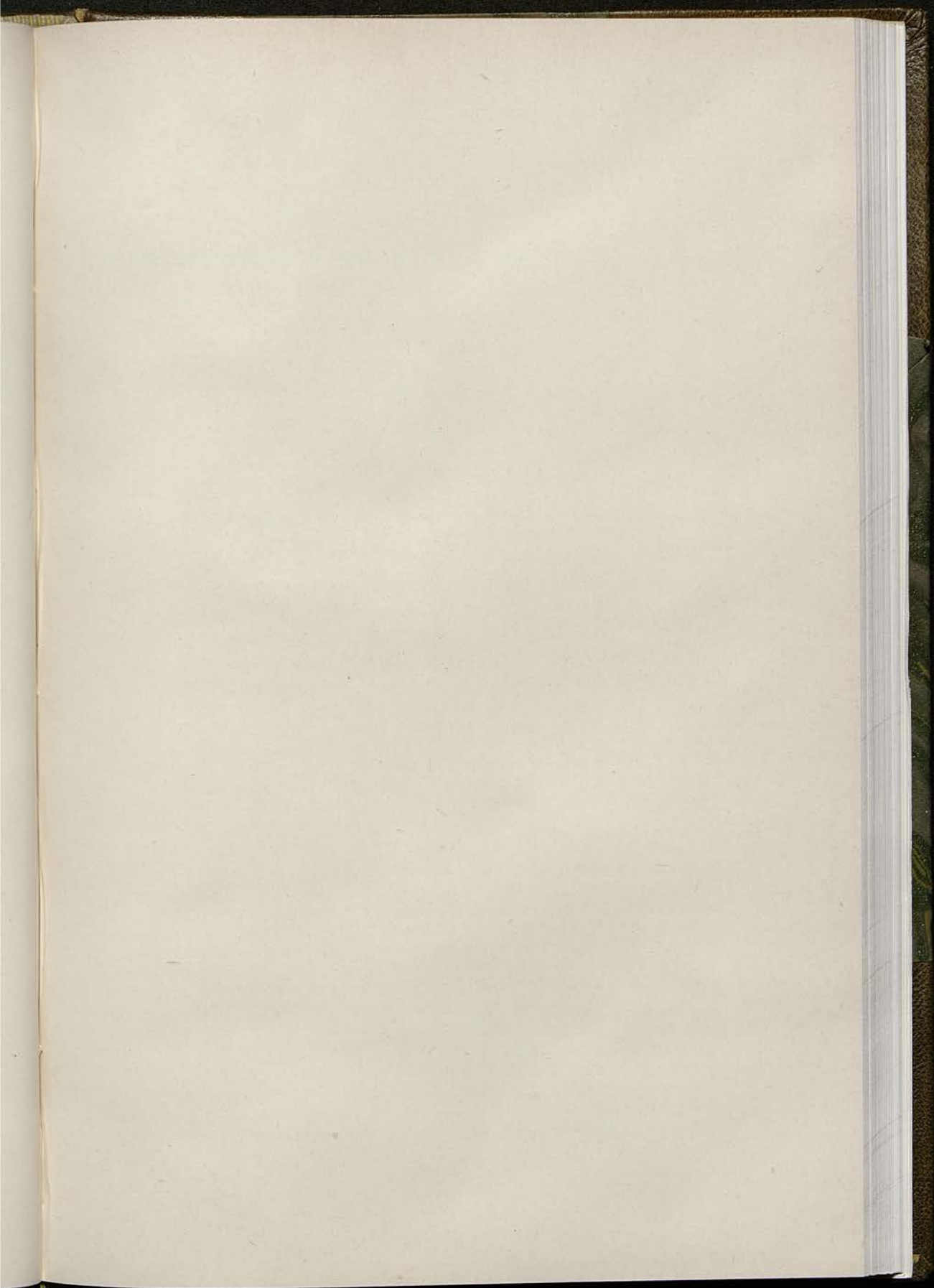


- (28) *Dogiel*: Zur Frage der feinere Bau der Spinalganglien beim Säugethieren. *Inter. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. 14, 1897.
- (29) *Dogiel*: Der Bau der Spinalganglien der Menschen und der Säugethieren. Jena, 1908.
- (30) *Cajal y Olóriz*: Los ganglios sensitivos craneales en los mamíferos. *Revista Trimestral micrográfica*, tomo II, núm. 4, 1897. Véase también Cajal: Struktur der sensiblen Ganglien des Menschen und der Thiere. *Ergeb. der Anat. u. Entwicklungesch.* Bd. XVI, 1906.
- (31) *Ottorino Rossi*: Ueber einige morphologische Besonderheiten der Spinalganglion bei den Säugethiere, etc. *Journal f. Psychologie u. Neurologie*, Bd. XI, 1908.
- (32) *Levi*: Di alcuni problemi riguardanti la struttura del sistema nervoso. *Archivio di Fisiologia*, vol. IV, fasc. IV, 1907.
- (33) *Levi*: I Gangli Cerebrospinali. Firenze, 1908.
- (34) *Veratti*: Alcune osservazioni sui proceso consecutive alle ferite dei gangli spinali. *Atti della Soc. ital. di Patol.* IV<sup>a</sup> riunione. Pavia, 1907.
- (35) *Pacheco*: Sur les types cellulaires des ganglions spinaux de l'homme à l'état normal et dans quelques états pathologiques. *Arch. du Real Institute Bacteriol. Camara-Pertana*, tomo III, fasc. 1, 1910.
- (36) *O. Rossi*: Processi rigenerativi et degenerative conseguente a ferite aseptiche del sistema nervoso centrale, &. *Riv. di Patol. nervosa e mentale*, volumen XIII, fasc. 11, 1908.
- (37) *H. Rossi*: Per la rigenerazione dei Neuroni. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo VI, 1909.
- (38) *Kappers*: Weitere Mitteilungen bezüglich der phylogenetischen Verlagerung der motorischen Hirnsnervenkerne, &. *Folia neurobiologica*. Bd. I, número 2, 1908.
- (39) *Minea*: Cercetari experimentali supra Variatuniloz morfologice Neuronulu sensitiv. Tesis. Bucarest, 1909.
- (40) *Deineka*: L'influence de la temperature ambiente sur la régénération des fibres nerveuses. *Folia neurobiologica*. Bd. II, 1908.
- (41) *Purpura*: Processo di rigenerazione, ripristino funzionale, &. *Gazzetta medica italiana*, núm. 7 e 8, 1908.
- (42) *London S. E. u. Perker*: Ueber die Entwicklung des peripher. Nervensystems bei Säugethieren. *Arch. f. mikros. Anat.* Bd. LXVII, 1906.
- (43) *Da Fano*: A proposito delle nuove dottrine sulle modificazioni della struttura dei gangli spinali nella Tab. *Boll. de la Società Medico-Chirurgica di Pavia*, Julio 1907.
- (44) *Langley and K. Anderson*: The union of different Kinds of nerve fibres. *Jour. of Physiology.*, vol. XXXI, 1904.
- (45) *Schiefferdecker*: Neurone und Neuronenbahnen. J. A. Barth, editeur. Leipzig, 1906.
- (46) *Langley*: On nerve endings and on special excitable substances in cells. *Proceedings of the Royal Society*, vol. LXXVIII, 1906.
- (47) *Sherrington*: The integrative action of the nervous system. *Ch. Scribner's Sons*. New-York, 1906.
- (48) *Perroncito*: Die Regeneration der Nerven. *Beitrage zur pathologischen Anatomie u. zur allgem. Pathol.* Bd. XLII, 1907.
- (49) *Marinesco*: Etudes sur le mécanisme de la régénéscence des fibres nerveuses des nerfs périphériques. *Jour. für Psychologie u. Neurologie*. Bd. VII, 1906.



- (50) *Stroebe*: Experimentelle Untersuchungen über die Degeneration und reparatorischen Vorgänge bei der Heilung von Verletzungen des Rückenmarkes & *Ziegler's Beiträge*. Bd. XV, H. 7, 1894.
  - (51) *Cajal*: Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados, tomo I, 1905.
  - (52) *Cajal*: Notas preventivas sobre la degeneración y regeneración de las vías nerviosas centrales. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo IV, 1905.
  - (53) *Marinesco et Minea*: Recherches sur la régénérescence de la moelle. *Nouvelle Iconogr. de la Salpêtrière*, año XIX, núm. 5, 1906.
  - (54) *G. Sala*: Sui fatti che si svolgono in seguito alle ferite asettiche del cervello. *Bolletino de la Società med. chirur. di Pavia*, año XII, número 1, 1908.
  - (55) *Held*: Die Entstehung der Neurofibrillen. *Neurol. Centralbl.*, 1905.
  - (56) *Held*: Zur Histogenese der Nervenleitung. *Verhandl. d. Anat. Gesellsch. Versamml. zu Rosfoc.*, 1-5 Junio 1906.
  - (57) *Cajal*: Nouvelles observations sur l'évolution des neuroblastes avec quelques remarques sur l'hypothèse neurogénétique de Hensen-Held. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXXII, núm. 1 y 2, 1908.
  - (58) *Held*: Die Entwicklung der Nervengewebe bei den Wirbeltieren. *J. A. Barth*, editeur. Leipzig, 1909.
  - (59) *G. Sala y Cortese*: Ueber die im Rückenmark nach Ausreizung der Wurzeln, & *Folia neuro-biologica*, Bd. IV, 1910.
  - (60) *Schwarz*: Zur Lehre von der degenerativen und regenerativen Veränderungen des Centralnervensystems. Saint-Petersburg, 1906.
  - (61) *Cajal*: Génesis de las fibras nerviosas en el embrión, etc. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, tomo IV, 1905-1906.
  - (62) *Loeb*: Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. *A. Barth*. Leipzig, 1906.
  - (63) *G. Bohn*: La Naissance de l'Intelligence. Flammarion. Paris, 1909.
  - (64) *Loeb*: Die Bedeutung der Tropismen für die Psychologie. *Vortrag. gehalten auf dem VI Internationalen Psychologie-Kongress. zu Genf*. 1909.
- • • • •











## Algunos experimentos de conservación y autólisis del tejido nervioso

NOTA PREVENTIVA (1)

POR

S. RAMÓN CAJAL

### Conservación *in vitro* de las células ganglionares sensitivas.

Los interesantes estudios de Nageotte, confirmados por Marinesco, Minea, O. Rossi, nosotros, etc., acerca de la transplatación de los ganglios, han demostrado la gran resistencia de la neurona sensitiva á los cambios de temperatura y la facilidad con que se acomoda á terrenos orgánicos relativamente pobres en vasos, y por tanto, en oxígeno. El criterio con que suele valorarse la supervivencia celular fúndase en estos

(1) Durante la ejecución de estos experimentos hemos tenido noticia de varias comunicaciones interesantes de R. Legendre y H. Minot, sobre la conservación de las células nerviosas fuera del organismo (*Essais de conservation hors de l'organisme des cellules nerveuses des ganglions spinaux. Comp. rend. des Sciences de la Société de Biologie. Séance du 7, 14 et 21 Mai 1909, t. LXVIII*). Al propio tiempo, han aparecido varios trabajos de A. Carrel, Montrose y T. Burrows (*Comp. rend. de la Société de Biol.*, núm. 33, t. LXIX, Noviembre 1910), quienes, utilizando un método ya conocido de los histólogos (conservación de los tejidos en plasma sanguíneo y á temperatura de 37°), pretenden haber efectuado cultivos de tejidos normales, singularmente de epitelios y de elementos de los órganos linfoides. Estos trabajos, sobre los cuales nos obstenemos de formular por ahora ninguna opinión, nos han obligado á anticipar un resumen de nuestras investigaciones. Con relación á las comunicaciones de Legendre y Minot, haremos notar que estos sabios no han conseguido probar la supervivencia *in vitro* de las células gangliónicas, no obstante haberlas cultivado en sangre desfibrinada y en la estufa á 39°. Han observado, sin embargo, algunas alteraciones importantes, tales como vacuolización del protoplasma nervioso, creación de fosetas superficiales, donde se enclavan células neuróglícas (¿satélites ó subcapsulares?), tendencia á la homogeneidad de la cromatina protoplásmica y, cuando se prolonga el cultivo veinticuatro horas, acromatosis total. Estas alteraciones, que coinciden con las notadas por nosotros en los ganglios conservados en solución salina indiferente, en humor acuoso ó en sangre, nos parecen de naturaleza autolítica, aunque no sea lícito excluir una acción física ó química del terreno de cultivo.



tres datos: *a*, conservación de la estructura neuronal normal (núcleo, retículo neurofibrillar); *b*, resistencia contra la acción destructora de células satélites y leucocitos; y *c*, capacidad de emitir expansiones nuevas, esto es, de asimilar activamente materiales nutritivos, modelándolos en largos apéndices ramificados.

Algunos ensayos de ingertación ganglionar efectuados hace un año, nos habían dado á conocer ya que, cuando el ganglio es pequeño, sus neu-

ronas pueden vegetar hasta en medio de coágulos sanguíneos y de exudados inflamatorios, terrenos que *à priori* parecen poco propicios á la difusión y renovación del plasma nutritivo. Semejante acomodación nos ha conducido á pensar que las células gangliónicas transplantadas durante los dos ó tres primeros días de su dislocación, sacan de sí mismas y del ambiente intraganglionar sustancias de reserva á expensas de las que crean las expansiones neoformadas.

A fin de contrastar experimentalmente esta hipótesis, hemos emprendido numerosos ensayos de conservación de las neuronas sensitivas y de fragmentos de la médula espinal en sangre esterilizada, en el globo del ojo de animales de la misma especie, en líquido cefalorraquídeo, en suero sanguíneo concentrado,

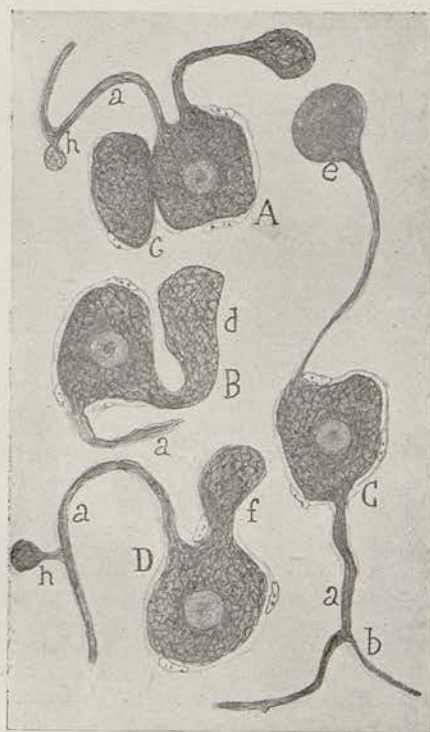


Fig. 1.— Células gangliónicas del gato de cuatro días. — *a*, axon; *b*, bifurcación normal de éste; *c*, gran lóbulo celular; *d*, larga excrecencia brotada del soma; *e*, excrecencia piri-forme; *f*, bola provista de largo pedículo; *h*, bola en formación.

en solución fisiológica de sal, etc. Los mamíferos escogidos han sido el gato, el conejo y el perro de pocos días. Transcurridas ocho, dieciséis, veinticuatro y cuarenta y ocho horas de permanencia en la estufa á 37°, y con las precauciones de asepsia indispensables para evitar la infección de las piezas (la infección es relativamente frecuente cuando se conservan en estufa más de veinticuatro horas), son éstas fijadas en formol, al-



cohol amoniacoal ó piridina al 60 por 100 y tratadas por diversos métodos, y muy singularmente por el proceder del nitrato de plata reducido.

Los resultados obtenidos han sido varios y entran, en general, en el orden de los procesos que se ha convenido en llamar *autolíticos*. De ellos nos ocuparemos más adelante. Pero de ordinario, con tales procedimientos de cultivo no pueden sorprenderse indicios de vegetación nerviosa (formación de expansiones neuronales, ramificación de axones, etc.). Mas si prescindimos de todo terreno de cultivo y nos limitamos á mantener simplemente los órganos nerviosos en sus receptáculos óseos (columna

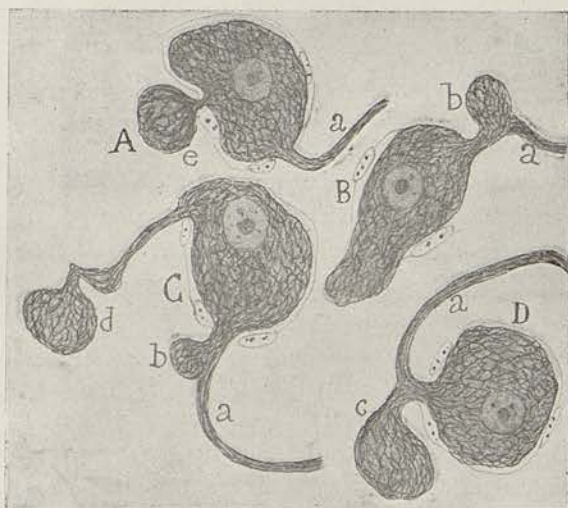


Fig. 2.—Células ganglionares sensitivas de gato de cuatro días. Método del nitrato de plata reducido. Estufa á 37° veinticuatro horas. — a, axon; b, excrecencias del origen del axon; c, lóbulo brotado de éste; d, gruesa bola armada de recio pedículo; e, voluminoso lóbulo nacido en el soma.

vertebral, etc.) y plasma natural (líquido cefalorraquídeo, etc.), procurandoles al propio tiempo la temperatura y la humedad indispensables (cámara húmeda y estufa á 38 ó 39°), es frecuente reconocer en las neuronas sensitivas algunos fenómenos neoformativos, hasta cierto punto comparables con los señalados por Nageotte en los ganglios transplantados. A este fin comenzamos por depositar en un tubo de ensayo esterilizado algunas gotas de agua exenta de gérmenes. A cierta distancia del fondo instalamos un tope ó rejilla también estéril destinada á sostener la pieza fresca. Esta suele consistir en trozos de columna vertebral revestida de sus músculos intrínsecos, con médula espinal y ganglios íntegros, procedentes de un animal recién sacrificado. Para evitar infeccio-



nes, operamos rapidísimamente y, en algunos casos, flambeamos por un instante la superficie de los órganos. En fin, el todo se mantiene, según dejamos dicho, en estufa de 36 á 39°. A las veinticuatro horas, si no existe infección, los fenómenos de vegetación han empezado ya y adquirido en ciertas células notable desenvolvimiento. Las preparaciones más expresivas proceden del gato recién nacido ó de tres ó cuatro días; en el perro de ocho y quince días, los fenómenos son menos acentuados y faltan á menudo. Cuando la vegetación fracasa, la autólisis sobreviene, alterándose notablemente las células y fibras nerviosas.

Conviene recordar que en el gato recién nacido ó de pocos días, los ganglios sensitivos normales muestran dos categorías neuronales. Ciertas células son grandes ó medianas y aparecen intensamente impregnables por el nitrato de plata reducido; otras, de ordinario más pequeñas, son incolorables, es decir, exhiben retículo indiferente á la plata coloidal ó que la atrae muy débilmente. Sólo en las neuronas grandes y negras, dotadas de red neurofibrillar muy marcada, preséntanse con evidencia fenómenos de retoñamiento.

Son éstos de tres clases: lobulaciones celulares, formación de mazas de origen somático, y formación de mazas de origen axónico.

*Lobulaciones.*—Aparecen de preferencia en las neuronas superficiales, y consisten en la emisión de anchos apéndices, ya fungiformes, ya poliposos, ya hemiesféricos, ya cuadrilongos, etc., cuyo volumen se aproxima en ciertos casos á la del resto protoplásmico nucleado. En las figuras 1, A y B, y 3, E, G, mostramos las formas principales, visibles en nuestros preparados. El lóbulo ó protuberancia exhibe la misma estructura que el soma; en ocasiones, dibújense las redes neurofibrillares con inusitada claridad. No es raro observar que el axon nace del apéndice neoformado, pero más comunmente emerge del pedículo intermedio entre el lóbulo y el soma (fig. 2, C, D). En cuanto al núcleo, encierra vacuolizaciones, afecta aspecto como lobulado y ofrece esferas argentófilas en vías de fusión y poco perceptibles.

En suma, las excrecencias del protoplasma recuerdan enteramente las lobulaciones hace tiempo descritas por Pognat en los ganglios de los que- lonios, y confirmadas y bien descritas recientemente por Levi.

*Mazas y bolas de origen somático.*—Según es notorio después de nuestras observaciones sobre la morfología de los corpúsculos sensitivos del hombre, confirmadas y ampliadas por Nageotte, Marinesco, Levi, Dogiel, Rossi, etc., las referidas células tienden, tanto en estado normal como en el patológico, á reaccionar ante las variaciones químicas del ambiente, emitiendo apéndices en bola, primero subcapsulares, que no tardan en barrenar la cápsula y crecer por los espacios intercelulares.



También en los ganglios ingertados compruébase este fenómeno de retoñamiento, bien descrito por Nageotte, quien ha distinguido, por su diverso tropismo, las expansiones nacidas en el soma y glomérulo de las brotadas en la porción extracapsular del axon. Ciertos autores, tales como Rossi y Levi, han sorprendido apéndices en bola hasta en los ganglios normales de mamíferos jóvenes.

Las mazas aparecidas en los ganglios cultivados en estufa, discrepan de las ordinarias por estos tres caracteres: son, por lo común, mucho más voluminosas, ostentan más recio pedículo y no revelan jamás forro capsular. Adivínase que son formaciones improvisadas, especie de lóbulos celulares, cuyo pedículo se angostó y estiró sucesivamente, y cuyo abultamiento final, sumamente robusto, barrenó la cápsula sin dar tiempo á que se elaborase un aparato protector. Otro rasgo privativo de tales mazas consiste en exhibir textura reticular perfecta, enteramente análoga al almacén neurofibrillar del soma, en vez de ese aspecto homogéneo, ó casi homogéneo, característico de las bolas terminales hasta aquí descritas por los autores.

En las figuras 1, 2 y 3 mostramos algunos ejemplos, tomados de tres ó cuatro cortes de un ganglio en que abundaban los referidos apéndices. El caso más común consiste en la presencia de mazas de mediano tamaño, con breve y recio pedículo (fig. 3, C, B); otras veces, la maza es enorme, de figura ovoidea ó esferoidal (figs. 3, E, y 2, A); en fin, en ocasiones, la maza afecta menor dimensión y pende de largo pedículo, que tiende á adelgazarse en la porción próxima á la célula (fig. 2, d).

Dicho pedículo ofrece, en ocasiones, ensanchamientos fusiformes ó tuberosos, al nivel de los cuales aparece con claridad el almacén neurofibrillar (fig. 2, d). La mayoría de estos apéndices en bola ó maza parecen constituir neoformaciones recientes; sin embargo, alguna de ellas pudiera preexistir en el ganglio normal; á tal especie pertenece quizás la bola y largo pedículo reproducido en la fig. 1, e, que recuerdan mucho, por su homogeneidad y otros caracteres, las formaciones similares de los ganglios humanos, aun cuando falte la cápsula protectora.

*Apéndices de origen axónico.* — En los cortes de ganglio guardado en estufa, aparecen todas las fases del brote y crecimiento de prolongaciones axónicas, cuyos atributos morfológicos coinciden enteramente con los característicos de las expansiones somáticas. Comienza la emisión de la rama nueva por un abultamiento tuberoso, de ordinario monolateral, á cuyo nivel la red neurofibrillar se presenta relativamente laxa y rica en neuroplasma (fig. 3, c, d), y crece después el abultamiento, colgando de pedículo relativamente ancho; en fin, el pedículo se estira (figs. 1, h, y 3, g) y el lóbulo final camina por entre las células vecinas, apartándose



más ó menos del axon de origen, hasta chocar contra un obstáculo (figura 3, *e*). Cualquier segmento del axon puede originar los expresados apéndices. Hay, sin embargo, un lugar de preferencia: la porción extracapsular vecina de la célula.

Notemos que en el gato recién nacido, el glomérulo apenas si está iniciado, y por tanto, apenas si existe porción intracapsular. A esto se debe

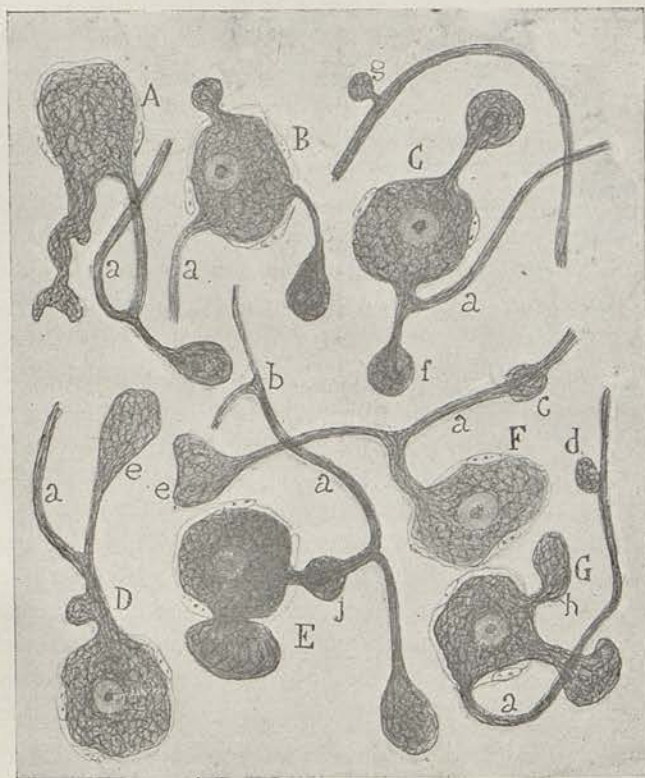


Fig. 3. — Células gangliónicas del gato de pocos días. — *a*, axon; *b*, bifurcación normal; *e*, expansiones piriformes nacidas en el axon; *c, d, g*, fases de la formación de apéndices axónicos; *j*, apéndice esferoidal nacido cerca de la célula; A, célula con una expansión rameada; B, C, células con apéndices somáticos acabados en bolas; E, célula provista de grueso lóbulo; G, otra con dos lóbulos.

quizás el que casi todos los apéndices sean extracapsulares. En algunas células (figs. 3, *f*, y 2, *c*), estas expansiones emanan casi del arranque del axon, tan cerca de la cápsula, que semejan á veces lóbulos protoplásmicos.

Con frecuencia, el espesor de la rama portadora del lóbulo final es tan espesa, que iguala y aun supera al diámetro ulterior del cilindro-eje.



Diríase que se trata de la bifurcación normal, una de cuyas ramas se habría retraído, terminando en bola (fig. 3, E, F). Mas esto es pura apariencia, prontamente disipada cuando se explora el curso ulterior del axon, en el cual cabe ser sorprendida siempre la división, bien conocida, en rama interna y externa (fig. 3, b). Por excepción aparecen axones con dos lóbulos ó ramas acabadas en maza. Ni faltan disposiciones más complicadas, como la copiada en la fig. 3, E, en donde el axon, antes de emitir espesa rama acabada en esfera, ensaya la producción de grueso lóbulo. Añadamos que las referidas ramas no parecen obedecer en su marcha á tropismos bien determinados. Al verlas crecer en todas direcciones producen la impresión de caminar ciegamente, según la dirección de la menor resistencia.

En las fibras nerviosas de la substancia blanca gangliónica y raíces nerviosas, no hemos advertido fenómenos de ramificación. En general, imprégnanse perfectamente y se presentan normales; algunas, empero, inician tal cual varicosidad. La mielina no parece alterarse mucho. No habiendo aplicado el ácido ósmico, nos abstenemos, sin embargo, de formular sobre esto juicio definitivo. En cuanto á las células subcapsulares y á los corpúsculos de Schwann, no presentan indicios de multiplicación ni de alteración.

Para ver hasta qué punto los referidos fenómenos son debidos á la supervivencia extraorgánica, hemos practicado observaciones comparativas en ganglios del gato joven normal. En la inmensa mayoría de los cortes no es posible descubrir ni lobulaciones ni apéndices de bolas. A fuerza de rebuscar, hemos reconocido, aunque con gran rareza, tal cual célula provista de expansión acabada en bola extracapsular. Con relación á estos apéndices normales importa notar, aparte su excepcionalidad, que el pedículo afectaba gran finura, careciendo de estructura apreciable y que la bola final, siempre minúscula, mostrábase casi hialina.

En ningún caso se perciben esas recias mazas y lobulaciones perfectamente reticuladas que reproducimos en las figuras precedentes. Respecto á las lobulaciones somáticas, hemos hecho también observaciones de *contrôle*, comprobando asimismo que son rarísimas. Ciertamente que á fuerza de examinar cortes sorpréndese tal cual neurona de contorno festoneado y aun provisto de excrecencias, pero jamás adquieren éstas aspecto de grandes lóbulos pediculados. En fin, una comparación del número de producciones de este género en los ganglios conservados y en los normales, resulta muy interesante. Mientras que en los ganglios torácicos normales (gato recién nacido) es preciso examinar docenas de cortes para tropezar con un apéndice de bola (y á veces no se halla ninguno), en un sólo corte



del mismo ganglio torácico cultivado cabe sorprender 10, 12 ó más corpúsculos con neoformaciones apendiculares recientes.

En resumen, las precedentes observaciones nos parecen probar que en determinadas condiciones favorables (ciertas especies animales, ganglios en vías de evolución, asepsia, exclusión de terrenos extraños al plasma intercelular normal, etc.) las neuronas sensitivas gangliónicas separadas del animal son capaces de sobrevivir *in vitro* veinticuatro horas ó más, desarrollando activos procesos neoformativos. Experimentando en las mismas condiciones, no hemos conseguido hasta ahora comprobar la supervivencia de las células nerviosas del cerebro, cerebelo y médula espinal. Ciertamente que en estos centros, conservados en estufa, reconocense á las veinticuatro horas neuronas poco ó nada modificadas; mas faltando en ellas fenómenos evidentes de retoñamiento, nos vemos imposibilitados para fallar con certeza acerca de su vitalidad.

**Resistencia de las fibras ameduladas á la autólisis.**—En nuestros trabajos tocantes á los efectos de las lesiones traumáticas de nervios y centros nerviosos, hemos notado que las fibras meduladas se comportan de otro modo que las desprovistas de mielina. Mientras que los axones medulados separados de su centro trófico tórnense rápidamente varicosos y acaban por fragmentarse y resolverse en bolas independientes, los axones amedulados separados de su célula de origen resisten notablemente á la degeneración, conservándose cilíndricos y perfectamente coloreables por la plata coloidal, por lo menos dos semanas después del traumatismo. Semejante contraste de propiedades, que ha sido notado también por Perroncito, Marinesco y Tello, con relación al cabo periférico de los nervios seccionados es, sobre todo, notable en el cerebro, cerebelo y médula espinal, donde se encuentran en ocasiones perfectamente conservadas las dendritas y fibras ameduladas (cabo periférico) hasta en fragmentos ó secuestros de sustancia gris desligados de todo vínculo vascular, y removidos y dislocados bajo la *pia*.

Es más; aquellos axones, por azar aislados y flotantes en pleno líquido cerebro-raquídeo, mantienen su colorabilidad y su morfología algunas semanas, sin otra modificación que retraerse y tornarse flexuosos ó espiroideos.

Tenía interés averiguar si semejante resistencia á la destrucción de las fibras ameduladas depende de la conservación de su vitalidad, ó si se trata más bien de un fenómeno puramente pasivo de inocuidad neurolítica. Para saber á qué atenernos, hemos recurrido á experimentos de neurolysis. Trozos de médula espinal y ganglios procedentes de animales muertos por el cloroformo fueron sumergidos en parafina, aceite, vaselina, esterilizados y conservados por ocho á veinticuatro horas en estufa á 37°.



Por excepción, algunas piezas fueron sumergidas en la solución salina fisiológica ó abandonadas á la putrefacción (estufa á 37°).

Los resultados obtenidos varían mucho con la técnica utilizada y según el animal empleado. En general, cabe, sin embargo, afirmar que en las piezas alteradas por autólisis ó por putrefacción incipiente, las fibras ameduladas, tanto de los trozos de nervio como de centro nervioso, se alteran mucho menos que los tubos medulados, que, por el contrario, son rápidamente destruidos.

Como ejemplos típicos de los resultados obtenidos, mencionemos los ganglios de perro de quince días, mantenidos en estufa y en una solución de sal, por veinticuatro horas. En los cortes de tales ganglios, la mielina hállase fragmentada en gotas de tamaño variable. Las células de Schwann aparecen turgentes, bien aparente el protoplasma subyacente á la membrana, el cual rellena en parte los espacios intermedios á las gotas grasientas. Pero lo más interesante concierne al axon, el cual se presenta fragmentado, flexuoso y en vías de neurolisis. En los preparados del nitrato de plata reducido, las neurofibrillas aparecen destruidas y reducidas á un magma granuloso. Diríase que, conforme afirma Marinnesco, han sufrido una verdadera digestión.

Por lo demás, los pedazos de axon en neurolisis se muestran rodeados de la gota mielínica, como ocurre también en el proceso de degeneración ordinaria, y según ha notado recientemente Nageotte (1), en los tubos nerviosos vivos disociados y conservados en cámara húmeda y estufa. El método del nitrato de plata colorea exclusivamente el espongionplasma del axon fragmentado, no apareciendo la corteza de hialoplasma que Nageotte ha observado en torno de los cilindros-ejes de los nervios disociados. En fin, como ha demostrado este sabio, el proceso de la ruptura y neurolisis axónica es mucho más precoz en los ganglios y nervios conservados en estufa que en el cabo periférico de un nervio seccionado.

Muy diferentemente se comportan las fibras ameduladas, las cuales permanecen, en su mayoría, de neuronas de pequeña ó mediana dimensión; coloréanse intensamente por el nitrato de plata y no revelan el menor indicio de fragmentación. Sólo alguna comienza á mostrarse granulosa, según ocurre en las piezas donde se ha iniciado la infección.

En los ganglios cultivados en el globo del ojo, la neurolisis de las fibras meduladas es muy precoz. A las ocho horas quedan muy pocas sin mostrar fenómenos de fragmentación. Los trozos axónicos preséntanse granulosos, arrugados y á veces sembrados de vacuolas. En algunos preparajes, los cilindros-ejes mielínicos hallábanse menos alterados, conser-

(1) Nageotte: La mort du cylindraxe. *Compt. rend. des séances de la Société de Biol.*, t. LXVIII, 2 Mars 1910.



vándose trozos relativamente considerables y más ó menos varicosos. La porción inicial ó glomerular encuéntrase á menudo más desintegrada que el segmento recubierto de mielina. En fin, el soma mismo de las células repugna la plata coloidal y aparece más ó menos alterado. Como en el caso anterior, las fibras ameduladas se conservan bien, así como sus células de origen. Fibras y células destacan perfectamente por su persistencia y colorabilidad en medio de las ruinas de los conductores amedulados.

En la médula espinal desarróllanse fenómenos semejantes. Estudiando secciones longitudinales impregnadas por el nitrato argéntico, se reconoce que, mientras casi todos los axones medulados de la substancia blanca han desaparecido, fragmentándose y reduciéndose á granulaciones, las fibras ameduladas subsisten, destacando del fondo general granuloso por su color negro y perfecta conservación. Hecho curioso es que las células de origen se comportan lo mismo que las fibras. Así, en tanto que las células motrices, y en general todas las neuronas provistas de cilindros-ejes medulados, se presentan pálidas, granulosas, en plena neurolisis, las células de que parten axones todavía amedulados (perro joven) conservan su red neurofibrillar, así como su axon y sus expansiones dendríticas; hay, sin embargo, excepciones.

Semejante particularidad permite seguir fácilmente la marcha de la expansión nerviosa hasta la substancia blanca, perseguir su itinerario longitudinal y sorprender, en fin, sus colaterales. El núcleo y nucleolo consérvanse bastante bien, mostrando claramente las esferas nucleínicas, las cuales, contra lo que habíamos presumido, subsisten hasta en las piezas en que se ha iniciado la infección por los microbios del aire.

Por lo demás, con relación al mencionado contraste entre fibras meduladas y ameduladas, las mejores preparaciones son las obtenidas en la médula espinal de perro joven, conservada por diez á veinte horas en solución fisiológica de sal ó simplemente mantenida por igual tiempo en cámara húmeda y estufa. Iniciada la putrefacción, adicionanse grandes alteraciones en la substancia gris, que acaba por reblandecerse y destruirse.

En suma: como Nageotte ha demostrado para los tubos medulados periféricos guardados en estufa y en solución salina indiferente, también los tubos medulados centrales se alteran rápidamente bajo la acción del calor y de la autólisis, mostrándose á menudo fragmentados y reducidos á detritus á las doce ó catorce horas después de la muerte, cuando durante la degeneración walleriana normal su fragmentación y disolución exigen, según es sabido, muchos días y aun semanas. En cambio, las fibras no meduladas resisten notablemente á la autólisis, en lo cual nos



inclinamos á ver, no un fenómeno de supervivencia, sino de relativa refractariedad á las sustancias neurolíticas.

**Resistencia á la autólisis de las neurofibrillas de los nervios musculares.**—Dejamos referido que los tubos nerviosos de las raíces medulares y de los ganglios del gato joven se mantienen, después de un día de cámara húmeda y de estufa, muy poco alterados, si se guardan rodeadas de una masa algo espesa de tejidos (columna vertebral y músculos espinales). El mismo fenómeno se advierte en los nervios musculares, los cuales, tanto en el gato como en el conejo recién nacido, conservan sus neurofibrillas y aptitud para fijar la plata coloidal cuarenta y ocho y hasta cincuenta y cuatro horas después de separados del animal, con tal de que sus células de origen, sensitivas ó motoras, no estén destruidas y aquéllos residan en el espesor de tramas musculares empapadas en plasma nutritivo.

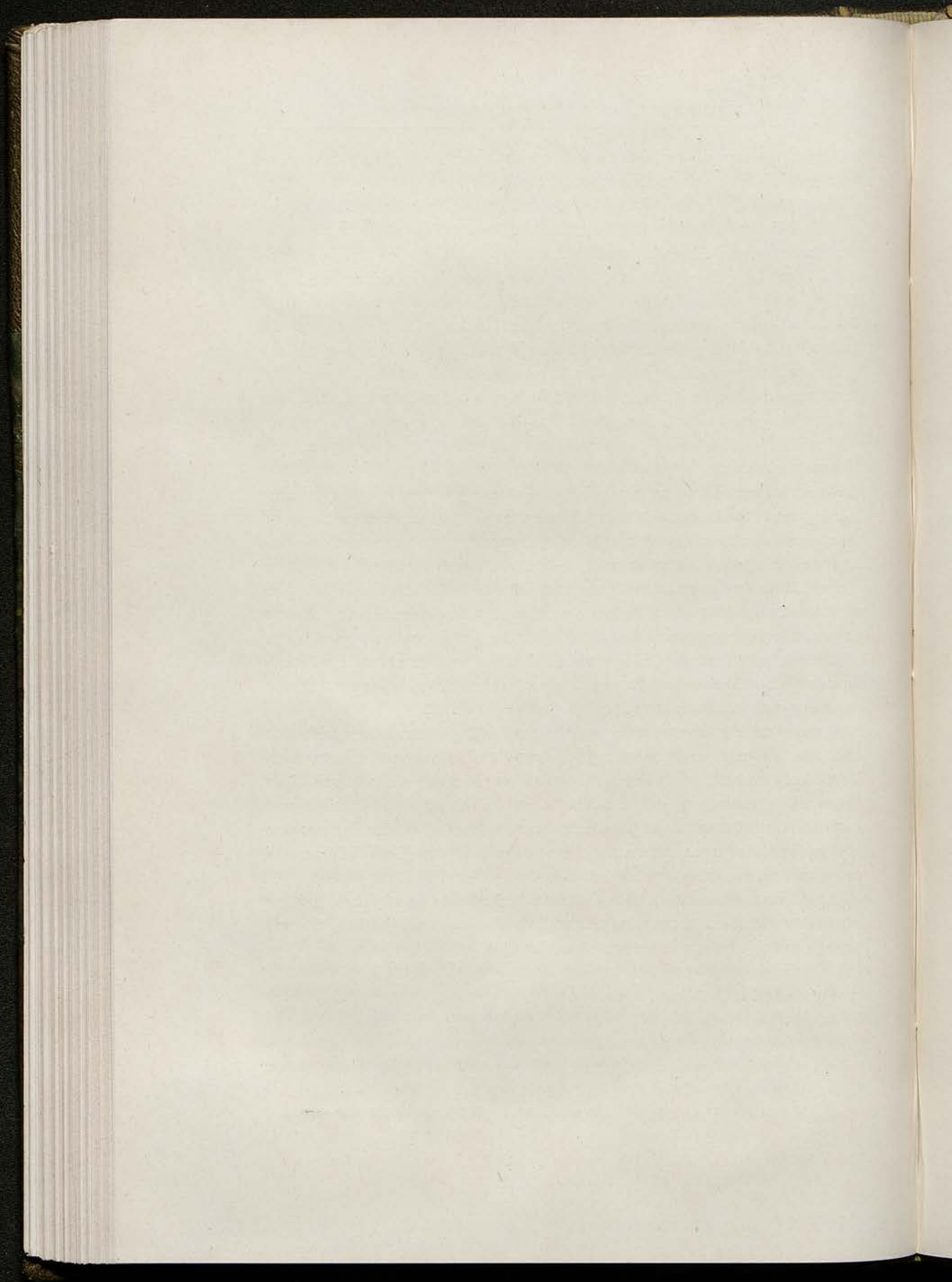
Merced á semejante persistencia, que afecta por igual á fibras meduladas y ameduladas, cabe perseguir los nerviecitos musculares hasta su terminación en la placa motriz, la cual, sin embargo, suele mostrarse pálida y algo menos bien conservada que los axones aferentes.

Tenia interés determinar el comportamiento de los axones al nivel de su interrupción por el instrumento cortante (raíces después de dos días de estufa). Las preparaciones del nitrato de plata revelan que el cabo central de los cilindros-ejes ha sufrido algunas metamorfosis, identificables en principio con la degeneración traumática del cabo central de los cordones nerviosos seccionados.

Al nivel de la interrupción, aparecen axones finos retraídos y acabados en bola; axones recios terminados por voluminoso abultamiento fusiforme ó claviforme, y, en fin, otros provistos en su segmento terminal de dos ó más gruesas varicosidades. En ciertos abultamientos descúbrese grandes vacuolas, como si paralizada la metamorfosis neurofibrillar por agotamiento de jugos alimenticios ú otras causas, hubiérase iniciado la neurolisis de las bolas de retracción.

Prescindimos por ahora de las interpretaciones de estos y otros hechos ofrecidos por los experimentos de autólisis. En otro trabajo discutiremos su significación y expondremos otros detalles.







## SUR LA KARYORRHEXIS NEUROGLIQUE

PAR

GONZALO R. LAFORA

Histopathologist of the Government Hospital for the Insane in Washington.

L'étude d'un cas d'épilepsie (fait à la clinique psychiatrique de Munich) avec nombreuses formes de karyorrhesis dans les cellules neurogliales, spécialement de la corne d'Ammon, nous a décidé à rechercher les rapports que ces cas présentent avec différentes maladies mentales.

L'épilepsie coïncide assez fréquemment avec ce que Schmaus et Albrecht ont appelé la *pyknose*, c'est-à-dire, la coloration confuse et foncée des noyaux, due à la condensation massive et à la homogénéisation de la chromatine; coïncide aussi avec l'*achromatie*.

En ce qui concerne la karyorrhesis, elle a été décrite par plusieurs savants dans différentes revues et dans des conditions d'expérimentation très diverses. Nous ne ferons pas ici un exposé détaillé de chacun de leurs travaux, mais il nous semble indiqué de mentionner ici quelques unes des plus importantes publications faites sur cet sujet.

Klebs, qui étudia ces états dans les nécroses, considéra comme différentes la *karyolysis* ou disparition de la chromatine, et la *karyorrhesis* ou dislocation de petites masses de chromatine en dehors des noyaux, admettant avec Gaule et Stolnikow une destruction totale ou partielle de la membrane nucléaire. Litten (ligature des artères renales) et Murset (empoisonnement avec de l'aloïne) considéraient ces états comme produites sur les tissus, par l'action de substances toxiques, et par l'anémie. A ces études ont succédé plusieurs autres, comme ceux de Demarbaix sur les cellules de la moelle des os, de Ziegler et Obolonsky sur l'empoisonnement par le phosphore et l'arsénique, de Pfizner sur les néoplasmes, les cellules épithéliales et le sang, de Rabl sur les cellules épidermiques que se cornifient, de Flemming sur les follicules de Graaf, de Schottländer sur les ovaires (rats, chiennes), de Ruge, de Paladino, de Löwenthal (ovaires de salamandre et de siréon pisciformis d'une part, de chienne, de vache, et brevis d'autre part), et enfin les travaux



de Hermann sur le noyau des spermatocytes et l'épithélium bucal de la salamandre, de Heidenhain sur le triton, d'Alvioli, de Schmaus et de Albrecht sur les reins anémiés expérimentalement, de Hoyer sur les glandes lymphatiques, de Ströbe, Cordorelli et Stolnikow sur le foie, de Cornil et Bouin sur les cellules testiculaires, de Dittrich et Cazin dans les neoplasmes. Schmaus et Albrecht ont fait aussi des études sur les reins traités par l'acide cyanhydrique et sulfurique. Après ces expériences viennent celles de Kraus faites en employant l'acide carbonique et la chaleur. Dernièrement a paru un travail d'Anglas sur l'histolyse et l'autolyse des tissus fœtaux macérés (*Journal de l'anatomie et de la physiologie*, 1909), dans lequel il fait un rapport vraiment minutieux sur les dégénérescences nucléaires en divers tissus fœtaux.

Tels sont les principaux travaux sur ce sujet. Nous pouvons encore mentionner ceux de Minerbi, Petri, Biondi, Aymerich et Pfeiffer sur les phénomènes d'autolyse et eux de Cazin sur les dégénérescences cellulaires.

Quant à la description de la karyorrhexis néuroglie, les uniques renseignements que nous puissions recueillir, sont ceux de Deveaux; dans son travail sur les foyers de nécrose de l'écorce cérébrale, cet auteur donne quelques dessins de cellules néurogliales avec karyorrhexis (Taf. XVI, fig. 12 et 13) et accompagne une brève description. Elles correspondaient à la zone de nécrose (dans les six heures suivantes à la intervention) et se trouvaient exclusivement dans la substance blanche; Deveaux considère ce phénomène comme l'effet d'une dégénération des cellules néurogliales. De même Alzheimer dans son dernier étude sur la néuroglie pathologique (cellules amiboïdes néurogliales) et leur importance dans les procès de désintégration du système nerveux, dessine et décrit brièvement ce procès dégénératif.

Pour nos investigations, nous nous sommes servis des méthodes de Heidenhain, van Gieson, combinaison de la méthode de Heidenhain et de la coloration protoplasmique du vert de lumière, méthode de Pappenheim, la thionine, toluidine, la méthode de Unna (bleu polichrome), et les méthodes de Mann (1) et Ranke pour la néuroglie.

Les états pathologiques que nous avons trouvés on peut les classer sous trois formes connues, savoir: *pyknose*, *karyorrhexis* et *achromatie* ou *hypochromatie*. Dans la pyknose, comme nous l'avons déjà dit, le noyau néuroglial est d'une couleur foncée et uniforme, semblable à la disposition de la chromatine. Dans les cas dont nous sommes occupés elle se présentait assez fréquemment mêlée avec la karyorrhexis, mais cette ne

(1) Modifiée par Alzheimer au moyen de macération ou mordantage des coupes plongées pendant trois heures dans une solution saturée d'ac. phosphomolibdique.



constitue pas la règle, parce qu'elle apparaît aussi individualisé, s'étendant à plusieurs noyaux, lesquels sont amincis et comme atrophiés; c'est aussi un très commun fait de trouver ces cellules dégénérées avec une forme allongée.

L'achromatie alterne en fréquence avec la pyknose; elle consiste en une pâleur d'intensité variable affectant les noyaux neurogliaux en voie de dégénérescence, et qui de la même façon que la pyknose peut apparaître isolée ou bien associée avec la karyorrhesis. Elle semble même, être une phase consecutive à la karyorrhesis extrême. Dans cette altération le noyau est faiblement coloré, tandis que les noyaux immédiats montrent une coloration beaucoup plus intense; cependant, on constate souvent sur les noyaux quelques traces de chromatine qui ne prennent pas des couleurs aussi intensivement qu'auparavant.

Mais la plus importante de toutes les trois formes ou phases de la dégénérescence nucléaire c'est la karyorrhesis, qui se manifeste à divers degrés. La forme plus caractéristique est celle où la chromatine est expulsée de l'intérieur du noyau, et apparaît sous la forme de petits blocs ovales ou piriformes de diverses grandeurs; la plupart d'entre eux conservent un rapport avec le noyau, au moyen de filaments qui participent aux mêmes réactions colorantes que les blocs. Nous n'avons pas vu que très rarement, des sphérules libres et sans relation avec le noyau. Cette dégénérescence dernièrement décrite et qu'on connaît sur le nom de karyorrhesis ou autolyse, peut présenter bien des formes diverses et des états antérieurs ou précédentes. Le premier de ces états, nous semble être une certaine condensation de la chromatine en quelques grosses sphérules qui adoptent encore des positions variables à l'intérieur du noyau. De cette phase on passe insensiblement à une accumulation de sphérules au centre du noyau; cette forme a été aussi décrite par Schmaus, qui l'appelle *Gerusthiperchromatose*, c'est-à-dire, hyperchromatose centrale ou réticulaire. Après cette phase nous trouvons souvent la phase qui paraît précéder immédiatement l'expulsion de la chromatine en dehors du noyau; c'est ce que Schmaus a appelé *Kernwandhiperchromatose* ou hyperchromatose de la membrane nucléaire. Elle consiste en une accumulation de sphérules de chromatine à la surface intérieure de la membrane nucléaire, lesquelles déterminent quelquefois des protuberances de la membrane, sans doute à cause de leur tendance explosive. Cette forme s'approche beaucoup de la première phase de la chromatolyse, décrite par Flemming dans les procès de dégénérescence des follicules de Graaf.

Les formes ultérieures de la karyorrhesis, dont nous donnons ici quelques figures, procèdent de diverses affections nerveuses, qui sont les plus intéressantes; elles montrent une interminable variété d'aspects les plus



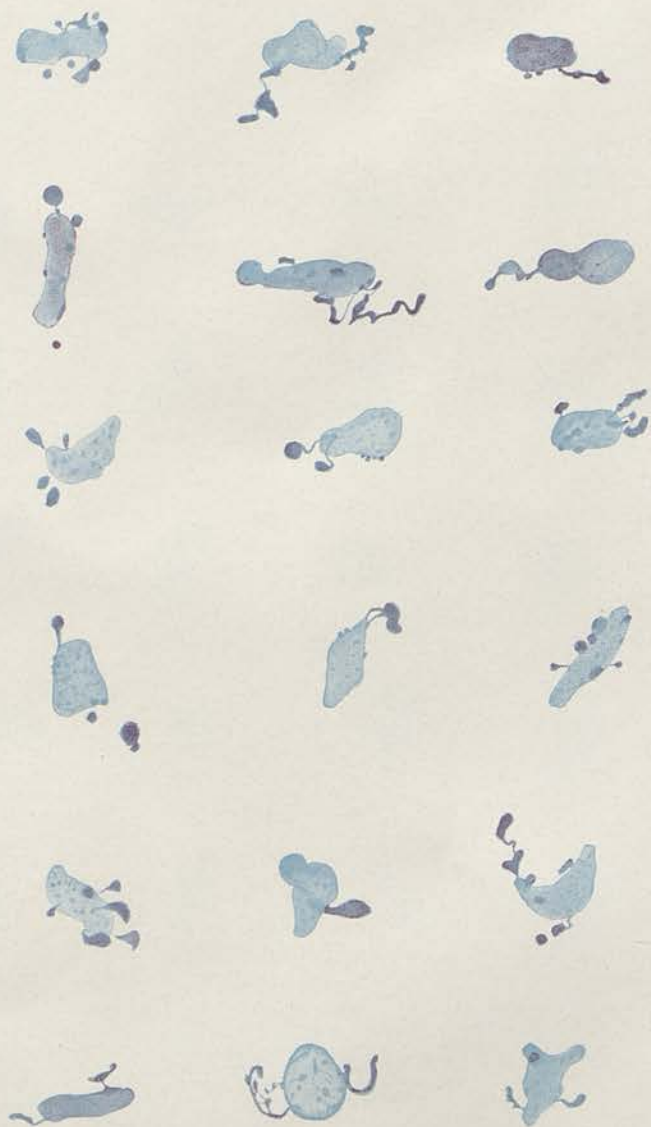
bizarres. Dans toutes ces formes la chromatine, une fois sortie de la membrane nucleaire, prend diverses positions; quelques-unes sont très bien révélées par la méthode de Heidenhain, que fournit des splendides préparations, aussi que par d'autres méthodes déjà énumérées. Les masses de chromatine restent adherentes à la surface de la membrane nucleaire, où elles constituent des petites chaperons attachés aux pôles du noyau ou bien elles forment une chaîne tout autour de lui; parfois elles se séparent de la membrane, ne restant en rapport avec elle, qu'au moyen de pieds solides, constitués par la même substance chromatique, ou par des filaments très fins, quelquefois très difficiles à distinguer, que l'on peut aussi admettre comme constitués de la même chromatine, amincis et atténués par la tendance déjà mentionnée à la séparation centrifuge. Nous avons pu observer aussi, des masses en rapport avec la membrane par deux filaments. Dans quelqu'un de ces noyaux dégénérés on ne voit qu'une ou deux masses chromatiques de assez grande dimension, siégeant dans un ou dans les deux pôles du noyau, tandis que d'autres montrent un grand nombre de petites sphérules ou masses piriformes qui entourent toute la surface nucleaire. Il y a, enfin, d'autres formes bigarrées et si compliquées qui échappent à une description précise, et dont les figures que nous ajoutons ici au texte, donnent une idée plus exacte (figs. 1 et 2).

Toutes ces formes récemment décrites, sous lesquelles la chromatine sort de la membrane nucleaire, ont été appelées par Schmaus «Kernwandsprossungen» (rejetons de la membrane nucleaire) nom qui nous semble bien approprié.

Le premier specimen où nous avons observé formes nombreuses et variées de cette dégénérescence nucleaire a été une corne d'Ammon d'un malade atteint d'épilepsie. Il s'agissait d'une corne d'Ammon extrêmement atrophiée, où l'on constatait une prolifération intense des cellules neurogliales, avec hyperproduction fibrillaire. Les fibres neurogliales prenaient l'argent de la méthode de Bielschowsky avec grande affinité, ainsi que le bleu Victoria de la méthode de Ranke. Tout dernièrement nous avons observé d'autres cas de maladies nerveuses et mentales. Dans deux cas de gliomes nous n'avons pas trouvé des phénomènes de karyorrhexis; à la périphérie d'un tubercule cérébral ayant une grande quantité de cellules plasmatiques, on ne voyait non plus de karyorrhexis neurogliale; dans autre cas de méningite syphilitique de la moelle épinière, elle existait très rarement; nous citerons encore un exemple de gomme syphilitique siégeant à la *substantia nigra* et dans le noyau rouge (procedant de la clinique psychiatrique de Washington) où l'on pouvait voir quelques rares phases de la dégénérescence en question. En trois



FIG. 1.<sup>a</sup>



**Epilepsie.** — CELLULES NEUROGLIQUES DE LA CORNE D'AMMON AVEC KARYORRHEXIS;  
COLORATION AVEC LA TOLUIDINE.



THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS  
CHICAGO, ILL. 60637  
PRINTED IN THE U.S.A.



FIG. 2.<sup>a</sup>



Epilepsie. — CELLULES NEUROGLIQUES DE LA CORNE D'AMMON AVEC KARYORRHEXIS;  
MÉTHODE DE HEIDENHAIN.







aupropsies de paralysie generale nous n'avons pas pu distinguer cette dégénérescence; un des cas montrait grande atrophie des circonvolutions, et hiperplasie vasculaire extraordinaire, avec paquets, nœuds et tresses vasculaires. Dans un malade mort consecutivement à la psychose de Korsakoff, cette dégénérescence manquait complètement. Dans trois cas de pelagra, seulement un présenta très rares karyorrhesis à la moelle épinière, mais non au cerveau. Par contre, en divers cas de demence senile et arterio-sklerotique (procédant de la clinique psychiatrique de Berlin) on pouvait voir plussieurs cellules neurogliales affectées de cette dégénérescence. Dans un cas de hemorragie recente du cerveau, on ne voyait pas de karyorrhesis; en revanche dans une hemorragie experimentale de l'écorce cérébrale optique chez un singe operé au Laboratoire de Washington par le Dr. Franz (cauterisation de la pia de cette region) et tué douze jours après l'intervention, on pouvait constater les diverses phases de la karyorrhesis à la proximité de l'hémorragie déterminée par la cauterisation des vaisseaux corticaux. Dans un lapin injecté d'encre chinoise et morte trois heures après cette intervention à cause de une hemorragie extensive intracérébrale, il manquait tout phenomène karyorrhectique.

Maintenant, quelle est la signification de ce phenomène? D'abord il s'agit sans doute, de un procès regressif de dégénérescence nucleaire, lequel s'observé bien souvent chez les atrophies du système nerveux et qui par contre est rare dans les tumeurs de nature neurogliale, où la neuroglie montre una activité proliferative extraordinaire. Cependant dans les cas avec atrophie où nous l'avons pu constater, il y avait aussi hiperplasie neurogliale, quoique non aussi intensive que dans les glyomes. La karyorrhesis est limitée à certaines zones, où ces cellules abondent, tandis que dans les prochaines zones elles sont bien rares. Il semble par consequence que cette altération peut dependre d'un defaut partiel de nutrition du tissu nerveux, du à une insuffisance d'impregnation du celui-ci, ou par quelque autre raison qui est encore inconnue. Il est fort probable encore, que les différences de la tension osmotique et de la concentration des ions des liquides intra et extracellulaires (determinés bien par un travail excesif (fatigue) ou bien par de circonstances éloignés de l'activité cellulaire) provoquent ces phenomènes qui peut-être, ont un étroit rapport avec la rétraction et le gonflement des globules rouges placés dans des liquides hypo- et hypertoniques, comme aussi avec tant d'autres phenomènes que nous connaissons aujourd'hui. Cette retraction et le gonflement nucleaire est aussi un phenomène que l'on constate simultanément avec la karyorrhesis affectant les cellules neurogliales et correspondant à la *Kernschrumpfung* et *Kernquellung* de Schmaus.



D'après Weigert, il s'agirait d'une impregnation (Durchströmung) du tissu mort par la lymphe que la traverse et qui dissout la chromatine. Kraus croit en une transformation chimique de la chromatine et en une dissolution de celle-ci produite par le plasma. Pour cet auteur, la transformation de la chromatine en une substance indifférente aux matières colorantes serait un phénomène typique de la mort cellulaire. Klebs fait une distinction entre karyorrhexis et karyolyse; la dissolution ou corrosion de la chromatine serait déterminée d'après cet auteur, par substances de réaction alcaline (amines). Arnheim admet que les cellules mortes fixent si peu sa chromatine, que celle-ci est attirée par des substances, qui, quoique traversant continuellement les noyaux, ne peuvent cependant les affecter, quand ils sont encore vivants, et il considère toutes ces altérations comme déterminées par des combinaisons chimiques de nature alcaline. Israel est de ce même avis. Schmaus admet aussi la corrosion de la chromatine et observe que dans les parties les moins pourvues de sang la karyorrhexis est plus considérable que dans les zones distancées de ces parties. Les auteurs varient d'opinion sur la signification de ces phénomènes. Tandis que Klebs admet un processus progressif, Stroebe ne voit pas, par contre, que un phénomène regressif. Arnold croyait que les cellules en dégénérescence peuvent encore se diviser, tandis que Demarbaix considère toutes ces formes de dégénérescence nucléaire comme le résultat d'un simple phénomène cadavérique. Pour Schmaus et Albrecht, on ne peut pas établir une limite nette entre les dernières manifestations vitales correspondant à la nécrobiose et les altérations cadavériques cellulaires (necroses).

Nous avons vu, que la karyorrhexis est une dégénérescence qu'on peut considérer comme préliminaire de la mort cellulaire, qu'elle a différentes graduations et états, et que dans le système nerveux elle semble relever de l'atrophie du tissu nerveux, quoique elle puisse aussi apparaître isolée; elle affecte enfin les cellules neurogliales comprises dans les processus locaux et généraux.

#### BIBLIOGRAPHIE

- (1) *Aievoli*: Prime ricerche sperimentali sulla istologia patologica del nucleo. Napoli, 1890.
- (2) *Anglas*: De L'Histolyse et de l'autolyse des tissus foetaux macérés *Jour. de l'Anatomie et de la Physiologie*, 1909.
- (3) *Alzheimer*: Beiträge zur Kenntnis der pathologischen Neuroglia und ihrer Beziehungen zu den Abbauvorgängen im Nervengewebe. *Histol. u. histopathol. Arbeiten*, etc. von Nissl und Alzheimer.



- (4) *Cazin*: Contribution à l'étude des dégénérescences cellulaires. *Jour. de l'Anat et de la Physiol.*, 1899.
- (5) *Cordorelli*: Istiopatologia del nucleo nelle contusioni. Catania, 1891.
- (6) *Deveaux*: Étude histologique des foyers de nécrose de l'écorce cérébrale. Histolog. u. histopatolog. Arbeiten uber die Grosshirnrinde von Nissl u. Alzheimer, II Band, 1908.
- (7) *Minerbi*: Sul decorso dell'autolysis del rene in alcune forme di nefrite. *Riforma medica*, t. XIX, n° 6 1903.
- (8) *Pfeiffer*: Antolyse leukämischen und leukocytotischen Blutes. *Wiener klinische Wochenschrift*, vol. XIX, pl. 249.
- (9) *Schmaus et Albrecht*: Ueber Karyorrhesis. *Virchow's Archiv*. CXXXVIII, 1894.

Washington, Junio 1910.









## Algunos datos concernientes á la anatomía patológica del leproma

POR

E. DEL RÍO LARA

Profesor de Anatomía patológica en la Universidad de Santiago.

La Anatomía patológica de la lepra está hoy bastante adelantada. Después de la obra fundamental de Virchow (1), en la cual fué por primera vez descrita la célula conectiva vacuolada, elemento esencial del nódulo leproso, el estudio histológico del leproma ha sido objeto de numerosos trabajos. Entre ellos merecen recordarse, además de las obras fundamentales de Hansen (2) y Neisser (3), las de Arning, Baumgarten, Torton, Klebs, Cornil, Babés, Sudakewitsch, Lutz, Unna, Vosius, Hernando, Melcher y Ortmann, Kühne, Chassiotis, Schautsenk, Sakurane, Cajal, Thoma, Bordoni-Uffreduzzi, Siebert, Oppenheim, Nicolle, etc., etc.

No es nuestro propósito repetir aquí descripciones que podrán hallarse en los libros clásicos de Anatomía patológica, y muy singularmente en las obras de Ziegler, Cornil, Klebs, Thoma y Cajal. Cúmplenos solamente exponer algunas particularidades histológicas poco conocidas y aportar nuestro modesto parecer acerca de cuestiones todavía litigiosas, tales como: la presencia en dicha lesión de *células gigantes*, *la existencia en la sangre del bacillus de Hansen*, *la repartición de las células cianófilas y de las Mastzellen de Ehrlich*, *la frecuente basiofilia de la trama conectiva*, etc.

Sobre todos estos puntos, y otros que reservamos para un trabajo ulterior de carácter clínico, poseemos notable caudal de observaciones, gracias al material abundante proporcionado por la Leprosaría de Santiago (Galicia) y el ofrecido por los Establecimientos benéficos de la provincia de Pontevedra, en cuyo litoral los enfermos de lepra son relativamente numerosos.

(1) *Virchow*: Die Krankhafter Geschwülste, 1864-1865.

(2) *Hansen*: Asociación Médica de Cristianía, 1872, y Paraleprose, *Deutsch. med. Wochenschr.*, núm. 38, 1904.

(3) *Neisser*: *Virchow's Archiv.*, vol. LXXXIV y CIII. Véase también: *Ziemsen's Handb. d. spec. Pathol.*, vol. XIV.



**I. Fascículos basiófilos de la trama conectiva del leproma.**— Descubiertos por Unna (1), ilustre dermatólogo de Hamburgo, caracterizanse estos fascículos por no teñirse por la picrofuchina de v. Gieson, y mostrar notable afinidad por las anilinas básicas. Para colorearlos propuso Unna el uso de la fuchina fenicada seguida de la acción fijadora del tanino al 33 por 100, y de una tinción ulterior de fondo á favor del *Wasserblau*. Con este proceder, los hacecillos de colágena ácida quedan azules, y los de colágena básica aparecen rojos. Por lo demás, la citada colágena basiófila fué encontrada por Unna en el dermis de varias enfermedades cutáneas.

Los haces basiófilos fueron confirmados por nuestro maestro Cajal (2), que los encontró de preferencia en el estroma de los epitelomas, carcinomas y adenomas. Según este autor, radican especialmente en las porciones más antiguas del estroma, apareciendo á veces entremezcladas con los haces acidófilos, de los que difieren por ser más suavemente serpenteantes (en vez de formar zig-zags) y exhibir un contenido casi homogéneo. En sentir de Cajal, trataríase de haces caducos, ya que no aparecen nunca en las cicatrices jóvenes, ni en las porciones neoformadas de las neoplasias conectivas, ni en la trama conjuntiva normal de los individuos jóvenes. Para teñirlos propone dos métodos: el bicrómico ó *bi-básico* (coloración en una mezcla de fuchina básica y de azul de metileno); y el *trícromico*, es decir, el proceder hoy tan conocido en que se combina la acción de la *fuchina básica* con la del *picro-indigo-carmin*. Con este último proceder obtiéndose la *colágena acidófila*, de tono azul intenso, y la *colágena basiófila*, así como la *elacina* (*elastina básica*), de color rojo intenso.

Nosotros hemos usado al efecto, con buen éxito, el método de Unna y, sobre todo, el tricómico de Cajal, que da soberbias coloraciones. Por lo demás, se logra asimismo el teñido de los haces basiófilos con otros procederes, tales como la hematoxilina de Ehrlich (que los colorea en gris violado bastante intenso), la tionina y el azul de metileno. La aplicación de una simple solución de fuchina (fuchina fenicada de Ziehl diluída en dos partes de agua), seguida de lavado en agua y de una coloración de fondo, proporciona también excelentes preparaciones.

En el leproma, los haces basiófilos no son absolutamente constantes, pero sí frecuentes. Residen tanto en la trama intercalar á los nódulos leprosos como en el tejido conectivo subdérmico, es decir, por encima de las formaciones lepromatosas. En estos últimos territorios, los citados

(1) *Unna*: Monatshefte f. praktische Dermatologie, 1894.

(2) *S. R. Cajal*: Estudios histológicos sobre los tumores epiteliales. *Rev. trim. microgr.*, tomo I, 1896.



haces constituyen, á menudo, focos ó colonias, de que da idea la fig. 1, B.

Repárese el aspecto flexuoso de los haces en relativa homogeneidad señalada por Cajal y, sobre todo, su predilección por los vasos, en torno de los cuales se conglomeran en remolinos y masas de bastante consideración. Dentro de los nódulos, los fascículos basiófilos son escasos y se hallan como deshilachados y dispersos, á causa de la irrupción celular.

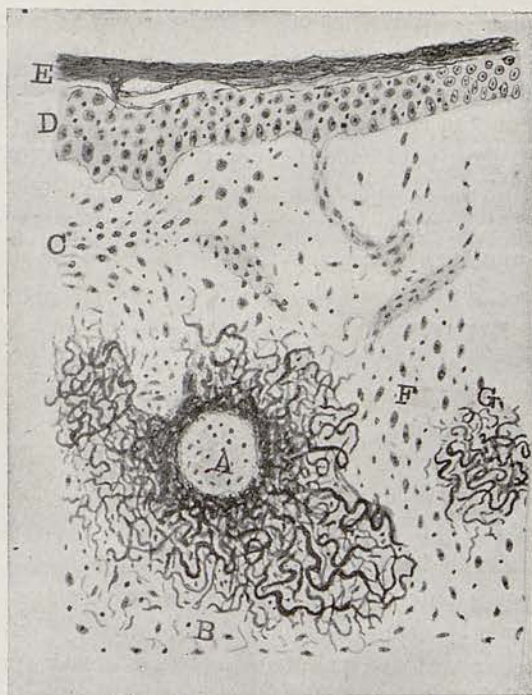


Fig. 1. — Corte de piel de la cara de un leproso. — A, vaso sanguíneo; B, G, haces de colágena basiófila, formando pléyades perivasculares; C, dermis papilar; D, cuerpo de Malphigio.

Su disposición sugiere la idea de que los nódulos lepromatosos aparecieron tardíamente, cuando los haces basiófilos estaban ya diferenciados.

En fin, en algunos territorios intercalares á los tubérculos del leproma encuéntranse entremezclados haces basiófilos y haces acidófilos.

Naturalmente, en el leproma no faltan los haces ordinarios ó acidófilos, ni los *neutrófilos* de Cajal. Las proporciones de las tres categorías de substancia colágena varían mucho en las diversas regiones del leproma. Cabe, empero, afirmar que los haces neutrófilos, que Cajal estima como jóvenes, son relativamente raros, faltando á menudo.



En suma; del estudio consagrado á la trama conectiva del leproma, dedúcese, con gran verosimilitud, que las células de Virchow carecen de las propiedades fisiológicas de los *fibroblastos*, es decir, que son incapaces de elaborar esa materia intersticial, en cuyo seno aparecen los haces colágenos, dado que la mayor parte del estroma lepromatoso exhibe los caracteres del tejido conectivo adulto y aun caduco. Por lo demás, la basiofilia, signo de caducidad, podría explicarse por la acción de sustancias alterantes liberadas por el bacilo de Hansen de los nódulos lepromatosos más ó menos próximos.

II. **Células cebadas en la lepra.**—Como es sabido, las *Mastzellen* de Ehrlich no faltan en ningún tumor de matriz conectiva ni en las inflamaciones crónicas, tales como el tubérculo, el rinoscleroma, la actinomicosis, etc. En el leproma encuéntrase asociadas constantemente al estroma conectivo intercalar. Aparecen relativamente abundantes en la periferia de los nódulos embrionarios y en los tabiques conectivos que los separan. Dentro de los nódulos mismos son raras, aunque no faltan en absoluto, como mostramos en la fig. 2, C. Su forma es alargada, frecuentemente ovoidea, tuberosa ó fusiforme. En su protoplasma, abundante, destacan gránulos de varios tamaños y desigualmente coloreables por la tionina y demás anilinas básicas. A menudo, adviértese en las regiones corticales del protoplasma disgregación y empequeñecimiento de los granos basiófilos, como si el plasma ambiente los disolviera, según afirman Cajal y Calleja.

En alguna ocasión hemos reconocido, mediante la coloración de la tionina, la existencia de atmósferas pericelulares de un material tingible metacromáticamente, como los granos intracelulares mismos. Esta exudación de material basiófilo, ya señalada por Landowsky en torno de las células cebadas de la rana, ha sido bien descrita por Cajal en el hombre, donde aparece frecuentemente en el estroma de diversas neoplasias, empapando los fascículos conectivos inmediatos á la célula. Semejante hecho habla en favor de la hipótesis de Cajal y de Calleja, para quienes las *Mastzellen* serían glándulas monocelulares errantes destinadas á preparar algún material susceptible de prestar al plasma intersticial cualidades alimenticias ó virtudes bactericidas. Bajo este aspecto, la designación de *células alimentadoras* usada por Calleja (1) da idea de dicho papel funcional, sobre el cual nuestras observaciones no aportan por ahora ningún dato aclaratorio.

Se ha supuesto que las células cebadas de Ehrlich vienen de la sangre, representando leucocitos mononucleados, transformados y evolucionados.

(1) *Calleja*: Distribución y significación de las células cebadas de Ehrlich, *Rev. trimestral microg.*, tomo I, 1896.



nados. Tal es la opinión de Maximow, para quien las *Mastzellen* representarían leucocitos emigrantes incapaces de transformarse en fibroblastos.

De nuestras observaciones en el leproma, confirmatorias de otras recaídas en diversas formaciones normales y patológicas, resulta muy probable la opinión de Ballowitz, Bergounini, Cajal, Calleja, etc., autores que reputan las *Mastzellen* como una categoría celular especial, normal en

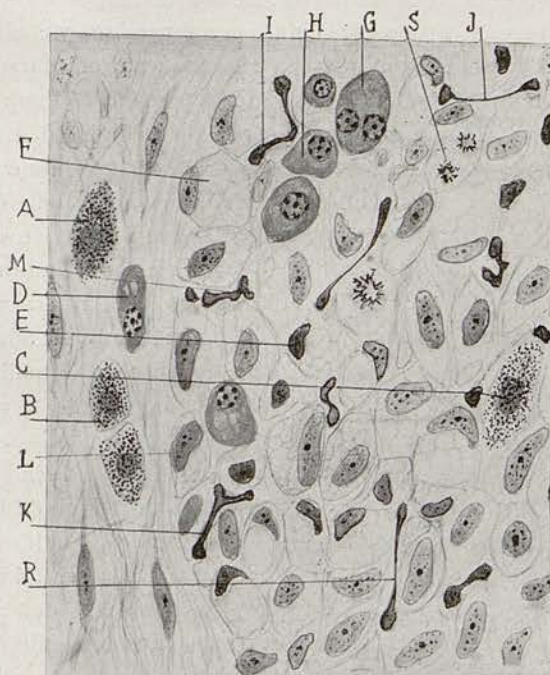


Fig. 2.—Trozo de un corte de leproma. Coloración con la tionina fenicada.—A, célula cebada; B, pareja de células cebadas situadas entre dos nódulos leprosos; C, *Mastzellen* intranodular; D, G, H, células cianófilas; E, célula de Virchow de núcleo obscuro; F, célula de Virchow de núcleo más claro; L, fibroblasto; J, I, R, M, núcleos de leucocitos; S, mitosis.

el tejido conectivo adulto, donde se multiplicarían por mitosis. En favor de este dictamen hablan nuestros hallazgos de células de Ehrlich binucleadas y de parejas de estos elementos, situados en el mismo eje y tangentes por caras planas, como si acabaran de escindirse.

La fig. 2, B, donde mostramos una pareja de las referidas células, resulta bajo este aspecto muy expresiva.

En las células cebadas no hemos hallado nunca bacilos leprosos. Parece, pues, nulo su poder fagocitario y escasa su capacidad emigradora.



Tampoco hay indicios de que contribuyan á la producción de fascículos conectivos.

III. **Células cianófilas** (*células plasmáticas* de Unna).—Estos corpúsculos, descubiertos independientemente por Cajal (1890) y Unna (1891) en diversas lesiones anatómo-patológicas, han sido objeto en estos últimos años de numerosos trabajos (Unna, Jadasohn, Schwart, Marschalko, Marchand, Meyer, Dantschakoff, Maximow, Veratti). Puede decirse que apenas existe tumor ó inflamación infecciosa en donde no se hayan hallado en más ó menos proporción, junto con leucocitos y con fibroblastos embrionarios. Con relación al leproma, nos concretaremos á declarar que las células cianófilas abundan en los nódulos pequeños ó incipientes, aparecen también relativamente numerosas en torno de los nódulos voluminosos y antiguos; pero escasean mucho en el espesor de éstos, donde, como es sabido, domina la célula conectiva vacuolada ó de Virchow. De vez en cuando, sorpréndense corpúsculos cianófilos provistos de dos núcleos, según mostramos en la fig. 2, G, ó con núcleo voluminoso en fase de ovillo ó de estrella madre. Sin embargo, las kariokinesis nos han parecido más frecuentes que en los corpúsculos plasmáticos adultos, en los *elementos cianófilos jóvenes*, es decir, en el corpúsculo cianófilo germinal, señalado por Cajal y observado por otros histólogos (fig. 2, s).

Un hecho negativo interesante consiste en que la célula del plasma ó cianófila carece de poder englobador; por lo menos, en ella no hemos logrado todavía sorprender bacilos leprosos. Sin duda que en los preparados donde los microbios aparecen bien impregnados, resulta laborioso el reconocimiento de las células cebadas, á causa de que el ácido empleado como decolorante menoscaba las apetencias tintóreas del protoplasma basiófilo. Así, el azul de metileno aplicado después del ácido ó con el ácido (método de Gabett), no siempre impregna el citado cuerpo celular.

Con todo eso, es dable reconocer las células cianófilas en las preparaciones tratadas por el ácido nítrico ó sulfúrico diluídos, á condición de usar un color basiófilo de fondo que tiña intensamente los núcleos; porque además del aspecto y basiofilia del cuerpo celular, los citados elementos exhiben estructura nuclear característica muy diversa de la de los demás corpúsculos conectivos del leproma. En efecto, este núcleo, en vez de ser grande, pálido, alargado y con finas redes y grumos de nucleína al modo del alojado en las células de Virchow, y demás fibroblastos, muéstrase esférico, pequeño y encierra cuatro ó seis voluminosos grumos cromáticos, intensamente coloreables por las anilinas básicas y separados por nucleoplasma incoloro y hialino (fig. 2, D, H). Por lo demás, al lado de células basiófilas grandes se encuentran otras pequeñas, verosímilmente correspondientes á los *corpúsculos germinales* de Cajal. Pero,



repetimos, ni en éstas ni en las más grandes encuéntranse bacilos intraprotoplásmicos.

Tocante á la opinión de Cajal, para quien las células cianófilas representarían las formas jóvenes de los fibroblastos, nuestras observaciones no son suficientes para formular un juicio decisivo. Sólo diremos que en nuestros cortes del leproma coloreados con tionina ó azul de metileno, aparecen también de vez en cuando corpúsculos cianófilos con expansiones, es decir, formas intermedias entre los fibroblastos y las células cianófilas. Estas formas, ya señaladas por Cajal, Unna y otros autores, son indicio de que los elementos conectivos adultos provienen de las células cianófilas, que á su vez emanarían de ciertos pequeños elementos esféricos ó poliédricos, exentos de basiofilia protoplásmica (corpúsculos germinales), que representarían, según Cajal, el punto de partida de la serie celular conectiva.

Hecho favorable á esta hipótesis es la existencia de mitosis en la periferia y hasta en el centro de los nódulos lepromatosos. Descontadas las mitosis vasculares, no raras en el leproma, y teniendo en cuenta que la célula de Virchow representa una fase de caducidad y parece incapaz de proliferar, estimamos probable que las mitosis reconocibles en los nódulos leprosos (fig. 2, S) pertenezcan á las formas gérmenes de los elementos cianófilos. Sin embargo, no consideramos segura esta interpretación, dada la dificultad de resolver el problema de la identidad de un corpúsculo en vías de mitosis, pues, según es sabido, durante este proceso el núcleo se metamorfosea y el protoplasma suele cambiar de forma y aptencias tintóreas.

**IV. Leucocitos errantes y células en bastoncito.**— El examen cuidadoso de los núcleos existentes en los nódulos leprosos (preparados á la hematoxilina ó á las anilinas básicas), permite reconocer fácilmente la existencia de cuatro tipos nucleares esencialmente diversos: 1.º *Núcleos elipsoides*, pálidos, triangulares ú ovoideos, relativamente voluminosos, provistos de grueso nucleolo y de pequeñas granulaciones cromáticas. 2.º *Núcleos pequeños marginales*, oscuros ó fuertemente colorables y casi homogéneos. 3.º Núcleos lobulados, intensamente teñidos, en un todo semejantes á los de los leucocitos grandes. 4.º En fin, núcleos homogéneos, bacilares, es decir, alargados en forma de bastón, pero doblados de diversas maneras y terminados de ordinario mediante abultamientos.

Estas categorías nucleares, de que excluimos naturalmente los núcleos característicos de las células cianófilas y leucocitos mononucleados errantes, aparecen reproducidos en la fig. 2.

Como se aprecia en la fig. 2, F, L, el primer tipo nuclear encuéntrase en la célula de Virchow poco vacuolada ó en el fibroblasto todavía exento



de microbios, de que dimanará ulteriormente el referido elemento. Este núcleo suele ser poco excéntrico, aunque no es raro sorprenderlo en posición marginal (F).

El tipo segundo se presenta constantemente marginal, y corresponde á legítimos corpúsculos de Virchow, notablemente vacuolados y portadores de numerosos bacilos sueltos y de colonias bacilares (E). En los elementos más viejos, el núcleo aparece coarrugado, hialino y muy obscuro.

El tipo tercero pertenece indudablemente á leucocitos emigrantes (M). Persuádenlo la forma del núcleo y, sobre todo, su estructura y notable cromofilia, aunque no siempre quepa reconocer el contorno protoplasmático.

En fin, el cuarto y último tipo, no obstante la singularidad de la forma nuclear, parécenos pertenecer asimismo á leucocitos. Estas singulares formas nucleares que recuerdan por completo las *células en bastón*, descritas por Nissl, Alzheimer y Achúcarro (1) en los centros nerviosos en estado patológico, son consecuencia mecánica del amiboidismo del protoplasma leucocítico y de la acomodación de la célula errante á la angostura de los intersticios existentes entre las células de Virchow (fig. 2, J, R). Algunos núcleos son tan largos y delgados, que parecen hallarse próximos á una ruptura por estiramiento, al modo de esos leucocitos observados por Arnold, Ranvier y Cajal en la sangre de los urodelos. Que se trata de leucocitos y no de células conectivas, pruébase sobre todo por el hallazgo de transiciones entre el núcleo lobulado de los glóbulos blancos comunes y de configuración bacilar más extrema. De tales gradaciones damos algún ejemplo en la fig. 2, K, I.

Análoga explicación mecánica da Achúcarro de las formas estiradas de los corpúsculos en bastón hallados en los centros nerviosos, corpúsculos que reputa de naturaleza neuróglia, y los cuales abundan en el asta de Ammon del conejo rábico. En este órgano nervioso, la empalizada de células piramidales apretadas y paralelas obliga á los elementos intercalares en vías de emigración á adoptar configuraciones filamentosas.

**VI. Existencia de células gigantes.**—De todos los anatomopatólogos el que ha descrito más detalladamente las células gigantes del leproma ha sido Cajal (2), quien ha dado en su *Tratado de Anatomía patológica* diversas y sugestivas figuras de corpúsculos lepromatosos colosales provistos de núcleos numerosos y albergando en su espesor colonias microbianas de considerable volumen. Para este autor, toda colonia grande apa-

(1) Achúcarro: Sur la formation des cellules à bâtonnet. *Trab. del Lab. de Investigaciones biol.*, t. VII, 1908.

(2) Cajal: *Manual de Anatomía patológica general*, primera edición, 1890.



recida libremente en los intersticios conectivos ha sido incubada en una célula gigante desaparecida por destrucción y reabsorción.

No todos los autores han hallado células colosales en el leproma. Por ejemplo, Unna, Lutz, Baumgarten, Klebs, etc., niegan la existencia de células gigantes multinucleadas, análogas á las típicas del nódulo tuberculoso, si bien admiten la presencia de elementos algo más voluminosos que las células de Virchow, provistos de dos ó más núcleos. Entre los modernos autores, Kolle (1) no parece haberlas reconocido tampoco, afirmando que, en los casos en que se las halla, el hecho excepcional resulta de que la infección tuberculosa ha venido á complicar el leproma. En cambio, en su reciente estudio sobre la lepra, Babés (2), reproduciendo anteriores aserciones suyas, declara que, aun cuando poco frecuentes en el leproma, reconócese legítimos corpúsculos gigantes, caracterizados por núcleos periféricos y gruesas colonias; y en las láminas anejas á su trabajo, reproduce una gruesa célula semidestruida por voluminosa colonia, que recuerda enteramente los dibujos dados por Cajal. De acuerdo con este autor, Babés afirma, además, que las citadas colonias gigantes intracelulares acaban por destruir el protoplasma del huésped, con lo que los microbios quedan libres en los intersticios conectivos.

En nuestro sentir, las células gigantes existen; pero, según afirman Cajal y Babés, no son constantes. En muchos cortes de leproma faltan completamente. A lo más, se reconoce tal cual corpúsculo de Virchow, de talla excepcional, que encierra gruesa colonia y dos núcleos. Sin embargo, de cuando en cuando y en determinados casos de lepra tuberculosa, el caudal de corpúsculos gigantes se acrecienta, presentándose en un solo corte cuatro, seis y más elementos que afectan talla desmesurada (de 35 á 60  $\mu$ ), poseen núcleos numerosos (de 4 á 14  $\mu$ ) y cantidad abundante de protoplasma, donde destacan, además de bacilos sueltos, una ó varias colonias microbianas de gran tamaño.

A estos corpúsculos excepcionalmente grandes se refieren, sobre todo, los dibujos de Cajal, cuya exactitud hemos comprobado, no sólo por el examen de las preparaciones de este autor, sino por el estudio de algunos casos de lepra, donde abundaba por excepción ese tipo celular de gran volumen. En cuanto á la opinión de Kölle, para quien la célula gigante denota una infección mixta de bacilos leproso y tuberculosos, sólo diremos que, tanto en los preparados de Cajal como en los nuestros,

(1) *Kolle et Hetsch: La Bacteriologie experimentale, etc. Trad. française de la 2<sup>e</sup> edit. allemande par H. Carrière, 1910.*

(2) *Babés: Artículo Lepra, del Handbuch der pathogenen Mikroorganismen de Kölle y Wassermann. Jena, 1907.*



las colonias contenidas en las células gigantes parecen enteramente iguales, salvo la diferencia de tamaño, á las existentes en los corpúsculos de Virchow. Por otra parte, nadie, que nosotros sepamos, ha descrito en los macrófagos tuberculosos (células de Langhans) acúmulos coloniales compactos y colosales, como son los tan característicos del leproma.

Destruída la célula gigante, la colonia microbiana se hace libre, y los bacilos sueltos, diseminados por los intersticios conectivos, propagan la infección á otros territorios, al paso que provocan el fagocitismo de los fibroblastos jóvenes. A esa dispersión bacilar y á la penetración de los microbios en la linfa y sangre, se debe, á nuestro juicio, la abundancia de leucocitos intra y extravasculares provistos de parásitos.

**VII. Microbios de la lepra en la sangre.**—Creencia general es que el *bacillus* de Hansen no existe habitualmente en la sangre, á menos que la muestra sanguínea examinada no proceda de la misma región lepromatosa, en cuyo caso fácilmente podrían mezclarse con dicho humor algunos leucocitos bacilíferos habitantes en el leproma, y hasta legítimas células de Virchow. Para Kölle, la sangre alejada de la región afecta sólo muestra bacilos libres é intraleucocíticos durante los brotes agudos.

Según Kobner y Muller, en los leprosos la sangre encierra bacilos no más en un enfermo entre seis. Exceptúanse, sin embargo, las crisis febriles, durante las cuales los microbios intrasanguíneos son más constantes.

Concordantes en lo principal con las opiniones de los citados sabios, nuestras observaciones nos conducen á conclusiones algo diferentes. A nuestro juicio, la exploración de la sangre tomada lejos de las lesiones, lo mismo durante las crisis febriles que durante sus intervalos, da constantemente resultados positivos, con tal de que las capturas de sangre sean suficientemente numerosas en cada enfermo. Si en vez de explorar una sola preparación se examinan cuidadosamente seis ú ocho (coloración Ziehl-Neelsen), raro será que no se sorprenda tal cual leucocito albergando en su protoplasma algunos bacilos de Hansen. Estos leucocitos bacilíferos proceden, sin duda, de las lesiones leprosas, habiendo circulado más ó menos tiempo por la sangre. Durante los brotes agudos, en armonía con el dictamen de Kölle, los citados leucocitos bacilados son más numerosos.

Esta relativa constancia de los microbios intrasanguíneos constituye la base de un método rápido de diagnóstico de la lepra. Cede, sin embargo, en comodidad y valor expresivo al examen microbiano del jugo exprimido por las úlceras leprosas ó al de los preparados obtenidos por frotación de una parcela de tejido leproso sobre un porta-objetos. Tratando estos preparados de jugo leproso por la coloración de Weigert,



Gabett ó Ziehl-Neelsen, cabe formular rápidamente un diagnóstico, ya que, si la preparación proviene de un leproso, en ella se observarán siempre leucocitos con numerosos bacilos de Hansen en su interior.

Con relación á estos leucocitos bacilíferos, séanos permitido consignar algunos detalles no exentos de interés y que reproducimos en la figura 3. La colonia microbiana, que suele comenzar por un pequeño grupo bacilar situado en la concavidad nuclear del protoplasma (fig. 3, E), extiéndese luego á la periferia celular. A menudo, como huyendo del

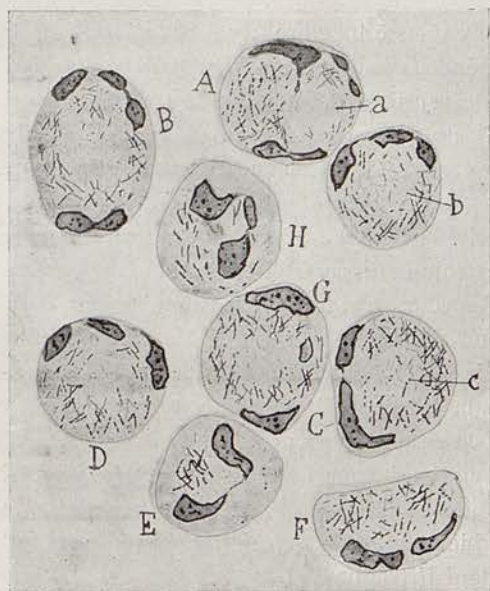


Fig. 3. — Leucocitos bacilíferos de la sangre de un leproso tomada en los mismos nódulos.—A, B, C, leucocitos con núcleos marginales; b, c, región central pálida de aspecto necrosado.

microbio, el núcleo se torna extremadamente tangencial, estirándose y alargándose notablemente (fig. 3, D, F, G). En este movimiento de excentricidad, los lóbulos nucleares se rompen en pedazos (fig. 3, A, B, C), los cuales suelen apartarse hasta parar en polos opuestos (A, G). En fin, cuando la colonia microbiana es grande, reconócese á menudo en el protoplasma una región central, pálida, como necrosada, sin bacilos ó con microbios apenas coloreados. En este territorio, que mostramos en la figura 3, a, b y c, muéstranse á veces grandes vacuolas. Tales metamorfosis del protoplasma y núcleo indican que la fagocitosis, si no es inocua para los microbios, lo es menos aún para el leucocito, que sufre en la lucha alteraciones, acaso conducentes á su destrucción definitiva.



VII. **Bacilos de la lepra.**—Sobre este punto nada nuevo podemos aportar. Nuestras observaciones sobre la morfología, poder tintorial, situación intracelular y dispersión del bacilo de Hansen, confirman los estudios ya antiguos de Hansen y Neisser y los más modernos de Babés, Klebs, Unna, Ziegler, Cajal, etc.

Sólo haremos notar que en nuestros preparados, los bacilos se presentan de tres maneras: bacilos largos, con puntos cromáticos y acromáticos; bacilo largo ó de mediana longitud, con cabos espesados, algo más gruesos que el precedente y de aspecto homogéneo, esto es, sin zonas alternadas, coloreables é incoloras; y, en fin, bacilos cortos, pequeños, también homogéneos. Esta última variedad bacilar ha sido ya notada por Babés, que la representa en su citado trabajo.

Usando el método preconizado por Babés (azul de metileno y después tratamiento por el yodo, etc.), hemos sorprendido también ciertas partículas metacromáticas, bien descritas por dicho sabio y Ernst en el interior de los bacilos leprosos. Acaso tales granos son los que prestan cierta tonalidad rojo-heliotropo á determinadas partes bacilares en los preparados de leproma tratados primeramente por la fuschina de Ziehl diluida y después por la tionina fenicada, color que, según es sabido, posee la propiedad de teñir metacromáticamente.

Por lo demás, la forma bacilar con cabos puntiagudos, reproducida por Babés, no aparece en nuestros cortes del leproma. Acaso se trate de una ilusión óptica, motivada por la débil coloración adquirida á veces por los cabos microbianos. Cuando el teñido es enérgico, el extremo bacilar preséntase más bien espesado, según han hecho notar diversos autores, entre ellos Bordoni-Uffreduzzi.

Aquí damos fin á estas observaciones. Nuestros estudios sobre la lepra, aún no terminados, abarcan otros extremos, tales como los síntomas y lesiones macroscópicas del proceso, las condiciones de su propagación, la predisposición individual y el mecanismo del contagio, etc. Pero sobre tales cuestiones, cuyo desarrollo sería impropio de una Revista esencialmente histológica, trataremos en folleto especial, que pensamos ilustrar con profusión de dibujos y fotografías.





**Algunos datos relativos á la naturaleza  
de las células en bastoncito de la corteza cerebral humana  
obtenidos con el método de Cajal**

POR

NICOLÁS ACHÚCARRO

---

A pesar de los muchos trabajos que en los últimos tiempos han tratado directa ó indirectamente del problema de la génesis de las células en bastoncito, no ha sido presentada ninguna solución satisfactoria. Lo mismo con respecto á éstas que á otras células de naturaleza patológica, se discute siempre si su origen se halla en tejidos ectodérmicos ó en tejidos mesodérmicos. Esta discusión es á la hora presente marcadamente estéril, puesto que los métodos de coloración de que disponemos no son capaces de mostrar reacciones que sirvan de prueba del origen de los elementos nuevos, y radica probablemente en una convicción casi dogmática del principio de la especificidad celular concebido en la forma de *Omnis cellula e cellula ejusdem generis*. Cada nueva forma celular se considera de ordinario como una especie, que necesariamente ha de provenir, según el principio, de un origen único y determinado. De esta convicción se sigue también, naturalmente, que el problema de más importancia, una vez señalada la aparición de nuevas formas celulares, debe ser la averiguación de ese origen definido.

Sin embargo, respecto á ciertas células como las *Körnchenzellen*, los últimos trabajos toman una actitud menos dogmática y los resultados obtenidos tienden á expresar, más ó menos explícitamente, que la forma de algunos elementos patológicos, más bien que característica de una especie definida, es manifestación de una función parcial y elemental, llevada al extremo por circunstancias anormales y que elementos poco diferenciados de distintos orígenes pueden realizar. Así, la función fagocitaria ejercida por las *Körnchenzellen* se puede realizar por elementos ecto y mesodérmicos, y en realidad se observan transiciones de los elementos neuróglícos y de los elementos conectivos en el sistema nervioso, que permiten sospechar que ambos pueden dar origen á células



granulo-grasientas. Quizá, pues, sea un problema más importante y más accesible el definir la función de los nuevos elementos celulares que el tratar de investigar su origen.

Evitando en un cierto modo el problema de la génesis de las células en bastoncito, ya que los métodos actuales no parecen capaces de darnos una respuesta categórica sobre este punto, tratamos nosotros últimamente de precisar las actividades de dichas células (1). Nuestras investigaciones experimentales en el conejo nos han permitido señalar considerables semejanzas entre las Stäbchenzellen y las células granulo-adiposas ó Abräumzellen de Merzbacher, las cuales, según este autor, tienen la función de incorporar y elaborar los productos de desintegración del sistema nervioso, no diferenciándose así esencialmente, ni tampoco casi en el nombre, de las Scavenger-cells, de Bevan Lewis, harto olvidadas de los autores alemanes.

Para estimar que la función principal de las células en bastoncito es la fagocitosis de productos de desintegración del sistema nervioso, nos fundábamos en que cuando se hacen lesiones en el asta de Ammon del conejo, se producen en el *Stratum radiatum* gran número de dichas células durante el proceso de reparación; éstas contienen casi exclusivamente los productos de desintegración producidos á consecuencia de la herida, mientras que las células neuróglícas de forma estrellada y con fibras, casi se encuentran desprovistas de grasa y de sustancias protagonoides. En la microfotografía adjunta (fig. 1) se observan las dos clases de células, las neuróglícas estrelladas y las alargadas en bastoncito, de las cuales casi sólo se percibe el núcleo por el método de Bielschowsky, que se utilizó en la preparación.

Desde el foco mismo de la herida hasta el tejido normal van disminuyendo las sustancias de desintegración, pero se hallan siempre contenidas en los elementos alargados y en bastoncito. En cuanto á la forma alargada que constituye casi la característica esencial de las células en bastoncito, parece ser, según nuestras investigaciones, un atributo variable y secundario, dependiente en nuestros experimentos de una adaptación de las células de actividades fagocíticas á las estructuras nerviosas en desintegración, en nuestro caso, las prolongaciones protoplasmáticas de las células nerviosas.

En un elaborado é interesante trabajo de Martha Ulrich (2) se discuten recientemente las hipótesis relativas al origen de las células en bastoncito.

(1) Achúcarro: Cellules allongées et Stäbchenzellen, etc. *Trab. del Lab. de Investigaciones biol.* Madrid, Diciembre 1909.

(2) M. Ulrich: Beiträge zur Kenntnis der Stäbchenzellen, etc. *Monatschr. für Psych. u. Neur.* Agosto 1910.



La autora clasifica estos elementos en seis grupos, de los cuales el quinto nos interesa particularmente, pues en él están colocadas las células que contienen pigmento y cuya estructura es parecida á la de las células reticuladas de Nissl (Gitterzellen). Las Stäbchenzellen de este tipo se encuentran, según la autora, cerca de los focos de reblandecimiento y en los focos de infiltración al lado de las células típicas en bastoncito.



Fig. 1. — Microfotografía del Stratum radiatum del conejo. Zona marginal del proceso de reparación seis días después de la herida. Los núcleos de las células en bastoncito se encuentran intensamente teñidos de negro y orientados según una dirección definida y en todos ellos estrictamente paralela. Además se ven algunas células de neuroglia de la variedad estrellada y con gran cantidad de fibras, las cuales se orientan indistintamente en el tejido (Método de Bielschowsky).

En otro lugar afirma la autora que las células típicas no contienen inclusiones degenerativas, y que éstas solamente se encuentran en un número reducido de células en bastoncito en comparación con el número total de estas células. En estas razones se funda M. Ulrich para rechazar la idea de que la función principal de las células en cuestión sea la de incorporar y elaborar los productos de degeneración.

En los experimentos de que hemos dado cuenta en otros artículos, encontramos nosotros, á partir de la herida hacia el tejido sano, una serie de elementos alargados, en los cuales estaban representadas todas las variedades de las células en bastoncito de la clasificación de M. Ulrich,



con excepción de las clases especiales que corresponden á las células de la substancia blanca y las de la substancia blanca del cerebelo. Allí encontramos células con estructura francamente reticulada, otras con una disposición del protoplasma, semejante al de las células neuróglícas y todas las variedades de grosor y de longitud. Las células que Ulrich llama típicas no se hallaban en gran número, y su localización preferente era en los límites con el tejido sano, y lo que es más interesante aún, y hasta aquí concuerdan los hechos con las afirmaciones de la autora alemana, estas formas típicas no contenían inclusiones grasas coloreables por el rojo escarlata.

Sin embargo, las coloraciones para las substancias protagonoides revelaban en estas células un número considerable de inclusiones granulosas.

Recientemente, examinando la corteza cerebral de un caso de parálisis general juvenil, con ayuda del método de Cajal, después de fijación en formol al 10 por 100, hemos tenido ocasión de advertir que este método es particularmente útil para demostrar de un lado la adaptación de las células en bastoncito al cuerpo y á las prolongaciones protoplasmáticas de las pirámides cerebrales, y para revelar al mismo tiempo ciertas inclusiones granulosas teñidas intensamente por la plata y las cuales deben ser probablemente de naturaleza semejante al pigmento de las células nerviosas y á las inclusiones contenidas en los elementos granulosos perivasculares, á juzgar por la semejanza de teñido.

El caso á que nos referimos cumplía clínica y anatomo-patológicamente todos los requisitos de la parálisis general progresiva. La madre del paciente había muerto recientemente también de parálisis general, y su sistema nervioso fué examinado por nosotros histológicamente.

En nuestro caso se encuentran muchas células en bastoncito en todas las piezas de corteza examinadas, pero son particularmente numerosas en el asta de Ammon, donde las destrucciones nerviosas son considerables. Utilizando el método de Herxheimer, encontramos inclusiones teñidas con el rojo escarlata en buen número de células en bastoncito y aun en las típicas, pero en proporción del total de estas células, aquel número es reducido.

En cambio, examinada la corteza por el método de Cajal después de fijación por el formol al 10 por 100, es raro encontrar una célula en bastoncito típica que no contenga unos granitos finos, teñidos intensamente de negro. Es preciso advertir que las preparaciones no dejan nada que desear respecto á limpieza y que se hace preciso admitir que se trata de una inclusión que se tiñe muy bien por la plata, porque únicamente estos granos de las células en bastoncito, las inclusiones de las células gra-



nulosas de los espacios perivascu-  
lares y el pigmento de las células  
nerviosas muestran esta reacción.

Algunas diferencias se observan,  
sin embargo, entre las inclusiones  
de las células en bastoncito y las  
de las células nerviosas. El pig-  
mento de las pirámides aparece te-  
ñido con toda claridad y limpieza,  
pero tiene un color tirando á café  
oscuro y los granos son mucho  
más gruesos que los de las células  
en bastoncito. Estos últimos son  
finos, y ordinariamente se encuen-  
tran teñidos intensamente de  
negro.

En casos como en la figura A, en  
que se encuentra una célula en  
bastoncito pegada á una célula pi-  
ramidal, se pueden ver y diferen-  
ciar las dos clases de inclusiones.

Para hacer resaltar los núcleos  
de todos los elementos intersticia-  
les, hemos utilizado como teñido de  
contraste el verde brillante, obte-  
niendo así resultados muy satisfac-  
torios, sin obscurecer en nada el  
teñido de las granulaciones á que  
nos referimos.

Como ya hemos dicho, este mé-  
todo realiza además la condición  
de teñir las prolongaciones proto-  
plasmáticas de las células nervio-  
sas, en mucha extensión, de ma-  
nera que pueden observarse muy  
claramente las relaciones de estas  
prolongaciones con las células en  
bastoncito. Así aparece el mayor  
número de las células en baston-  
cito pegadas á las pirámides ó á  
sus prolongaciones, y aun algunas

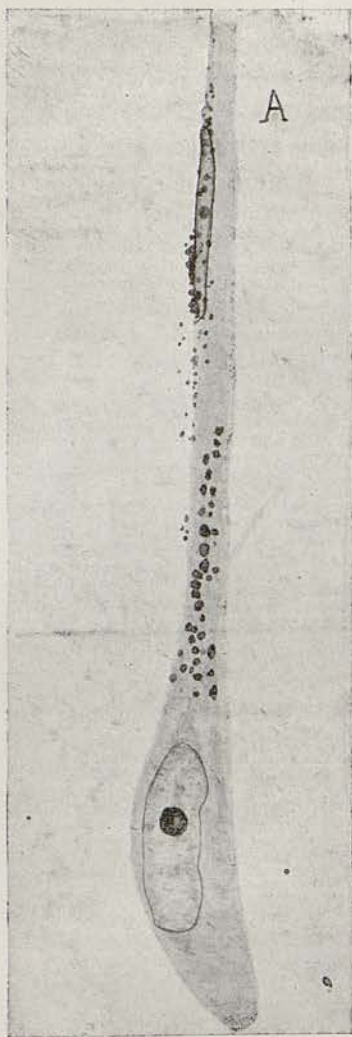


Fig. A.—Parálisis general juvenil. Cor-  
teza del asta de Ammon. Método de  
Cajal, después de fijación en formol al  
10 por 100. Teñido de contraste con  
verde brillante. Pirámide amoníca,  
cuyo pigmento se encuentra fuerte-  
mente teñido por la plata. Una célula  
en bastoncito muy alargada y cuyo pro-  
toplasma contiene inclusiones teñidas  
fuertemente por la plata, se encuentra  
adherida á la prolongación protoplas-  
mática.



se encuentran en las bifurcaciones de las dendritas, como se ve en la figura E.

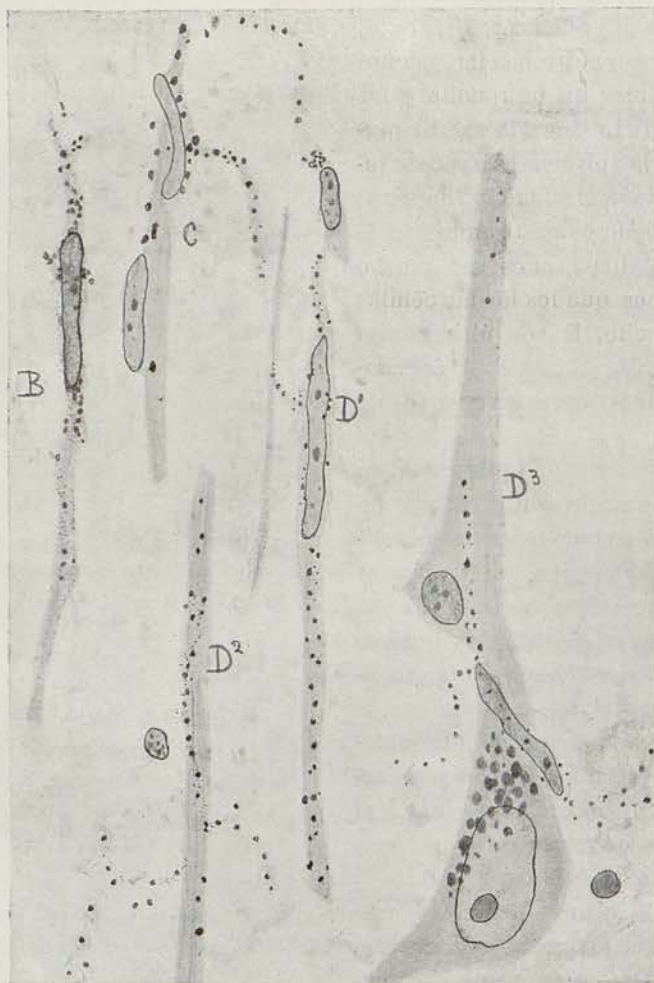


Fig. B. — Célula en bastoncito adherida á una prolongación protoplasmática. La célula contiene numerosos granos de substancia teñida con la plata, y el protoplasma parece como que rodea á la prolongación apical.

Fig. C. — Prolongación protoplasmática con dos núcleos alargados é inclusiones teñidas por la plata. La célula superior lleva una prolongación cargada de inclusiones, la cual se desprende de la dendrita para penetrar en el tejido.

Fig. D¹, D² y D³. — Representan tres trozos sucesivos de una célula piramidal, sobre la que se hallan aplicadas diversas células, de las cuales dos son células típicas en bastoncito. Estas se hallan cargadas de inclusiones, y en ciertos puntos las líneas cargadas de gránulos se separan del cuerpo de la dendrita y penetran en el tejido.



Del protoplasma de las células en bastoncito sólo tenemos indicios por medio de este método, porque aparece confundido con la substancia reticulada y esponjosa que constituye la substancia fundamental del sistema nervioso, y que, según Held, está formada por el *syncytium* protoplasmático de la neuroglia. Esta substancia esponjosa se halla bastante teñida en nuestras preparaciones. Por las líneas de granos teñidos con la plata se puede, sin embargo, presumir el curso del protoplasma de las células en bastoncito. Como vemos en las figuras que acompañan, estos hilos granulosos se encuentran adheridos á las células piramidales, pero frecuentemente se separan á un cierto momento y penetran en el tejido ambiente, disponiéndose, según las mallas de esa red del *syncytium* de que hemos hablado, así como si el protoplasma de estas células en bastoncito dependiese del retículo fundamental.

Hemos perseguido en muchas células estos hilos de granos desprendidos de las células piramidales, sin que en ningún caso hayamos podido observar su continuación con las inclusiones granulosas de las células perivasculares. El desprendimiento de estos granos de con las células piramidales es casi constante para todas las células en bastoncito, y de ello se muestran bastantes casos en las figuras B, C, D, E. Las figuras D<sup>1</sup>, D<sup>2</sup> y D<sup>3</sup>, segmentos sucesivos de una misma célula piramidal, ofrecen varios ejemplos de la misma disposición, así como la figura E, que representa la bifurcación de una pirámide, en la que se encuentra una célula en bastoncito, que por un polo sigue una de las ramas de la bifurcación, y por el otro se desprende y penetra en el tejido.

Por el doble hecho de teñir las prolongaciones protoplasmáticas en mucha extensión, y por colorear intensamente los productos incluidos en el protoplasma y que probablemente son de carácter degenerativo, el

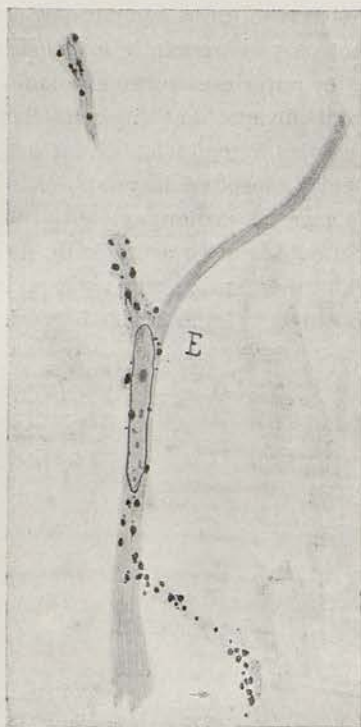


Fig. E.—Bifurcación de la prolongación protoplasmática de una pirámide en la que se encuentra una célula en bastoncito cargada de granulaciones.



método de Cajal, después de fijación en formol, resulta especialmente instructivo para el estudio de las células en bastoncito.

Los resultados obtenidos en este caso de parálisis general progresiva, muestran que la gran mayoría de las células en bastoncito se encuentran adheridas á las células piramidales, y que la gran mayoría también contiene inclusiones que representan productos de desintegración, probablemente.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos experimentalmente por nosotros y refuerzan la hipótesis enunciada con reservas en nuestros artículos anteriores sobre el tema.

Es decir, que las Stäbchenzellen probablemente son una forma especial de células fagocitarias de los productos de desintegración, que deben su especial aspecto á la adaptación á las estructuras en degeneración, en este caso las prolongaciones protoplasmáticas de las células piramidales.

En contra de la aserción de M. Ulrich, contienen las células en bastoncito, aun en sus formas típicas, inclusiones de naturaleza análoga á las sustancias pigmentarias ó grasientas.



## Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas

POR

S. R. CAJAL

Después de los interesantes trabajos de Lugaro sobre los efectos de la sección de las raíces posteriores, la irregenerabilidad de la porción intramedular (cordón posterior) de la neurona sensitiva, parece ser hecho establecido. Este sabio (1), que fué el primero en aplicar el proceder del nitrato de plata reducido al tema de la regeneración de las raíces medulares y cordón posterior, secciona en los animales jóvenes ambas raíces anterior y posterior, junta el cabo central de la anterior al cabo central ó medular de la posterior, y sacrificado días después el animal, comprueba que los retoños de la raíz motriz han penetrado en las bandas de Büngner de los tubos degenerados de la raíz sensitiva, atraídos verosímilmente por substancias neurotrópicas positivas; pero llegados que son á la frontera del cordón posterior, se detienen bruscamente sin penetrar en la médula espinal, como si en el espesor de ésta existieran substancias neurotrópicas negativas, capaces de rechazar los axones jóvenes. De la misma manera se comportan las fibras sensitivas llegadas de la cicatriz y originadas en el cabo ganglionar de la raíz posterior, cuando ésta es seccionada entre el ganglio y la médula espinal.

El hecho consignado por Lugaro es cierto, y de su exactitud certifican los numerosos experimentos de sección y aplastamiento de raíces posteriores efectuados por nosotros recientemente (2) en los perros y gatos de muchos días. Sin embargo, la retención y retroceso de las fibras sensitivas regeneradas al abordar la frontera medular tienen algunas excepciones.

(1) Lugaro: Sul Neurotropismo e sul Trapianti dei Nervi. *Rivista di patol. nerv. e mentale*, vol. XI, fasc. 7, 1906.

Véase también: Rigenerazione delle radici posteriori. *Ibid.*, vol. XI, 1906.

— Sulle presunte rigenerazione autogena delle radici posteriore. *Ibid.*, volumen XI, fasc. 8, 1906.

(2) Cajal: Algunas observaciones favorables á la hipótesis neurotrópica. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, fasc. 1 y 2, 1910.



nes. Ya en nuestra última comunicación señalábamos la penetración en el cordón posterior de algunas ramas nerviosas neoformadas. «Mas—añadíamos—esta última disposición parece rara y su admisión definitiva exige nuevas observaciones, al objeto de asegurarnos de que no se trata aquí de esas fibras centrífugas de la raíz posterior que Lugaro ha sorprendido incólumes después de la ablación de los ganglios raquídeos». En todo caso, y aun suponiendo que dicha regeneración sea más importante de lo que permiten afirmar las observaciones de Lugaro y nuestras, de presumir es que las fibras sensitivas penetrantes en el cordón posterior sean incapaces de restablecer las vías interrumpidas y acaben por degenerar.

Esta impotencia de las raíces posteriores para la restauración del cordón posterior ó sensitivo degenerado, parece ser un caso particular de la radical inercia regenerativa de los centros nerviosos. En efecto, tanto los autores que han estudiado en la médula del hombre ó de los animales las lesiones clínicas ó no experimentales (Fickler, Eichorst, Naunyn, Straussler, Müller, Nikoleier, Henneberg, Bielschowsky, Perrero, etc.) como los que han analizado las reacciones de la sustancia blanca y gris medular consecutivamente á los experimentos de sección ó inflamación (Bikeles, Stroebe, Cajal, Marinesco, Nageotte, O. Rossi, Dustin, etc.), concuerdan, *mutatis mutandi*, en declarar que, tras un período de excitación y retoñamiento de los axones interrumpidos ó estimulados por la compresión, el proceso de reparación se suspende, cediendo el paso á fenómenos degenerativos que imposibilitan el restablecimiento de las vías interrumpidas.

Contrastando con las opiniones precedentes aparece el dictamen de Abundo(1), quien ha observado la restauración en masa de la porción sensitiva del cordón posterior, después del arranque de las raíces sensitivas y de la ablación de un largo trozo de médula espinal. Este interesante experimento se ha efectuado en el gato recién nacido, sacrificado setenta y cinco días después de la operación. Después de seccionada la médula en dos puntos apartados, fué el trozo intercalar arrancado de sus raíces á favor de unas pinzas introducidas por la brecha de un anillo vertebral separado. Dicho trozo medular extendíase á 10 vértebras, habiendo motivado, por tanto, el arrancamiento de cinco ó más raíces sensitivas.

(1) D. Abundo: Di nuovo sul potere rigenerativo del prolungamento middolare dei gangli intervertebrali nei primi tempi della vita extrauterina. *Riv. ital. di Neuropat. Psichiatria e Elettrotet.*, vol. II, fasc. 7, 1909.

— *Ibidem*: Dottrina metamerica e rigenerazione consecutiva allo strappo contemporaneo di molteplici gangli intervertebrali, etc. *Riv. ital. di Neuropat.*, etc., vol. I, fasc. 8, 1909.

— *Ibidem*: *Arch. italiennes de Biol.*, vol. L, fasc. 2, 1909.



Practicada la autopsia, apareció el conducto formado por la dura madre relleno de una *pseudo-médula*, es decir, de un cordón blanco creado á expensas de la vegetación de los cabos centrales ó medulares de todos los ganglios sensitivos aislados. Cada raíz, de acuerdo con la doctrina metamérica, dió lugar á un segmento ó porción de esta pseudo-médula, la cual ofrecía al corte una porción cortical de substancia blanca y una región central con rudimento de substancia gris. Mediante un tabique medio, separábanse en cordones autónomos las formaciones correspondientes á las radicales de cada lado.

Indurada la pieza en el líquido de Müller y teñido verosíblemente (1) por el método de Weigert, mostróse la pseudo-médula constituida por numerosos tubos mielínicos dispuestos en paquetes. Estos tubos emanaban de las prolongaciones internas de los corpúsculos ganglionares sensitivos y, cosa curiosa, en cada fibra «*podía reconocerse la división en T con las dos conocidas ramas ascendente y descendente*».

Como conclusión de este interesante experimento, declara Abundo (2) que «*les ganglions intervertébraux séparés de la moelle peuvent développer le prolongement médullaire vers le canal vertébral en suivant leur développement architectonique que l'on doit regarder comme déjà héréditairement préformé en partie et non produit de préférence par une attraction médullaire particulière*».

El experimento de Abundo es muy interesante y rico en enseñanzas teóricas. De ello se ha percatado bien Dustin (3), cuando en su importante estudio sobre la regeneración de las vías centrales, comentando el hecho de la bifurcación de las raíces en la pseudo-médula, dice: *Le fait nous montre qu'en dehors de tout phénomène soit mécanique soit chimiotactique, les neurones possèdent une potentialité spécifique réglant d'avance le mode de formation et de bifurcation des prolongements cylindraxiles*.

En efecto, si el dato de la bifurcación de las raíces sensitivas dentro del conducto dural es cierto, regular y constante; si las colaterales, así como sus arborizaciones finales dirigidas al eje medular producen una especie de substancia gris; si todos estos actos neoformativos y de orientación ocurren en ausencia de neuroblastos, espongioblastos y corpúscu-

(1) En una de sus comunicaciones (*Archives italiennes de Biologie*, vol. L, fascículo 2, 1909) parece da á entender Abundo (aunque no lo dice expresamente) que ha usado el método de Weigert, previa induración en el líquido de Müller; pero en su nota preventiva de la *Riv. ital. di Neuropatologia Psichiatrica*, etc., volumen II, fas. 7, 1909, declara haber empleado el ácido ósmico. En todo caso parece seguro que este autor sólo ha impregnado la mielina de las fibras regeneradas.

(2) Abundo: *Arch. ital. di Biol.*, 1909.

(3) Dustin: *Le Rôle des tropismes et de l'odogenèse dans la Régénération du système nerveux. Arch. de Biologie*, tomo XXV, 1910.



los conectivos embrionarios capaces de influir á favor de materias excitadoras ó neurotrópicas sobre la génesis y marcha de las fibras, es indudable que la doctrina quimiotáctica aplicada á la neurogénesis normal y patológica recibiría golpe rudo y comprometedor, y en su lugar sería necesario proclamar el concepto de la evolución preestablecida por acción de causas internas, es decir, en virtud de disposiciones intraprotoplásmicas ó intranucleares inmanentes; algo así como la teoría del mosaico nuclear, de que Roux, Weissmann y otros biólogos se han servido para esclarecer el problema transcendental de la herencia. La aparición de las expansiones, la marcha de las fibras y el establecimiento de conexiones interneuronales no dependería, pues, de las condiciones físico-químicas del ambiente neuronal, sino de impulsos internos, fatales, misteriosos, *inverificables*, y sobre cuya naturaleza carecemos no ya de conocimiento objetivo, pero ni siquiera de una imagen física ó *modelo mecánico* (en el sentido que Lord Kelvin daba á esta frase), en cuya visión la imaginación repose y la razón entrevea una plausible posibilidad capaz de transformarse algún día en explicación científica demostrada. En suma, con la hipótesis de Abundo y de Dustin caemos en plena metafísica.

Pero la interpretación dada por Abundo de su interesante experimento, ¿es acaso legítima? ¿No ha podido, por defectos de técnica, incurrir en error? Cada fibra llegada á la pseudo-médula ¿se bifurca realmente en fibra ascendente y descendente? Los haces de tubos longitudinales constructores de esa especie de médula espinal, ¿constan realmente de fibras de substancia blanca desprovistas de membrana y de células de Schwann ó son más bien cordones nerviosos ordinarios?

Confieso que las sobrias descripciones de Abundo no son poderosas á disipar mis dudas, y mis escrúpulos aumentan cuando consideramos que el citado sabio, en el análisis histológico de la trama neoformada, no se ha servido de métodos selectivos de los axones. En condiciones tales, nada extraño fuera que Abundo, no obstante su pericia, haya tomado equivocadamente una simple flexión en sentido longitudinal de las fibras neoformadas por el efecto de la división clásica en rama ascendente y descendente.

En pro de este posible error hablan las excelentes microfotografías dadas por Abundo; en ellas sólo aparecen claramente manojes radiculares que se doblan en cuanto llegan al tubo dural, en sentido preferentemente ascendente. Ni debemos olvidar que el proceder del ácido ósmico ó el método de Weigert, al parecer usados por dicho sabio, son impotentes para mostrar claramente las divisiones en la substancia blanca de los centros, ya que, según hemos probado nosotros (preparados al azul de metileno), al nivel de las bifurcaciones de las raíces posteriores, como en toda estrangulación de los tubos centrales, falta la mielina, y no cierta-



mente en breve espacio, al modo de lo ocurrido en los tubos periféricos, sino en una extensión bastante considerable. Por este hecho, el llamado *disco de Ranvier* de las fibras centrales se convierte en una especie de *manguito de cemento*, incolorable por la laca hematoxilínica. Solamente el método de Ehrlich, el de Golgi y los neurofibrillares hubieran podido revelar la realidad de las susodichas divisiones. Los otros colorantes axónicos son ineficaces. Así, los á base de anilina (azul de anilina en el proceder de Stroebe), la fórmula del nitrato de plata amoniaca de Fajersztajn, la nuestra á base de este mismo reactivo é hidroquinona, etcétera, son improcedentes, porque sólo impregnan las porciones axónicas recubiertas de mielina, en las cuales reside cierta substancia aliada de la grasa (*mieloaxostroma* ó *axocromoteína*).

No obstante estas reservas y prescindiendo por ahora del punto que especialmente nos interesa, el experimento de Abundo es muy expresivo: 1.º, porque, contra lo que suponíamos, después de los fundamentales trabajos de v. Gehuchten acerca de la regeneración retrógrada, el arrancamiento de los axones en los animales jóvenes no provoca la muerte de la célula de origen, antes bien, da ocasión á importantes fenómenos regenerativos, fenómenos de reparación recientemente observados también por Sala y Cortese en el cabo central de las raíces motrices arrancadas; y 2.º, porque se ha puesto de manifiesto la decisiva importancia que tienen la forma y hermetismo de los cauces membranosos (conducto dural) en la orientación y modelamiento de las mazas nerviosas neoformadas.

Volviendo á la hipótesis de la preformación de las divisiones de las fibras sensitivas, hagamos notar cuán poco probable parece después de los estudios sobre la regeneración nerviosa aparecidos en los últimos años. En efecto, estas investigaciones han revelado que cada axon motor ó sensitivo, sin excluir la prolongación interna de las neuronas gangliónicas, genera docenas de ramas nuevas nacidas sin orden y orientadas arbitrariamente. Igual afirmación cabe formular tocante á los apéndices neoformados en las citadas células (experimentos de transplatación ganglionar de Nageotte, Marinesco y Minea, O. Rossi, nosotros, etc.). Si la hipótesis de Abundo y Dustin fuera cierta, cada neurona sensitiva, excitada por acciones tóxicas ó la destrucción del axon, sólo podría reproducir su expansión normal con la consabida división en dos ramas, cuando, según es sabido, dicho corpúsculo, en posesión de su prolongación funcional, es capaz de generar numerosos apéndices repetidamente divididos y portadores de los atributos morfológicos del axon. Los aludidos estudios demuestran que basta introducir un cambio químico ó mecánico en el ambiente de un nervio ó de un grupo de neuronas sensitivas, para que, roto el equilibrio morfológico, broten nuevos retoños,



cuyo número y orientación parecen depender de la posición, oscilaciones cuantitativas y desigual repartición de los estímulos.

El problema, sin embargo, debe llevarse al terreno experimental. La cuestión de saber si las bifurcaciones de las radicales posteriores resultan de tendencias internas preestablecidas ú obedecen á condiciones mesológicas, es demasiado transcendental para que podamos darla por resuelta invocando razones de analogía. Es asimismo necesario precisar hasta qué punto es regenerable el cordón sensitivo medular y si su reparación posee ó no los caracteres de fugacidad y de retrocesión atribuidos por los autores á la substancia blanca de la médula, y en general, á la trama de todo centro nervioso.

Para dilucidar estos problemas y otros con ellos enlazados, hemos emprendido una serie de experimentos, recaídos en perros y conejos recién nacidos ó de pocos días. Estos experimentos agrúpanse en tres clases. En unos animales han sido cortadas las raíces posteriores cerca de la médula espinal; en otros hanse provocado inflamaciones medulares, conducentes á la degeneración total del trayecto intracordonal de las raíces sensitivas; en otros, en fin, se ha procurado imitar, en lo posible, el experimento de Abundo (1), no extirpando la médula, pero sí destruyendo mecánicamente, y mediante unas pinzas, un largo trozo del eje raquídeo.

No habiendo transcurrido todavía el tiempo necesario, reservamos para más adelante el hablar de los resultados obtenidos mediante la destrucción medular. Por ahora nos concretaremos á describir los efectos de los experimentos de inflamación cordonal y de sección radicular.

**Sección de las raíces posteriores.**—Para realizar esta operación hemos procedido como en los experimentos narrados en un trabajo anterior (2), es decir, practicando la sección total de la médula lumbo-sacra y cordones de la cola de caballo. Merced á esta operación, de gran sencillez, puesto que exige solamente un amplio corte transversal de la porción dorsal de la columna vertebral, quedan interrumpidas por encima del ganglio varias raíces, cabiendo escoger ulteriormente para el examen aquélla cuya sección se halle más cerca de la entrada medular, y en donde, por tanto, la llegada de las fibras neoformadas al cordón posterior resulta más rápida y fácil. Para la impregnación se ha usado la fórmula de fijación en piridina al 50 por 100, que tiene la ventaja de presentar solamente teñidas en negro las ramas regeneradas. Los animales han sido sacrificados cuatro, seis y ocho días después de la operación.

(1) En el perro y conejo, el experimento de Abundo, cuya ejecución es sumamente delicada, ha producido la muerte de los animales. Esperamos ocasión propicia para ensayar la ablación medular en el gato recién nacido, donde el sabio italiano ha obtenido sus mejores éxitos.

(2) *Loc. cit.*



No referiremos aquí los detalles de la regeneración de las radicales sensitivas; sobre este punto, ya bien ilustrado por Lugaro, hemos comunicado ya muchos detalles en nuestro anterior trabajo. Bastará recordar que en el cabo medular de la raíz penetran, desde la cicatriz, numerosas ramas nerviosas procedentes del retoñamiento de la expansión periférica de la neurona ganglionar, y que estas ramas, circulantes en su mayoría por entre las bandas de Büngner, llegadas que son á la frontera medular, se detienen en su mayor parte, tornándose retrógradas.

Este trayecto intra-radicular es ya franqueado en cuatro días, pero sólo desde el sexto al octavo aparece la porción medular de la raíz claramente inervada.

En la figura 4, E, presentamos uno de los casos de inervación más evidente. En ella no se han reproducido, para evitar confusión, las numerosas fibras arciformes retrógradas, que no faltan jamás en las fronteras medulares. Repárense varias mazas (*f*) detenidas sobre el cordón y pugnando por penetrar entre sus fibras. En una de ellas la maza atascada envía un ramo penetrante terminado por fino botón. En fin, algunas fibras, de que presentamos ejemplo en la figura 4, e, han logrado insinuarse por debajo de la basal, circulando superficialmente y mostrando, á más ó menos distancia de la raíz, su botón terminal. Es, pues, indudable que, aunque no muy abundantes, las fibras radicales neoformadas son capaces de inervar la médula espinal, sumándose á los contingentes del cordón posterior.

Pero notemos que las citadas fibras penetrantes no se bifurcan, sino que á su entrada en la médula se doblan simplemente para hacerse longitudinales. Alguna vez, excepcionalmente, hemos sorprendido, sin embargo, bifurcaciones en ramas desiguales, ascendente y descendente; pero estas raras divisiones parecen de la misma naturaleza que las ofrecidas por las mazas cuando, en su impulso de crecimiento, tropiezan con un obstáculo.

**Experimentos de inflamación intramedular y destrucción del cordón posterior y sus radicales sensitivas.** — Las observaciones del curso de las fibras regeneradas consecutivamente á la sección de las raíces, son difíciles cuando el cordón posterior y las raíces vecinas á la interrumpida se hallan indemnes, á causa de la cantidad enorme de conductores alojados en dicho cordón y entremezclados con las fibras regeneradas aferentes. En tales condiciones, la persecución individual de un retoño nervioso resulta sumamente laboriosa y ocasionada á equivocaciones.

Importa, asimismo, precaverse contra el posible error de tomar una fibra motriz de la raíz posterior por un axon sensitivo neoformado.

Las citadas dificultades nos han conducido á efectuar experimentos en



que son eliminadas las dos causas más importantes de confusión, á saber: la persistencia de las radicales motrices posteriores y la formidable



Fig. 1. — Sección longitudinal del cordón posterior. Médula terminal de perro de diez días, sacrificado seis después de la operación. — A, quiste medular; B, cordón posterior degenerado; D, epitelio periquístico; E, porción regenerada del cordón posterior; F, raíces posteriores; I, raíz posterior seccionada de través; J, fibras del cordón posterior ramificadas en la cicatriz; E, paquete de fibras radicales extraviadas; G, mazas caídas en el quiste medular; K, herida de la médula.

masa de tubos constitutivos del cordón posterior. A fuerza de ensayos hemos dado cima á nuestro empeño, escogiendo como territorio experimental el cono medular terminal (médula sacra), por ser el más pobre en conductores cordonales y en radicales sensitivos.

Sobre este segmento central, y al objeto de suprimir por inflamación degenerativa la mayor parte de la substancia blanca, hemos practicado punturas centrales escalonadas (dos ó tres en un intervalo de medio centímetro), á favor de un fino escalpelo. El resultado de tales maniobras es que, á los seis á ocho días de la operación, la substancia blanca y gris son asiento de procesos regresivos, traducidos por la casi completa incolorabilidad de sus fibras preexistentes y por la producción de quistes rellenos de exudado y de leucocitos (figura 1, B, C).

El examen de médulas procedentes de animales operados de esta suerte, pero sacrificados en etapas

sucesivas del proceso (tres, cuatro, cinco y seis días después del traumatismo), prueban que la propagación de la flogosis ha causado la degene-



ración de la porción intramedular de las raíces (rama ascendente y descendente) y de un trozo de su trayecto extracentral, sin que la lesión parezca haber comprometido los ganglios y la mayor parte de la prolongación interna neuronal.

Claro está que experimentos tan delicados exigen pulcritud operatoria y repetidos ensayos. Pero insistiendo lógrase siempre algunas preparaciones demostrativas, cual las reproducidas en las figuras 2, 3 y 4, procedentes de un animal sacrificado seis días después del traumatismo, durante el cual, dos de las punturas habían interrumpido completamente el eje medular. El espacio intercalar, que medía medio milímetro poco más ó menos, mostraba, como se veía en la figura 1, A, un vasto quiste longitudinal anfractuoso, revestido por una neoformación ependimal. La mayor parte del cordón posterior aparecía pálida, por incolorabilidad y acaso por degeneración de sus conductores; hacia el cordón anterior yacían restos de fibras en vías de regeneración, con ramificaciones y botones de crecimiento. Algunos de éstos, en su movimiento impulsivo, han caído en pleno quiste (fig. 1, G). En fin, del lado de las raíces, reconócese en el cordón posterior una delgada corteza fibrilar teñida en negro, sembrada de mazas y destacando admirablemente sobre el fondo amarillo pálido de la sustancia blanca. En esta corteza penetran, entremezclándose, los retoños de varias raíces sensitivas próximas.

En las figuras 2 y 3 reproducimos algunos detalles de esta neoformación radicular.

Desde luego llama la atención que no todos los axones radiculares en vías de regeneración han arribado á la frontera medular. Algunos de ellos, después de barrenar el neurilema, se extravían y marchan errantes por la trama conectiva, según mostramos en las figuras 2, C, y 3, F. Estos axones extraviados acaban unas veces por mazas escalonadas en los espacios de la aracnoides, otras crecen activamente generando ramas caminantes ciegamente al través del tejido conectivo perimedular. Tampoco es raro descubrir que varios axones ó ramas de axones abandonan simultáneamente la raíz, constituyendo un paquete nervioso errabundo por el tejido conectivo subdural en diversidad de caminos (fig. 1, H). En fin, algunas fibras abandonan la raíz junto á la médula, marchando desorientadas en torno de ésta y por encima de la basal (fig. 3, S).

Las fibras aferentes á la médula deben agruparse en tres categorías: las retrógradas, las detenidas en la frontera medular y las penetrantes.

A) *Las retrógradas*.— Han sido ya descritas detalladamente por nosotros en otro trabajo (1). En los preparados del cono terminal inflamado

(1) *Cajal: Trab. del Lab. de Inv. biol.*, tomo VII, fasc. 1 y 2, 1910.



del perro joven son menos numerosas que en el cabo central de las raíces seccionadas, pero no faltan nunca. Diversos casos se presentan: Unas veces, retrocede el axon por entero, trazando un arco de concavidad externa; más á menudo, retrocede recia rama que puede considerarse como

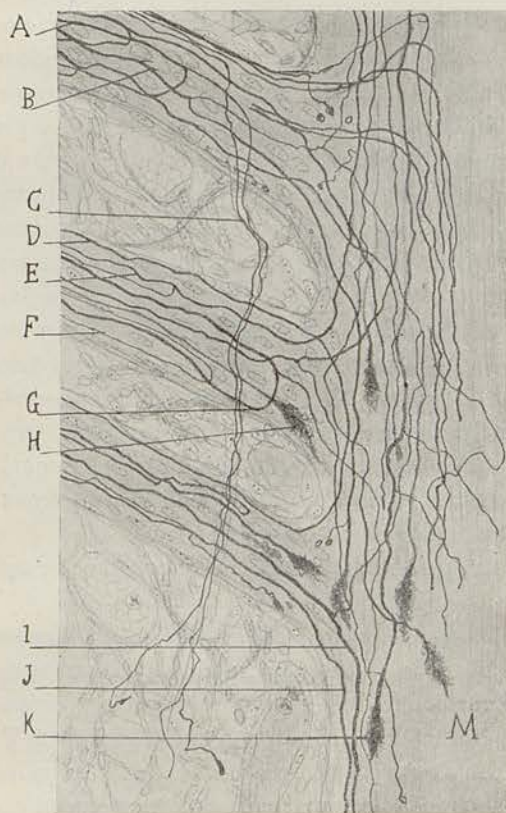


Fig. 2. — Trozo del cordón posterior y radicales regeneradas del perro de pocos días, cuyo cono terminal fué lesionado en varias partes. — A, raíces sensitivas; C, fibras sensitivas extraviadas; D, fibra penetrante que abandona la médula; H, maza terminal; E, fibra que da ramas recurrentes; G, fibra arciforme que suministra una colateral á la médula; J, fibra ascendente; K, mazas intramedulares de radicales penetrantes; M, médula espinal.

la continuación del tallo (fig. 2, G), mientras que del arco brota fina rama dirigida á la médula; en ocasiones, al contrario, la fibra recurrente representa la colateral del tallo.

Los arcos de fibras retrógradas residen, por lo común, cerca de la médula; sin embargo, se les encuentra también á bastante distancia, como mostramos en la figura 3, D. Ni es raro, por último, que la fibra retrógrada nazca debajo de la pia, en pleno cordón posterior ó en sus fronteras.

B) *Las fibras detenidas* son constantes, según mostramos en la figura 2, H. Reconócense por exhibir una maza prolongada más ó menos esquinada y provista de expansiones cortas, más pálidas que el centro de la misma (fig. 2, H). Algunas veces emite la maza apén-

dice fino penetrante en la médula (fig. 3, N). En fin, la presencia de mazas dobladas de cuya base nace una rama penetrante (fig. 3, H), denota que, cuando el obstáculo es infranqueable, el protoplasma de la maza emite un apéndice compensador, capaz de corregir los efectos de la detención.



Diríase, en este caso, que la fibra atraída por sustancias neurotrópicas liberadas por la radicular (bandas de Büngner), retrocede, desde luego; más solicitada después en sentido contrario por las células de Schwann cercanas á la médula, envía á éstas una rama colateral.

C) *Ramas penetrantes*.—Compórtanse de diversas maneras.

He aquí las variedades más comunes:

a) La mayoría de estos conductores, llegados que son bajo la basal medular externa, diríense (sin mostrar bifurcación) casi siempre en sentido ascendente, menos veces en dirección descendente. Aquella dirección representa la ruta más parecida á la del tallo radicular, á causa de la inclinación general hacia arriba de las raíces lumbo-sacras; constituye, pues, el sentido del mínimo esfuerzo. Algunas fibras, sin embargo, antes de hacerse ascendentes, diríense horizontalmente y aun hacia abajo, trazando un arco de concavidad superior (fig. 2). En la figura 3 mostramos una fibra singular que, después de largo trayecto ascendente, tornábase bruscamente descendente. En su extenso itinerario á lo largo del cordón posterior las radicales penetrantes pueden, aunque rara vez, suministrar colaterales, á menudo terminadas á corta distancia bajo la forma de anillos ó botoncitos. En fin, el tallo, tras un trayecto variable, acaba por una maza ó espesamiento prolongado, de figura variable, á menudo erizada de crestas y vellosidades (figs. 2, K y 3, Ñ).

Añadamos que algunas de estas fibras longitudinales afectan notable delgadez; perseguidas hacia las raíces se reconoce que no son la continuación de radicales, sino de colaterales nacidas del arco de un axon sensitivo retrógrado (fig. 2).

b) Un corto número de radicales (quizás no llegue al 6 por 100), en cuanto abordan el cordón posterior, bifúrcanse en ramas ascendente y descendente (fig. 3, J). De ordinario, la descendente es más fina que la ascendente, aunque se dan excepciones. En un caso (fig. 2) la rama ascendente, de igual espesor que la descendente, emitía dos colaterales. Mencionemos aún que, en alguna ocasión, la colateral inicial se torna recurrente volviendo á la raíz.

c) Con escasez también sorpréndense radicales divididas en dos ramas ascendentes ó en dos ramas descendentes (fig. 3, P). En ocasiones, la radicular se descompone en tres ó más ramas longitudinales de diverso sentido (fig. 3, G).

d) Un hecho singular, revelador del ningún influjo neurotrópico de la trama medular sobre las radicales nuevas, consiste en que la fibra sensitiva, penetrante por una raíz, escapa del cordón posterior para hacerse centrifuga, aprovechando otra raíz vecina ó alejada (figs. 2, D y 3, M). También es curioso notar (aunque esta particularidad es rarísima) que



alguna rama sensitiva, circulante por los cordones, envía una colateral perdida en pleno tejido conectivo, á donde llega después de cruzar la basal medular (fig. 3, T).

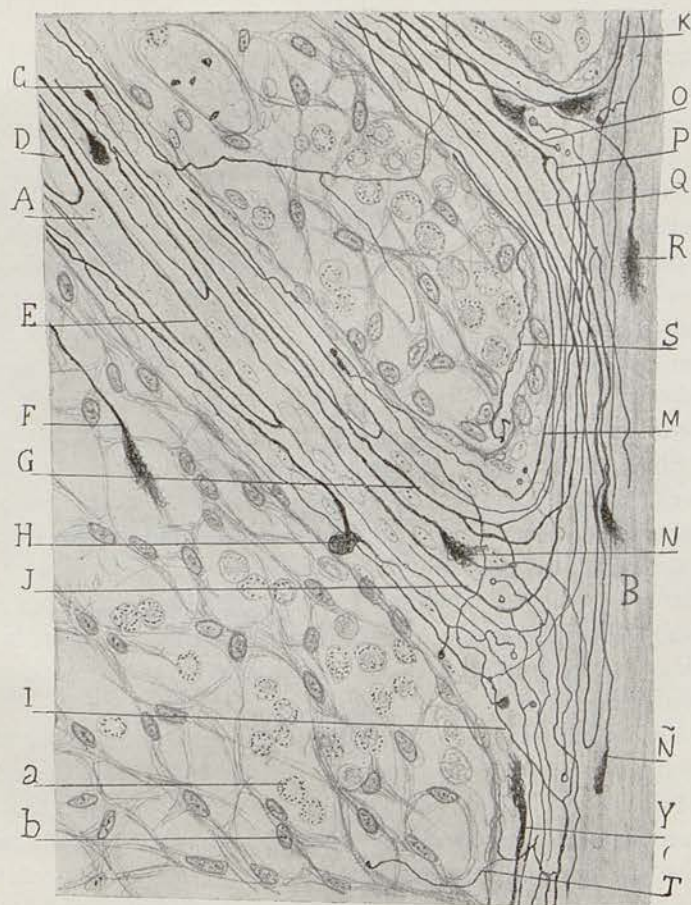


Fig. 3.—La misma preparación que en la figura anterior. — A, raíz sensitiva regenerada; B, médula espinal; C, fibra extraviada; D, E, fibras arciformes; F, maza extraviada; G, radicular ramificada complicadamente al entrar en la médula; H, N, O, mazas de que emanan ramas penetrantes; J, radicular bifurcada; K, maza con una rama corta; P, radicular dividida en dos ramas ascendentes; Q, mazas intramedulares; R, fibra que sale de la médula.

En suma, las precedentes observaciones demuestran que las radiculares neoformadas penetrantes dentro de la médula marchan á merced de las resistencias mecánicas y empujadas ciegamente por el crecimiento incesante del cabo terminal. Los detalles del itinerario de las fibras dentro del cordón posterior no sugieren la idea de la existencia intramedular de



materias orientadoras y atrayentes, pero tampoco implican la acción repulsora de estímulos neurotrópicos negativos.

Despréndese de lo expuesto, asimismo, contra la opinión de Abundo y Dustin, que la bifurcación de los axones sensitivos dentro del cordón posterior no es efecto necesario de una tendencia preestablecida. El hecho falta con frecuencia, y cuando existe, explícase simplemente, como en todo axon periférico en vías de crecimiento, por la capacidad de que goza el conductor neoformado de dividirse en dos ó más ramas en presencia de un obstáculo mecánico.

Una objeción podrá acaso alegarse contra la interpretación apuntada acerca del crecimiento y demás fenómenos concomitantes del retoñamiento de las raíces posteriores. Esas radicales que, llegadas al territorio del cordón posterior, toman derroteros ascendentes ó descendentes, ¿no podrían constituir fibras sensitivas preexistentes más ó menos alteradas por el proceso inflamatorio, en vez de ser, como dejamos supuesto, resultado del crecimiento y neoformación de radicales degeneradas?

Para prevenir este reparo hemos practicado numerosas observaciones de contraprueba sobre las radicales sensitivas normales de la médula sacra y cono terminal del perro de pocos días. Estas exploraciones certifican que las radicales normales del mencionado territorio compórtanse al modo de las de la médula lumbar y dorsal, etc., esto es, que en planos diversos del cordón posterior, se bifurcan en rama ascendente y rama descendente.

De ordinario, la ascendente es gruesa y la descendente delgada, aunque no faltan disposiciones inversas. En ocasiones, la rama ascendente sigue casi la dirección del tallo (también ascendente en la región sacra), en tanto que la descendente semeja rama colateral nacida de la ligera curva trazada por aquél. En fin, conforme nos acercamos al cabo ó punta terminal de la médula, la rama descendente cambia su itinerario marchando más bien en sentido horizontal que hacia abajo, disposición que ya hicimos notar hace tiempo en un trabajo acerca de la estructura del cono terminal (1). Si además de las fibras bifurcadas se encuentran otras ascendentes ó descendentes exentas de ramificación, el hecho debe ser raro.

Aparte estas observaciones de contraprueba, existen motivos suficientes para estimar como neoformadas las fibras penetrantes descritas más atrás. Tales son: su intensa apetencia por la plata coloidal (en los mismos preparados las radicales normales aparecen más gruesas y pálidas); su ausencia de mielina, y por tanto de estrangulaciones, atributos

(1) *Cajal*: Estructura del cono terminal de la médula espinal. *Revista trim. micrográfica*, tomo III, 1898.



de fibras jóvenes; su terminación frecuente, ya en el espesor del cordón posterior, ya en el territorio de entrada de la raíz, bajo la forma de mazas; el carácter de colaterales ofrecido por muchas de ellas, ramas brotadas del arco de una fibra retrógrada (fig. 3, E); su frecuente extravío antes de llegar á la médula (fig. 3, C); y, en fin, la no rara presencia de mazas aferentes dentro de la raíz misma. Este último hecho, así como el frecuente hallazgo de radicales retrógradas intra-radicales denotan que, en los casos estudiados, la degeneración inicial por causa inflamatoria, no comprendió solamente la región de la bifurcación, sino que se extendió á buena parte del trozo subdural de la raíz regenerada.

**Suerte ulterior de las radicales regeneradas.**—No habiendo observado los animales operados más allá del sexto día después de la operación, ignoramos la suerte ulterior de las radicales neoformadas intra-medulares. Posible es que, análogamente á lo ocurrido con los axones cordones interrumpidos, dichas fibras degeneren y mueran, ya que el establecimiento de conexiones con las neuronas cordones supone la preexistencia de caminos desembarazados, así como la de materias neurotrópicas orientadoras. De todos modos, dentro de los seis días consecutivos á la operación, las ramas penetrantes han adquirido gran longitud y no muestran todavía signos degenerativos. A menudo, descúbrese en el territorio del cordón posterior mazas cuyos fibras pueden seguirse longitudinalmente durante el espacio de cuatro fascículos radicales.

**Capacidad de las radicales regeneradas para invadir el tejido conectivo embrionario.**—En trabajo anterior (1) hemos llamado la atención sobre la propiedad que poseen las radicales sensitivas y motoras jóvenes de concurrir y ramificarse predilectamente en la trama conectiva embrionaria, como si en ella hallaran alguna substancia estimuladora de su asimilación y crecimiento. En vista de ello, ocurre preguntar: Las radicales regeneradas insinuadas en el cordón posterior, ¿han conservado sus apetencias por el tejido conectivo joven? Su paso por la trama medular, ¿no habrá modificado su receptibilidad hacia los estímulos neurotrópicos?

Tema es éste que ha sido objeto, por nuestra parte, de numerosas observaciones, con resultados muy expresivos. Todas ellas versan sobre dos órdenes de hechos, que deben ser distinguidos: la capacidad invasora de las radicales intra-medulares neoformadas, y la aptitud neurocládica de las fibras preexistentes del cordón posterior (continuación de radicales sensitivas), puestas á tono de excitación divisoria por la vecindad de un proceso flogístico.

(1) *Loc. cit.: Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, fasc. 1 y 2.



a) *Capacidad inervadora de las fibras sensitivas intra-medulares regeneradas.* — Nada más fácil que probar esta curiosa propiedad cuando, según ocurría en el ejemplo reproducido en la figura 1, J, las fibras sensitivas penetrantes en el cordón posterior desembocan en la trama cicatricial de una herida medular. En efecto, en los casos en que esta cicatriz reside cerca de una raíz regenerada, adviértese con entera evidencia que las fibras intra-medulares sensitivas, ascendentes ó descendentes, ganan la trama conectiva embrionaria, se espesan en el interior de ésta, ramificándose repetidamente, y se comportan, en suma, á la manera de las ramas sensitivas libres brotadas del cabo terminal ó del itinerario de una radicular posterior seccionada. Entre las ramas destinadas á la cicatriz, unas marchan hacia adentro, como se verá en la figura 1, otras divergen hacia afuera (J) ganando en sentido divergente territorios conjuntivos muy alejados de la médula espinal. En su camino, cada axon sensitivo emite numerosas ramificaciones, que parecen atraídas por las colonias de células conectivas embrionarias. Añadamos que algunas de las más antiguas ramas intra-cicatriciales aparecen á veces costeadas por núcleos alargados y corpúsculos fusiformes, rudimento de los futuros lemmoblastos ó células de Schwann.

Este último hecho parece poco favorable á la doctrina de v. Lenhossék y Harrison acerca del origen ectodérmico de las células de Schwann. En el presente caso la admisión de semejante concepción histogenética nos obligaría, ó á suponer que la fibra emergente de la médula arrastra consigo corpúsculos neuróglícos transformables en células de Schwann, ó que durante todo su itinerario intra-medular fué escoltada por estos mismos corpúsculos, nacidos de los constitutivos de la vieja vaina medular. Ambas hipótesis están por igual desprovistas de base objetiva.

b) *Capacidad inervadora de las fibras sensitivas del cordón posterior.* — La propiedad que las fibras cordonales poseen de ramificarse, é invadir el tejido conectivo de las cicatrices medulares, es hecho observado más ó menos claramente, según los métodos usados por varios autores, tales como Stroebe, Cajal, Marinesco, Henneberg, O. Rossi, etcétera. Creemos, empero, haber sido los primeros (1) en demostrar evidente y definitivamente este fenómeno de ramificación é inervación cicatricial, gracias al empleo de un proceder exquisitamente revelador de las fibras jóvenes ameduladas y de sus divisiones en el tejido conectivo y zona necrótica de los bordes de la herida. Los métodos usados por Stroebe, Bikeles y demás anatomo-patólogos antiguos son incapaces de presentar claramente la división de las fibras y de discriminar, por tanto, los

(1) *Cajal*: Notas preventivas sobre la regeneración y degeneración de las vías nerviosas centrales. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo IV, 1905 á 1906.



conductores arribados á la cicatriz desde los cordones, de las fibras pro-

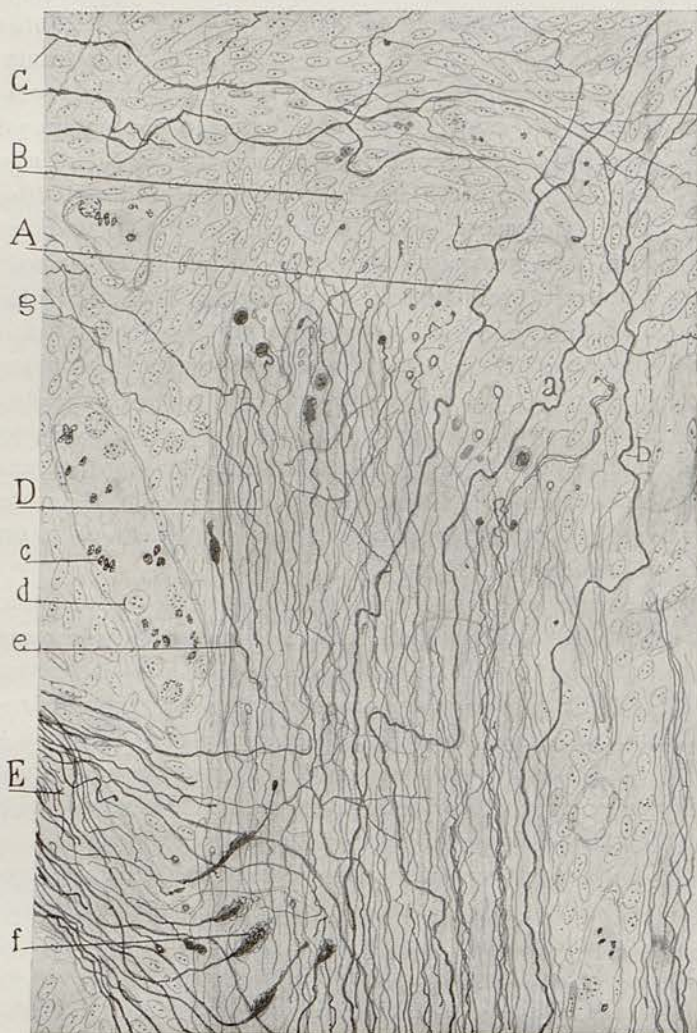


Fig. 4. — Corte longitudinal y tangencial del cordón posterior del perro de pocos días. — E, raíz posterior regenerada; B, herida del cordón posterior, suplida por la cicatriz; D, cordón posterior; A, fibras del cordón posterior en fase de excitación divisoria; *a*, *b*, otras fibras gruesas, también ramificadas en la cicatriz; *g*, fibras finas del cordón posterior emigradas; *f*, mazas terminales de radiculares regeneradas; *c*, plaquetas de un vaso sanguíneo; C, fibras nerviosas llegadas de una radicular sensitiva, penetrantes en la cicatriz.

cedentes de las raíces medulares seccionadas ó comprometidas por la inflamación.



Estas fibras cordonales intracicatriciales, no serían solamente efecto de una reacción inicial y fugitiva; podrían persistir mucho tiempo después de la lesión. Así, Marinesco (1) las encuentra en la cicatriz de la médula del perro noventa días después de la operación; y O. Rossi (2) las sorprende en ella hasta doscientos cincuenta días después. Puesto que, según dichos sabios, tales conductores extraviados y detenidos hallanse provistos de bolas más ó menos alteradas, de pensar es que, no desempeñando función útil, acaben con el tiempo de reabsorberse y desaparecer. De hecho desaparecen ya en su mayoría de la cicatriz, según hemos observado recientemente en perros y gatos jóvenes, transcurrido un mes después de la operación.

La mencionada propiedad emigradora de las fibras cordonales había sido notada por nosotros y los autores citados, con carácter excepcional y siempre en pequeña escala. Pero nuestras recientes investigaciones tocantes á la invasión de las raíces posteriores por fibras extrañas (3) y las que recientemente hemos emprendido acerca de la capacidad regenerativa del cordón posterior, enseñan que este poder regenerador y emigratorio es susceptible de alcanzar en ciertos casos y bajo influencias no del todo determinadas, desarrollo extraordinario, produciéndose arborizaciones extramedulares de enorme riqueza y extensión.

Las figuras 4 y 5 muestran dos ejemplos típicos del poder regeneratorio de las fibras sensitivas gruesas del cordón posterior cuando, abandonando éstas el ambiente neuróglíco, se nutren en pleno tejido conectivo embrionario.

En la figura 4 trátase de una médula lumbar seccionada, en unión de varias raíces posteriores. Al nivel de la herida encuéntrase, según es notorio, muchas fibras cordonales sobriamente ramificadas y conductores mucho más numerosos acabados simplemente en bolas de retracción (fig. 4, D). La mayoría de estas fibras no traspasa el territorio necrótico medular. Pero al lado de estos axones poco crecidos, los cortes tangenciales paralelos al cordón posterior presentan tres ó más cilindros ejes cordonales vigorosos en plena excitación divisoria y notablemente crecidos (fig. 4, A). Estas fibras robustas, en continuación con ramas descendentes de radicales sanas, espésanse progresivamente antes de llegar

(1) *Marinesco*: Recherches sur la régénérescence de la moelle. *Nouvelle Iconographie de la Salpêtrière*, núm. 5, 1906.

(2) *O. Rossi*: Processi rigenerativi e degenerativi conseguente a ferite assetiche del sistema nervoso centrale, etc. *Riv. di patol. ner. e mentale*, año XIII, fascículo 11, 1908.

*Idem*: Nuovi ricerche sui fenomeni di rigenerazione che si svolgono nel midollo spinale. *Riv. di pat. ner. e mentale*, vol. XV, fasc. 4, 1910.

(3) *Loc. cit.*



á la zona necrótica de la herida medular, cruzan en parajes diversos la

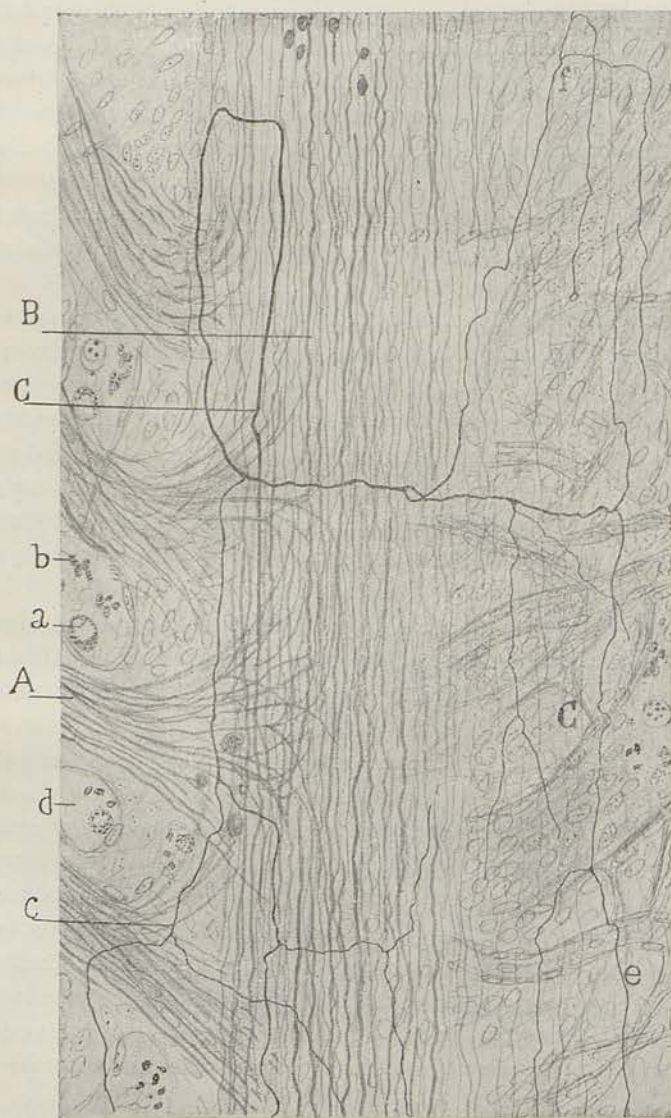


Fig. 5.—Corte tangencial y longitudinal del cordón posterior del perro joven en la proximidad de una herida medular.—A, radiculares casi normales; B, cordón posterior; C, fibra nerviosa espesa que, saliendo del cordón posterior, genera enorme arborización terminal; c, f, e, ramas de esta arborización; a, leucocitos, y b, plaquetas de un vaso sanguíneo.

basal y después de ganar el tejido conectivo de la *pia*, invaden la cica-



triz, resolviéndose al fin en extensísima arborización de ramas extramedulares ascendentes y descendentes. La mayoría de estas ramas marchan hacia la cicatriz, donde se subdividen repetidamente, aumentando el contingente de los axones sensitivos distribuidos por ella. A menudo, las ramas retrógradas ó ascendentes caminan sobre la *pia* durante largas distancias. En la figura 4, sólo presentamos una parte de la extensa arborización final.

La figura 5 reproduce un caso más notable aún de arborización de fibra cordonal sensitiva. En una región bastante alejada de una herida medular, y en donde las raíces sensitivas vistas á lo largo se ostentan normales ó muy poco excitadas, cierto robusto (C) conductor abandona de pronto la médula espinal, trazando un recodo (no bien aparente en la figura por la dirección de la revuelta); colócase después sobre la *pia mater*, ganando en espesor y colorabilidad y marchando hacia la herida; retrocede, después de describir un arco, y se resuelve, en fin, en una extensísima arborización suprapial, donde dominan las ramas finas ascendentes y descendentes. Las últimas ramillas eran tan largas que el conjunto del ramaje cubría un área perimedular extendida entre seis fascículos radiculares. En la figura 5 sólo mostramos los dos tercios escasamente de la referida ramificación. Durante su largo itinerario, las ramas nerviosas carecen de escolta nuclear y no muestran preferencias por la cicatriz. Bien es verdad que la *pia* entera hallábase infiltrada de células conectivas, y mostraba tal cual leucocito emigrado.

Sorprende, en verdad, que sean pocas y gruesas las fibras del cordón posterior comportadas de esta suerte. Porque no hay que olvidar que la mayoría de sus conductores carece de capacidad divisoria ó la presenta muy precaria.

El caso que nos ocupa constituye, pues, un ejemplo notable de neurocladismo por excitación traumática ó, lo que parece más probable, por influencia de sustancias liberadas por el tejido conectivo cicatricial.

De todas las precedentes observaciones despréndense las conclusiones siguientes:

1.<sup>a</sup> La porción intramedular de las raíces posteriores, es decir, el cordón posterior, es difícilmente regenerable, á causa de la ausencia, dentro de la médula, de materias neurotrópicas y de la presencia de obstáculos mecánicos. En virtud de estas condiciones, la mayoría de los axones sensitivos regenerados detiénense ó retrogradan en las fronteras del cordón posterior.

2.<sup>a</sup> Esto no obstante, en los animales jóvenes y recién nacidos y en condiciones especialmente favorables (conservación del neurilema, inflamación de las raíces sin sección de las mismas, etc.), buena parte de las



radiculares regeneradas penetran en la médula, marchando por el territorio del cordón posterior en dirección ascendente ó descendente. Ignoramos si esta restauración del cordón posterior se consolida ulteriormente, ó si, lo que parece más probable, se frustra y se suspende.

3.<sup>a</sup> En la penetración y curso intramedular de las radiculares sensitivas, no parecen influir substancias atrayentes ni expulsoras; las mazas de crecimiento caminan en el sentido de la menor resistencia y las divisiones obedecen á choques contra barreras insuperables.

4.<sup>a</sup> Contrariamente á la doctrina sostenida por Abundo y Dustin, las fibras radiculares arribadas al cordón posterior no se dividen necesariamente y en virtud de tendencias internas, en rama ascendente y descendente.

5.<sup>a</sup> Las prolongaciones sensitivas, internas ó medulares, de las células gangliónicas no conservan siempre su individualidad mientras circulan por la raíz, sino que, á la manera de las expansiones periféricas, se descomponen frecuentemente en ramas, algunas de las cuales atraviesan el neurilema y se pierden, arborizándose en los espacios subaracnoideos.

6.<sup>a</sup> La prolongación interna ó medular de las células gangliónicas es atraída también, al modo de la periférica, por el tejido conectivo embrionario. Esta apetencia no se pierde ni aun después que dicha fibra ha penetrado en la médula y constituido parte integrante del cordón posterior.





## Algunos hechos de regeneración parcial de la substancia gris de los centros nerviosos

POR

S. R. CAJAL

---

Nuestros precedentes trabajos (1) tocantes á la regeneración de las raíces sensitivas y substancia blanca medular, han demostrado que, en condiciones no bien aclaradas, los tubos nerviosos del cordón posterior poseen la propiedad de crecer desmesuradamente é invadir tanto la cicatriz como extensas regiones más ó menos normales del espacio suprapial.

Admitida por incuestionable esta capacidad emigratoria y regenadora de las fibras del cordón posterior, como lo es también (acaso en menor escala) la de los axones del cordón antero-lateral; quedando además sentado que el crecimiento de las fibras cordonales extraviadas alcanza, á veces, considerable extensión, superior en todo caso al espesor de muchas cicatrices de heridas de la médula espinal, surge naturalmente esta interrogación. Dichas fibras cordonales en vías de crecimiento extramedular, ¿no podrían cruzar la cicatriz y asociar ulteriormente, de modo más ó menos incompleto, los focos nerviosos incomunicados por el traumatismo?

Como se notará, el problema entraña inusitada importancia. De tener efectividad lo enunciado en las precedentes preguntas, la irregenerabilidad de las vías centrales quedaría despojada de su carácter de inexorabilidad. Y cabría abrigar la esperanza de que, en determinadas lesiones de los centros, el cabo central de las fibras aferentes sensitivas ó sensoriales, por ejemplo, fuera poderoso á reorganizar parcialmente sus conexiones con grupos neuronales accidentalmente desasociados.

Sin embargo, los hechos anatomo-patológicos bien observados de lesiones centrales, no lisonjean tan halagüeñas esperanzas. Los autores que valiéndose de métodos impregnadores han explorado la substancia blanca de las heridas medulares, han reconocido, como es sabido, crecimen-

(1) *Cajal*: Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, 1910.



to y ramificación de axones, pero no han logrado seguir nunca las fibras regeneradoras dentro de la cicatriz hasta el lado opuesto de la interrupción medular. Tampoco los autores modernos que, como Henneberg, Marinesco, Bielschowsky, Perrero, R. Pfeifer, G. Sala, Miyake, Herxheimer y Gierlich, Dustin y otros varios, han analizado en el hombre ó en los animales lesiones centrales, consecutivas á compresiones, presencia de tumores, etc., han sorprendido nunca retoños nerviosos salvar el foco reblandecido ó el tumor interpuesto, y, penetrando en el opuesto lado, restablecer las vías interrumpidas. A la misma conclusión llegan Tello y O. Rossi, con relación al nervio óptico, que puede considerarse como una vía central; después de su interrupción traumática, las fibras neoformadas, relativamente numerosas, penetrantes en la cicatriz, muéstranse incapaces de neurotizar el cabo central degenerado. Todo induce, pues, á pensar que las lesiones de las vías centrales ó de la sustancia gris provocan solamente un movimiento regenerativo pasajero, especie de excitación formativa paroxística y atávica de los bordes de la lesión. Transcurrido cierto tiempo, las porciones regeneradas se reabsorben y la cicatriz queda exclusivamente inervada por fibras emanadas de los nervios (médula espinal y bulbo).

De ordinario, los autores que modernamente han estudiado, con métodos apropiados, la regeneración de la médula espinal, cerebro y cerebelo, han producido extensos traumatismos. La herida, ampliamente comunicante con el exterior, ha dado lugar, en la vecindad del epéndimo, á extenso quiste, que aparta notablemente los bordes de la lesión, creando obstáculo infranqueable á los retoños nerviosos. Y cuando el quiste falta y los exudados intercalares se han reabsorbido, los labios de la herida aparecen, á menudo, separados por una recia trama de tejido conectivo cicatricial, en comunicación con la *pta*. La neuroglia prolifera también, pero comunmente sus células se limitan á crear delgado revestimiento á los cabos del centro nervioso interrumpido.

¿Que sucedería si la cicatriz, poco extensa y apenas comunicante con el exterior, estuviera formada exclusivamente por neuroglia? ¿Cómo se comportarán las fibras nerviosas cuando los labios de la herida se reunan rápidamente por primera intención y falten tanto el quiste como la recia cicatriz mesodérmica?

Para contestar á estas preguntas, hemos practicado en los centros (cerebro, cerebelo y médula) de los animales jóvenes numerosas y pequeñas interrupciones. Si los instrumentos son finos y cortan bien, es dable producir á través de los huesos, y en condiciones de perfecta asepsia, lesiones que cicatrizan rápidamente por primera intención, y en las cuales la cicatriz, notablemente reducida, preséntase formada por una delgada tra-



ma neurógica y tal cual célula granulosa. En tales lesiones, los bordes de la sustancia gris ó blanca yacen sumamente próximos, y el espacio que las fibras regeneradas deben franquear para saltar de un lado á otro de la herida, es mucho menor que el trayecto cicatricial recorrido en la médula espinal por los axones regenerados.

#### HERIDAS CEREBRALES

Comencemos por el estudio de las heridas del cerebro, escogiendo naturalmente las no infectadas y aquellas en donde, según dejamos dicho, no se forman ni quistes ni focos extensos de exudado. Fijémonos primero en los casos en que el animal (de edad una á dos semanas) fué sacrificado cinco á ocho días después del traumatismo.

Coloreando los cortes por los métodos ordinarios (hematoxilina de Heidenhain, azul policrómico de Unna, licor de Unna-Pappenheim, etc.), apenas advertimos alteraciones bien acusadas. Dentro de las heridas figuran tres órdenes de corpúsculos: los neurógicos, resultantes de la proliferación de los preexistentes, leucocitos polinucleados en pequeña cantidad, y tal cual célula granulosa con inclusiones grásientas. En el borde de la herida las pirámides grandes aparecen casi normales; algunas, pocas, parecen teñirse más débilmente, mostrando apenas grumos de Nissl.

El método del nitrato de plata reducido es más expresivo. La sustancia gris de los bordes é inmediaciones de la herida parece casi normal. Tiñense las neurofibrillas del soma neuronal, y se siguen bien el axon y dendritas. El nucleolo aparece, como siempre, formado de un conglomerado de esférulas. Las fibras nerviosas, vecinas y paralelas á la herida, muéstranse bien teñidas y al parecer normales; las perpendiculares ú oblicuas á ellas, y que el traumatismo interrumpió, tampoco presentan nada de particular. Descúbrese en la herida sus cabos limpios, como si acabaran de ser seccionados; sólo de vez en cuando reconócese en los bordes de la lesión algún cabo axónico doblado, formando una especie de pequeño gancho ó ligerísimamente espesado. No se percibe asomo de botones ni de bolas terminales. Imposible es también sorprender ramificaciones. En general, la cicatriz neurógica preséntase limpia de fibras nerviosas neoformadas. Cuando el análisis minucioso con el 1'30 apocromiático, de Zeiss, permite discernir en dicha cicatriz tal cual fibra pálida flexuosa, casi siempre cabe establecer que se trata de algún fino conductor amedulado, dislocado por el escalpelo y abandonado á sí mismo. Estos trozos sueltos de axon (probablemente son colaterales) permanecen á veces diez, quince y más días entre las células neurógicas ó entre los



leucocitos, sin otra modificación ostensible que ciertos plegamentos y retracciones. Las células granulosas no parecen capaces, por lo menos al principio, de englobarlos.

Por excepción, sin embargo, hemos sorprendido en algunas cicatrices neuróglícas delgadas tal cual hebra, al parecer normal, que cruzaba más ó menos oblicuamente la trama intercalar, trazando flexuosidades (figura 1). En ellas no se perciben botones, anillos ni ramificaciones. A veces, son dos ó tres fibras las que cruzan reunidas en haz (fig. 1, C). Llegadas á los bordes de la herida estas hebras perforantes, se pierden en el plexo intersticial de la substancia gris contigua. ¿Se trata de conductores regenerados? Si lo son positivamente, representarían verosímilmente retoños de colaterales interrumpidas por el instrumento cortante. De todos modos, la exigüidad de su número, su carencia de botones y de ramificaciones, el recuerdo del hecho de que á menudo se conservan muchos días en la cicatriz neuróglíca hebras ameduladas preexistentes que la violencia traumática dislocó de los territorios grises inmediatos, etc., nos imponen cierta reserva acerca de la significación de las citadas fibras perforantes. Esta reserva se justifica tanto más cuanto que el número de tales hebras, en vez de aumentar en los animales más tardíamente sacrificados (veinticinco días después de la operación) tiende más bien á disminuir y á desaparecer.

Sin pronunciarnos definitivamente sobre este punto, hay motivos para presumir que en los animales jóvenes sacrificados de cinco á diez días después de la operación, las fibras ameduladas de la substancia gris (perro, gato, conejo) permanecen, al parecer, indiferentes, sin mostrar ramificaciones ni mazas de crecimiento y de retracción. Diríase que la delgada cicatriz neuróglíca carece de estímulos neurotróficos y neurocládicos.

Las referidas particularidades refiérense exclusivamente á las fibras ameduladas, que son casi todas las lesionadas en el cerebro de los animales recién nacidos y de pocos días. En cambio, las meduladas (axones de las pirámides grandes, ciertas fibras centrípetas llegadas de la substancia blanca, etc.), según reconocimos hace tiempo (1), muestran á menudo, y desde el tercero ó cuarto día de la lesión, cabos abultados, disposiciones en rosario y bolas de retracción. Pero jamás se ramifican ni cruzan la cicatriz para ganar el lado opuesto de la herida.

Con leves diferencias, los mismos hechos se descubren en los animales sacrificados quince y veinticinco días después de la operación. Por este tiempo las fibras ameduladas no muestran todavía mazas aparentes, ni

(1) *Cajal*: Note sur la dégénérescence traumatique des fibres nerveuses du cer-velet et du cerveau. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo V, 1907.



han franqueado los bordes del tejido nervioso. En algunos casos, según aparece en la figura 2, *d*, *c*, que reproduce una sección de la sustancia blanca, los cabos de estas fibras se espesan bastante y trazan flexuosidades y pelotones en el exudado y trama de la cicatriz; pero este hecho, poco común, parece ajeno á todo proceso regenerativo, ya que podría explicarse también por una acción mecánica de arrastre ó arrancamiento producida por el instrumento cortante. Afirmamos lo mismo de ciertos macizos ó paquetes fibrilares complejos, alguna vez aparecidos en las heridas; debe ser también efecto de dislocaciones traumáticas.

En suma; en las heridas asépticas del cerebro del perro, gato y conejo y con cicatriz neuróglia, las fibras ameduladas, que son la inmensa mayoría de los conductores de la sustancia gris y blanca, carecen de mazas y no revelan la menor señal de ramificación. Excusado es decir que tampoco traspasan la cicatriz neuróglia. Semejante ausencia de lesiones compruébase tanto en los axones y colaterales que han conservado sus relaciones con la neurona de origen, como en los segmentos nerviosos aislados.

Sin embargo, no habiendo recaído nuestras observaciones sino sobre animales sacrificados veinticinco días después de la operación,

no es lícito presumir los procesos ulteriormente desarrollados en las fibras aisladas. Probable parece que, tras un período más ó menos largo de resistencia autolítica, se tornen pálidas, monoliformes, y acaben por reabsorberse. Tal es, al menos, lo ocurrido con el cabo central del nervio óptico quince días después de la interrupción. Tal acontece también con las fibras ameduladas de los seuestros cerebrales y cerebelosos semanas después del traumatismo.

En cuanto á las meduladas, se alteran rápidamente en los primeros

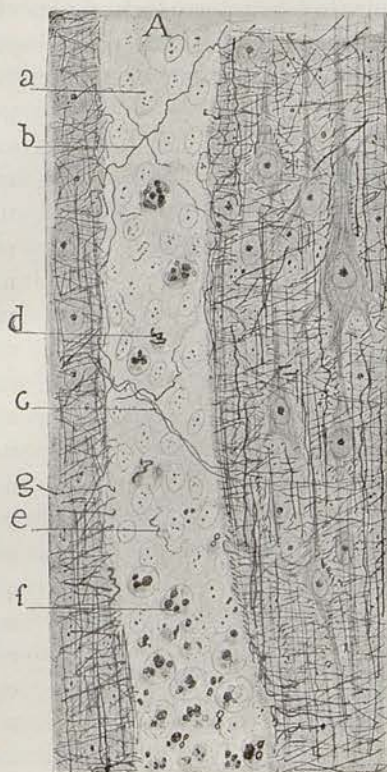


Fig. 1. — Herida cerebral de gato joven con cicatriz neuróglia delgada. — A, cicatriz; *b*, *c*, fibras de paso; *d*, trozo de axon arrugado; *e*, otro granuloso y semi-reabsorbido; *f*, células granulosas.



días que siguen á la operación (dos á cinco días) mostrando bolas de retracción (cabo central) y aspecto arrosariado (cabo periférico), según demostramos hace tiempo y han certificado G. Sala y otros autores.

De lo expuesto resulta que el cerebro de los animales jóvenes (perro, gato, conejo) es muy poco regenerable, por lo menos durante el mes siguiente á la interrupción de las vías nerviosas. La constitución de la sustancia gris y blanca parece representar un mecanismo fijo, estable, incapaz de esfuerzos restauradores rápidos. Algunos autores, sin embar-

go, G. Sala (1) entre otros, han descrito en las heridas cerebrales de los animales jóvenes (gato, conejo y perro) inequívocos signos de actividad axónica, tales como anillos, mazas terminales, etc. Semejantes formas aparecen ya en los animales sacrificados cinco días antes de la operación. En los autopsiados catorce días después, las mazas se muestran tanto en los bordes de las heridas como en la cicatriz, dentro de la cual veíanse plexos, haces y fibras sueltas, al parecer en vías de crecimiento. No declara G. Sala en qué fibras nerviosas se mostraron las mazas; probable nos parece que, como en nuestros preparados, tales espesamientos pertenezcan exclusivamente al cabo central de los tubos medulados interrumpidos.

No se pronuncia el sabio italiano sobre la significación de estos hechos; limitase á consignarlos. Esta prudente

Fig. 2. — Herida cicatrizada de la sustancia blanca del cerebro del gato joven. — A, cicatriz; B, sustancia blanca; d, c, fibras terminadas por glomérulos, pero sin bolas.

reserva está en su punto. Hay, en efecto, causas de error difíciles de evitar. Como nosotros hicimos notar (2), las mazas terminales aparecidas en los bordes de la herida pueden representar bolas de retracción en vez de botones de crecimiento; y en cuanto á las fibras de la cicatriz, cabría considerarlas como preexistentes; el traumatismo acaso las dislocó y aisló, primero en el exudado y después en el seno de la trama neurógica.

(1) *Guido Sala*: Sui fati che si svolgono in seguito alle ferite asettiche del cervello. Pavia, 1908.

(2) *Cajal*: Note sur la dégénérescence traumatique des fibres nerveuses du cer-velet et du cerveau. *Trab. del Lab. de invest. biol.*, tomo V, 1907.



Con lo cual no pretendemos negar la existencia de fenómenos regenerativos en los axones medulados. Hacemos notar solamente que la existencia de mazas y anillos no constituye signo indudable de regeneración. Hay casos, sin embargo, en que el cerebro de los animales jóvenes revela signos indudables de retoñamiento; pero esta neoformación, señalada por nosotros hace años, es eventual y sumamente fugaz. En efecto; en nuestra nota de 1907 (1) referíamos que, en las gruesas bolas de retracción de los axones de las pirámides gigantes (perro de una semana), aparecían, ocho días después de la operación, ciertos brotes á modo de radículas, que irradiaban en todas direcciones, ramificándose y perdiéndose en los territorios próximos. Las citadas radículas regenerativas fueron encontradas lejos de la herida y en plena substancia gris, alguna vez al nivel de una dilatación de trayecto, pero más á menudo en la esfera terminal.

Nuestras recientes investigaciones, recaídas en el perro de tres semanas, sacrificado uno á dos días después de la operación, prueban que estos actos regenerativos son muy precoces. Al final del primer día hállanse ya iniciados, y terminado el segundo encuéntranse en todo su apogeo. En realidad, ocho días después del traumatismo los susodichos brotes afectan gran palidez y se hallan probablemente en vías de destrucción.

En la figura 3 mostramos los tipos principales de espesamientos regenerativos. Todos ellos pueden clasificarse en estos cuatro tipos: *a*, ramificación brotada en bola terminal; *b*, retoños nacidos en varicosidades de trayecto; *c*, retoños glomerulares ó dispuestos en ovillo, nacidos de abultamientos finales; *d*, en fin, ramas emitidas por las porciones delgadas del axon.

*a*) El primer tipo reproduce la disposición descrita por nosotros en nuestra primera nota. Varias ramas brotan del contorno de una bola final de retracción, se dividen á corta distancia, palidecen progresivamente y se pierden en los territorios próximos (fig. 3, C, G). Algunos apéndices acaban en maza más ó menos pálida, reticulada y como deshilachada (G). En nuestros recientes preparados, este tipo ofrece variantes como las reproducidas en C, G.

*b*) La variedad caracterizada por el brote de retoños de un espesamiento de trayecto es la más abundante en los preparados de perros sacrificados dos días después de la operación. Nótese que estas ramas son á menudo numerosas (de dos á siete), marchan en diversidad de direcciones, acabando unas en maza reticulada pálida, perdiéndose otras, después de una ó varias dicotomías, en el plexo intersticial (figu-

(1) Cajal: *Loc. cit. Trab. du Lab. de Rech. biol.*, tomo V, 1907.



ra 3, A, B, E, F). Los espesamientos regenerativos residen de ordinario á bastante distancia de la herida y tanto en la substancia blanca como en la gris. Algunos axones exhiben hasta tres abultamientos retoñantes sucesivos (fig. 3, A).

c) Las ramas glomerulares adoptan varias disposiciones. En unos casos trátase de dos, tres ó más ramúsculos cortos, flexuosos, enredados, terminados por una bolita final y brotados de una esfera terminal (figura 3, J, K). Pero con más frecuencia, el glomérulo reside dentro del axon mismo en una especie de varicosidad pálida, de trayecto situado por encima ó debajo de un abultamiento voluminoso y bien coloreable (fig. 3, H, I). Esta disposición extraña es difícil de interpretar. Parece que el axon haya sufrido una neurolisis superficial, y las neurofibrillas centrales, excitadas por la lesión, han emitido brotes flexuosos, apelonados y terminados en mazas y anillos dentro del mismo territorio axónico necrosado.

d) En fin, existen también ramas de trayecto suministradas por la porción delgada del axon y terminadas generalmente á corta distancia, mediante mazas reticuladas ó anillos (D, R). El hecho de terminar brevemente y yacer á menudo en plena substancia blanca, impide confundir tales ramas con colaterales preexistentes.

En nuestros recientes preparados preséntanse otras disposiciones menos frecuentes. Citemos, entre ellas: ciertas varicosidades de trayecto, en cuyo interior las neurofibrillas hipertrofiadas dispónense en red laxa de escasas mallas (fig. 3, a, b) y determinadas fibras con espesamientos fusiformes, donde se ven dos regiones: central, provista de red neurofibrillar densa, y cortical pálida, pero recorrida por asas neurofibrillares hipertróficas (fig. 3, R).

Las precedentes disposiciones regenerativas representan reacciones precoces de los axones medulados. A los quince días después de la operación han desaparecido por completo. Los rosarios axónicos se han transformado en esferas sueltas, y hasta esas bolas, producto de desintegración de los cilindros-ejes medulados, se han reabsorbido en gran parte.

Los fenómenos regenerativos, tan raros y fugaces en el cerebro de los animales, ¿no serían más activos y eficientes en el cerebro humano? *A priori*, parece que la corteza cerebral del hombre ha de ofrecer, entre sus muchas excelencias y superioridades, la exquisita propiedad de restablecer, por lo menos en cierta medida, las vías interrumpidas de la substancia gris. A menudo, nos hablan los patólogos del restablecimiento en los afásicos de la facultad de articular ó de recobrar el conocimiento de la significación de los símbolos gráficos ó fonéticos del lenguaje, etc.;



y semejante restauración de ninguna manera podría esclarecerse mejor que imaginando que los axones interrumpidos, aun cuando sean incapaces de regenerar su cabo terminal, emiten colaterales supletorias susceptibles de restablecer la asociación de aquéllos con los antiguos grupos neuronales ó con grupos celulares nuevos, expresamente diferenciados para una suplencia funcional.

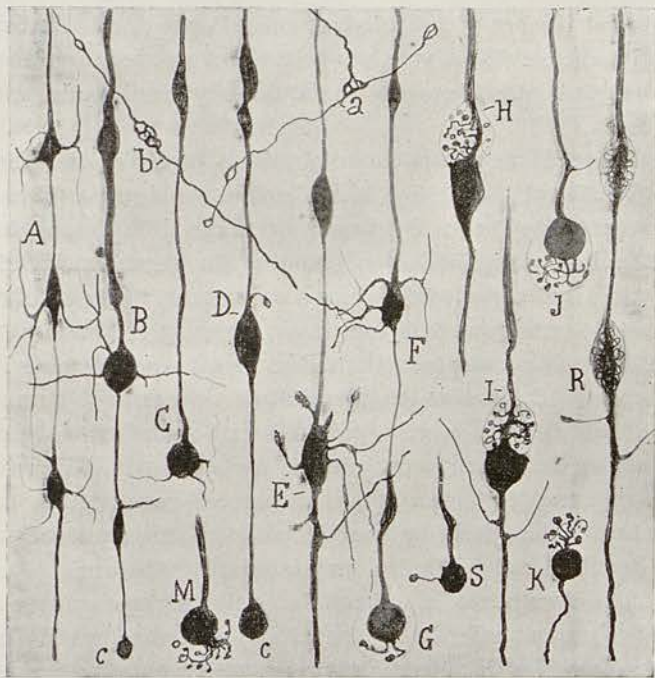


Fig. 3.—Borde de la herida cerebral (substancia blanca) de un perro de veinte días, cuarenta y ocho horas después de operado.— A, B, E, F, cabo central de axones de grandes pirámides, mostrando ramas nacidas en varicosidades de trayecto; C, G, S, ramas nacidas de bolas finales; S, K, M, arborizaciones glomerulares nacidas en bolas terminales; H, I, glomérulos formados junto á varicosidades de trayecto; a, b, varicosidades finas con neurofibrillas hipertróficas; c, cabo final de axones con bola de retracción.

Por desgracia, los trabajos de los anatómo-patólogos acerca de este importante problema son incompletos y á menudo contradictorios. Citemos algunos de los más modernos, basados sobre el empleo de métodos precisos, capaces de colorear los axones medulados y amedulados.

Bielschowsky (1), adelantándose en la aplicación de su método al estu-

(1) *Bielschowsky*: Ueber das Verhalten der Achsencylinder in Geschwülsten der Nervensystem, & *Journ. f. Psych. u. Neurol.*, vol. VII, 1906.

*Ibidem*: *Journ. f. Psych. u. Neurol.*, vol. XIV, 1909.



dio de las lesiones de la sustancia blanca y gris, provocadas por lo tumores (gliomas y tumores sífilíticos), encontró en torno de las neoplasias numerosas fibras, al parecer neoformadas, provistas de botones terminales, así como plexos perivascuales y hasta verdaderos aparatos espirales, comparables á los hallados en los nervios periféricos interrumpidos. Pero estas interesantes observaciones de Bielschowsky se refieren á la médula espinal del hombre y del mono, y no pueden generalizarse sin reservas al cerebro y cerebelo humanos. Por lo demás, la capacidad regenerativa de la médula y raíces posteriores del hombre fué ya hace tiempo observada por Nageotte en la tabes y confirmada por varios neurólogos.

Algún tiempo después, aplicando el mismo proceder analítico, Herxheimer y Gierlich (1) analizaron histológicamente algunos gliomas cerebrales, encontrando dentro del tumor bastantes fibras nerviosas más ó menos alteradas y terminadas en botones. Sin negar las aserciones de Bielschowsky, inclínanse estos sabios á considerar, tanto las fibras interiores como las exteriores á la neoplasia, no como conductores regenerados, sino como axones preexistentes en vías de degeneración.

Por su parte, R. Pfeifer (2), sirviéndose de cerebros humanos que habían sufrido durante la vida punturas exploradoras, ha reconocido, por el proceder de Bielschowsky, dentro de la cicatriz, así como en sus bordes, numerosas fibras nerviosas, al parecer regeneradas, provistas de mazas terminales; describe también bolas sueltas, ramificaciones, etc.

De las descripciones de Pfeifer, muy interesantes bajo ciertos aspectos, no se deduce claramente la existencia de fibras regeneradas. Las que reputa tales (y que pudieran legítimamente parecerlo cuando no se conocían bien las bolas de retracción), representan quizás el cabo central de axones preexistentes con bola de retracción. Aun las fibras existentes dentro de la cicatriz pudieran pertenecer á este género, ya que el proceder operatorio de la puntura se presta, mejor que ningún otro, á apartar y dislocar fibras nerviosas que ulteriormente serán envueltas y disociadas por la trama neurógica.

Miyake (3), haciendo gala de excelente espíritu crítico, duda mucho del carácter regenerativo de las fibras con mazas encontradas por él en torno de tubérculos y gliomas, inclinandose á considerarlas como conductores preexistentes en vías de degeneración.

(1) *Herxheimer et Gierlich*: Studien über die Neurofibrillen im Zentralnervensystem. Wiesbaden, 1907.

(2) *R. Pfeifer*: Ueber die traumatische Degeneration und Regeneration des Gehirns erwachsener Menschen. *Journ. f. Psychol. u. Neurol.* Bd. XII, 1908.

(3) *Miyake*: Zur Frage der Regeneration der Nervenfasern in zentralen Nervensystem. *Arbeiten aus dem neurol. Institut. an der Wiener Universität.* Bd. XII, 1908.



O. Rossi (1), examinando el cuerpo calloso de los alcohólicos encontró, aunque con rareza, fibras nerviosas ramificadas, amielínicas y terminadas por bolas diminutas. Algunas hebras neoformadas parecían rodear en espiral á otras derivaciones del mismo tallo nervioso y mostraban carácter regenerativo evidente.

Marinesco ha consagrado á este problema varios estudios importantes, sirviéndose al efecto del método del nitrato de plata reducido. En uno de ellos (2) analiza cuidadosamente los focos de reblandecimiento producidos en el hombre por las hemorragias cerebrales ya antiguas, y encuentra, en medio de exudados en vías de absorción y sembrados de macrófagos y detritus celulares, haces y plexos de axones, al parecer de nueva formación, puesto que carecen de mielina y se terminan por botones y bolas. A menudo, los haces axónicos siguen el curso de los vasos. En reblandecimientos recientes (dieciséis días después de la hemorragia), los fenómenos regenerativos son poco aparentes, subsistiendo todavía los axones viejos, que se presentan más ó menos alterados, dispuestos en rosario ó monoliformes y á veces sumamente pálidos y granuloso. Es frecuente hallar pedazos de axon plegados y alterados dentro de macrófagos. En la periferia del foco encuéntranse fibras hinchadas y monoliformes y otras varicosas; pero no faltan tampoco axones más ó menos normales, provistos de maza de crecimiento redonda ú ovoidea, los cuales pueden estimarse como expresión de un fenómeno de crecimiento.

Y en trabajo reciente (3), en que Marinesco ha examinado, sobre todo, los efectos de la compresión producidos en la médula espinal por el mal de Pott, así como los efectos de los tumores del cerebelo, describe este autor, además de las lesiones comunes, una curiosa alteración de la sustancia blanca, que consiste en la formación de pléyades ó colonias de mazas, gruesas y finas, cuyas fibras afectan á menudo dirección radiada. Estas rosáceas de mazas corresponden, sin duda, á ciertas lesiones específicas halladas hace tiempo por Fischer en el cerebro de los enfermos de demencia senil (*necrosis miliares* de Fischer) y solamente estudiadas por métodos insuficientes (4). El sabio rumano observa, asimismo, ramificaciones y figuras espiroideas en las fibras nerviosas de la médula.

(1) O. H. Rossi: Sul'istologia patologica di una speciale alterazione descritta da Marchiafava nel corpo calloso degli alcoolisti. *Riv. di pat. nerv. e mentale*, volumen XV, fasc. 6, 1910.

(2) Marinesco: Sur la neurotisation des foyers de ramollissement et d'hémorragie cérébrale. *Revue neurologique*, núm. 24, 30 Diciembre 1908.

(3) Marinesco: Nouvelles contributions á l'étude de la régénérescence des fibres du système nerveux central. *Journ. für Psychol. u. Neurol.* Bd. XVII, 1910.

(4) Recientemente nos ha mostrado el Dr. Simarro preparaciones y figuras de estas curiosas rosáceas encontradas en el cerebro humano. En las preparaciones de Simarro aparecen, además de las rosáceas, ramificaciones nerviosas evidentes



En el cerebelo humano comprimido por tumores, confirma Marinesco la existencia de las bolas de las células de Purkinje descubiertas por H. Rossi, y señala muchas interesantes variantes de esta lesión, tales como axones en rosario, mazas quísticas, colaterales recurrentes y arborizaciones complicadas brotadas de la maza, etc.

En fin, H. Rossi (1) ha comunicado, con relación al cerebelo humano, interesantes noticias sobre las mazas de retracción de las fibras de Purkinje. En un trabajo anterior (2) habíamos consignado nosotros la existencia de mazas colosales producidas en dichos axones con ocasión de traumatismos cerebelosos (perro, gato), y exponíamos la duda de si tales abultamientos serían capaces, andando el tiempo, de transformarse en botones de crecimiento, generando ramificaciones. Rossi ha demostrado esta posibilidad hallando, en botones evidentemente terminales, ramas gruesas dispuestas en arco, las cuales, marchando en sentido recurrente, abordan la capa molecular, donde se ramifican y terminan, comportándose como las colaterales normales del axon de Purkinje. Este encuentro resulta muy interesante, porque revela que el axon interrumpido con bolas de retracción, sólo posee capacidad para restaurar sus colaterales iniciales, es decir, las conexiones con neuronas congénereas, en vez de restablecer la continuación del tallo, asociado, como se sabe, á las células nerviosas de la oliva cerebelosa.

El valor de las precedentes investigaciones, desde el punto de vista de la regeneración de las vías centrales, es desigual. Es casi seguro que algunos de los referidos sabios han tomado fenómenos de degeneración por actos regenerativos. Difícil es, en efecto, distinguir en ocasiones una bola de retracción de un botón de crecimiento, sobre todo cuando se trata de lesiones nerviosas precoces. Arduo igualmente resulta, en determinados casos, diferenciar fibras preexistentes amedulladas, retraídas y englobadas en una cicatriz ó en masa necrótica, de las legítimas ramas neoformadas.

y curiosas hipertrofias de axones y colaterales. En breve se publicará el trabajo de este sabio.

Mientras corregimos estas pruebas, ha aparecido una importante Memoria de Simchowicz, acerca de la anatomía patológica de la demencia precoz, en cuyo trabajo confirma la existencia de las *necrosis miliares* de Fischer, que llama *placas seniles*, encontrando en ellas, además de las mazas gruesas, ramificaciones axónicas y anillos. Véase: *Histologische Studien über die senile Demence. Histol. u. Histopathol. Arbeiten über die Grosshirnrinde & c. Herausgegeben v. Nissl. u. Alzheimer.* Bd. IV, H. 2, 1911.

(1) *Cajal*: Note sur la dégénérescence traumatique des fibres nerveuses du cer-  
velet et du cerveau. *Trav. du Lab. de Recher. biol.* Bd. V, 1907.

(2) *O. Rossi*: Per la rigenerazione dei neuroni. *Trab. del Lab. de invest. biol.*,  
vol. VI, 1908.



Sin embargo, aun llevados al capítulo de las degeneraciones algunos supuestos hechos regenerativos, es indudable que las observaciones de Marinesco y de H. y O. Rossi contienen hechos positivos de neoformación, más ó menos abortada, de colaterales nerviosas. Y en todo caso parece probable, según hemos enunciado más atrás, que el cerebro y cerebelo humano posean capacidad regenerativa muy superior á los centros correspondientes de los animales.

**Comportamiento de las dendritas en las heridas cerebrales.**—¿Cómo se comportan los tallos protoplásmicos de las pirámides cerebrales traumatizadas?

En las figuras 4 y 5 mostramos los dos bordes de una herida concéntrica del cerebro del gato de dos meses, herida que pasaba inmediatamente por encima de la capa de las grandes pirámides (región motriz). El animal fué sacrificado dieciséis días después de la operación. En la pérdida de substancia aparece un exudado claro, con restos de hematíes y tal cual célula granulosa. Es preciso distinguir el borde superficial y el borde profundo, porque en cada uno las dendritas afectan caracter algo diverso.

En el borde profundo, los tallos de las pirámides y ramas protoplásmicas ascendentes hallanse unidas al centro trófico, presentándose casi normales, así como las pirámides de que son dependencia. Sólo se nota que al aproximarse á la herida las dendritas se condensan y obscurecen algo

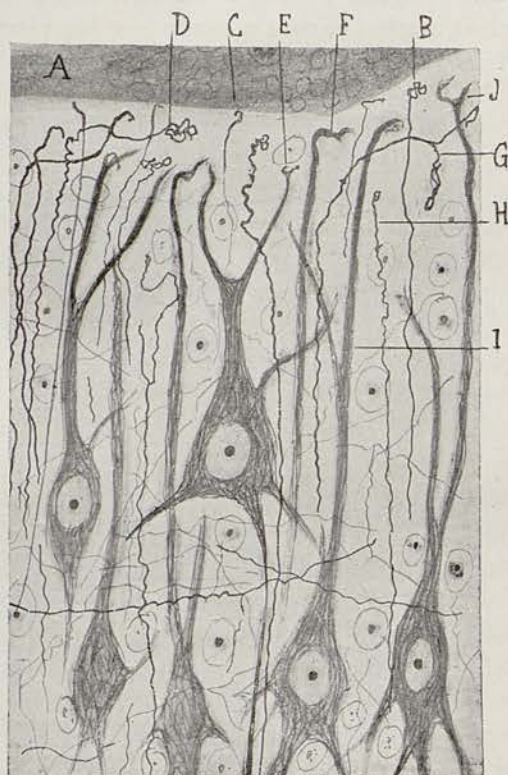


Fig. 4. — Pirámides de la corteza cerebral del gato de dos meses, en la cual se hizo un corte horizontal. — A, herida con restos de exudado; B, C, D, ganchos y glomérulos porque terminan en la herida los axones ascendentes para la capa molecular; E, F, J, cabos traumatizados de los tallos dendríticos.



y acaban de varias maneras. Las más de ellas dóblanse en sentido transversal y se terminan por una punta de pincel algo deshilachado y pálido (fig. 4, F). Otras, después de inclinarse, exhiben en el cabo final dos ramos ó pinceles pálidos terminales sumamente cortos (fig. 4, J) y de longitud desigual. En ningún caso presentan curso espiroideo y ovillo terminal, según ocurre á menudo con los cabos cortados de las fibras nerviosas (fig. 4, B, D).



Fig. 5. — Trozo superficial de la corteza de la misma herida cerebral (gato de dos meses). — A, E, D, C, glomérulos terminales de fibras nerviosas en los labios de la herida; G, H, F, cabos profundos corroidos de tallos dendríticos, B, heridas con restos hemorrágicos.

En suma, el cabo central de las dendritas mutiladas carece de maza terminal, sea de retracción, sea de crecimiento; y á pesar del tiempo transcurrido después de la operación, es imposible descubrir en ellas señal alguna de regeneración, á menos que se considere como tal el conato de división perceptible, á veces, en la proximidad de la herida. Hagamos notar, sin embargo, que este cabo terminal reside en plano algo alejado de la línea de la interrupción de la substancia gris, debiendo, por tanto, admitirse la destrucción por reabsorción de un trozo variable



de los tallos protoplásmicos. Esta corrosión, como veremos, constituye también hecho constante en los secuestros nerviosos.

En el borde superficial (fig. 5, G), las dendritas, que están separadas de su centro trófico, aparecen más ó menos alteradas y como desgastadas por su cabo inferior. La mayoría de ellas termina, á cierta distancia de la lesión, á favor de una punta pálida y á veces un tanto flexuosa. Nótese que, en la proximidad de la herida, el haz neurofibrillar de cada tallo se muestra compacto y vigorosamente coloreable por el nitrato de plata; pero á medida que se aleja de la lesión, las neurofibrillas del haz palidecen y se aflojan, tornándose serpenteantes y engrosándose, por tanto, el diámetro del tallo radial, el cual cabe seguir más ó menos bien hasta la capa primera ó plexiforme. Existe, pues, en el cabo proximal de toda dendrita, separado de su centro trófico, un proceso de atrofia ó corrosión más acentuado todavía que el sufrido por el cabo unido á la célula de origen. En ningún caso aparecen en tales cabos ramificaciones ni mazas de crecimiento. Digna es de notarse la gran resistencia de las neurofibrillas dendríticas á la destrucción, ya que apenas se muestran alteradas dieciséis y veinte días después de su separación de las células de origen.

Notemos también en la figura 5 el estado de palidez del protoplasma de las neuronas vecinas á la herida y cuyos axones fueron cortados. Sus neurofibrillas dejan de teñirse ó se tiñen muy incompletamente y sólo al nivel del tallo radial. En cambio, el nucleolo con sus esférulas preséntase apenas alterado. Repárese, además, cómo el cabo inferior de los axones separados de su centro trófico (pertenecen en su mayoría á células de axon ascendente profundamente emplazadas) muéstranse flexuosos y se terminan á menudo en el borde mismo de la herida, mediante un ganchito ó un pequeño glomérulo, atestiguando su gran resistencia á la absorción y su incapacidad para reaccionar bajo la forma de botones ó de ramas (E). Igual disposición se advierte en el borde profundo de la herida (fig. 4, C), donde sólo en casos raros se sorprende algún conato de ramificación. De ordinario las fibras nerviosas muéstranse espiroideas, espésanse algo cerca de la herida y acaban, ya por cabos escasamente espesados, ya por ganchos, ya, en fin, por glomérulos, que deben considerarse como resultado de la retracción y amontonamiento del trozo axónico directamente cortado y primitivamente sumergido en la herida.

**Comportamiento de las dendritas y fibras nerviosas en los secuestros cerebrales.**—Nada más fácil que producir secuestros nerviosos en la corteza cerebral de un animal de pocas semanas; basta para ello herir reiteradamente el cerebro, aprovechando la misma brecha craneal y dando cada vez orientación diversa al escalpelo. Los secuestros más instructi-



vos son los obtenidos mediante heridas secantes á las circunvoluciones. Obtienen á menudo trozos concéntricos y aislados de capa molecular y de zonas de pirámides. Con frecuencia presentan entre los trozos de substancia gris plexos densos y enmarañados de fibras nerviosas, especie de colonias axónicas errantes, bañadas en exudado y conservables, con leves alteraciones, muchos días después de la lesión. Ni es raro tampoco

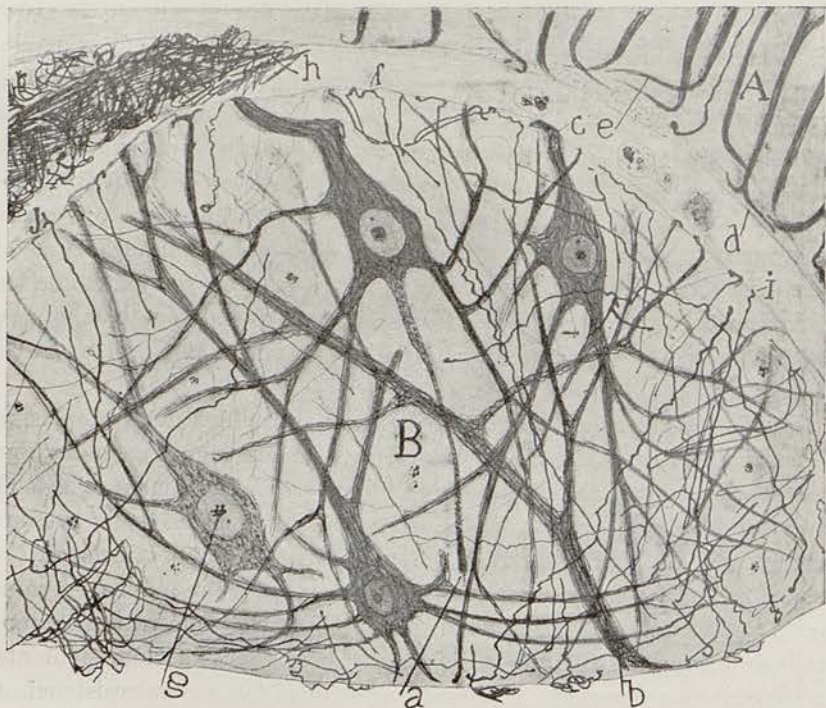


Fig. 6. — Secuestros cerebrales del gato de un mes sacrificado seis días después de la operación. — A, secuestro superficial que muestra en corrosión los cabos profundos de los tallos dendríticos; B, secuestro profundo con una colonia celular aislada; *a*, axon degenerado; *b*, *c*, tallos aislados; *d*, cabo dendrítico bifurcado; *h*, bloque de fibras nerviosas dislocadas; *g*, nucleolo desintegrado.

encontrar sueltas y flotantes en la herida neuronas y hasta núcleos neuronales; semejantes reliquias nerviosas son resultado de arrancamientos y dislocaciones de fibras y células, obrados mecánicamente por el instrumento cortante.

Los trozos más instructivos son los voluminosos y superficiales, que fueron completamente separados de la masa cerebral subyacente, desapareciendo, por tanto, todas sus ataduras sanguíneas profundas. Uno de los más expresivos observados por nosotros, es el representado en la



figura 6. En este ejemplo, los secuestros eran dos concéntricamente emplazados: uno superficial (A), que comprendía la capa molecular, y otro profundo, perfectamente aislado, correspondiente á las zonas de pirámides grandes y medianas (B). El animal, un gato de un mes, fué sacrificado seis días después de la operación.

Lo primero que llama la atención en este islote cerebral, es la excelente conservación de algunas neuronas, así como de sus dendritas (figura 6, B). Unas y otras ostentaban enérgicamente teñidas sus neurofibrillas, y al parecer completamente normales. Sin embargo, algunas neuronas próximas á la interrupción mostrábanse granulosas, y sus expansiones atraían apenas la plata coloidal (fig. 6, g). Curioso es notar que, en las células mejor conservadas, no ha sufrido el nucleolo ningún quebranto, apareciendo construido por un conglomerado de esférulas enérgicamente impregnadas. Hasta el cuerpo accesorio resulta bien perceptible. Con todo eso, en las neuronas granulosas y pálidas, las esférulas del nucleolo ofrécese como disgregadas y empequeñecidas. Las fibras nerviosas ameduladas consérvanse bien, afectando diversas direcciones y á menudo aspecto espiroideo.

Digno, sobre todo, de atención es el comportamiento del axon de los elementos residentes en el secuestro. En los casos en que pudo con toda evidencia reconocerse (fig. 6, a) aparece granuloso, así como su cono de emergencia; y tras un trayecto adelgazado y pálido, crece un tanto en espesor, gana en afinidad por la plata coloidal y acaba, no por maza de crecimiento ó de retracción, sino á favor de punta roma, ligeramente espesada y comparable al pico de una sonda (fig. 6, a). En ocasiones, de este cabo obscuro surge un hilo corto, finísimo y pálido, resto del pedazo desaparecido del cilindro-eje, que parece experimentar un proceso de corrosión. Que esta reabsorción ó digestión axónica es fenómeno real, lo persuade fácilmente el hecho de que el cabo del axon aparece casi constantemente retirado algunas centésimas de milímetro del borde de la herida. En algunos casos, sin embargo, hemos reconocido un filamento axónico delicado, algo así como una neurofibrilla axial de la antigua expansión alcanzar hasta la superficie de la lesión.

Dedúcese de lo expuesto que el axon de las neuronas de los secuestros, lejos de ser asiento durante los seis días siguientes á la lesión de actos regenerativos, es objeto de un proceso de absorción, que va de la herida hacia la célula y desde la superficie axónica á su eje.

El comportamiento de las dendritas reproduce, en principio, las disposiciones más atrás consignadas. En el secuestro superficial, los tallos dendríticos separados de su centro trófico, acaban cerca de la herida ó en la herida misma (fig. 6, e) mediante cabos adelgazados (*pun-*



*tas de corrosión*). Sólo que en el caso que estudiamos estas puntas se presentan á menudo dobladas en la superficie de la lesión, constituyendo un sistema de fibras cortas tangenciales. A veces, el cabo de corrosión exhibe alguna ramilla arciforme ó algún comienzo de deshilachamiento (figura 6, *d*). Seguidos estos tallos dendríticos hacia la capa molecular, reconócese fácilmente su estriación longitudinal, siendo dable sorprender sus ramas terminales al parecer completamente normales.

En cuanto á las ramas y tallos dendríticos unidos á sus células de origen, apenas si aparecen alterados. Cuando más, se percibe junto á la herida alguna mayor palidez y conatos de deshilachamiento. En la célula (figura 6) el tallo, seccionado muy cerca del soma, mostraba cierta flexión y alguna desigualdad, pero ningún fenómeno de retoñamiento. En otra célula inferior dos dendritas basilares un tanto puntiagudas asomaban en los bordes de la herida.

De igual relativa inmunidad gozan las colaterales y finos axones ascendentes diseminados por el secuestro. Tiñense intensamente, marchan con frecuencia flexuosos, y rematan en los bordes del islote, ya por cabo ganchoso, ya por un conglomerado (*i, f, j*).

En secuestros superficiales del cerebro observados veinte días después de la operación, las dendritas y fibras nerviosas subsisten aún, pero los somas de la mayoría de las células no se colorean por la plata coloidal, ó cuando se tiñen algo afectan aspecto granuloso. El nucleolo y sus esférulas persisten. La corrosión de los tallos dendríticos al nivel de la herida ha avanzado mucho, pero todavía se mantienen, al parecer, incólumes las neurofibrillas del tallo de las pirámides. No habiendo nuestras observaciones ido más allá de los veinte días, ignoramos la suerte final reservada á células y fibras.

De todos modos, y cualquiera que sea la suerte corrida por los secuestros cerebrales, éstos nos revelan un hecho interesante: la capacidad de sus dendritas y fibras nerviosas de persistir, sin cambios morfológicos apreciables, varias semanas después de su absoluta desasociación del resto de los centros nerviosos, á condición de continuar recibiendo mediante capilares, brotados en la *pia*, la indispensable irrigación nutritiva. Sólo cuando el secuestro es muy pequeño puede subsistir algún tiempo inalterado, sin más nutrición que la operada á expensas del líquido exudado en los bordes de la herida.

La cuestión de averiguar si las neuronas persistentes en los secuestros nerviosos conservan su vitalidad y son capaces, por tanto, de acciones fisiológicas, no es abordable por ahora. Fáltanos para ello el criterio decisivo de la vitalidad neuronal, esto es, la creación de expansiones, ya que, tratándose de células nerviosas, no hay que buscar como testimonio



de supervivencia actos de proliferación. De poco puede servirnos, por otra parte, el criterio de la conservación morfológica y estructural. Nuestras observaciones acerca de la conservación *in vitro* y en estufa de los nervios y centros nerviosos (1), nos han persuadido de que algunos elementos nerviosos evidentemente muertos son susceptibles de mantener su estructura y morfología dos ó más días después de la muerte, no obstante la acción del calor y de la autólisis, con tal de que se altere muy poco la composición química del plasma natural ambiente y se evite la putrefacción. Interpretando estos hechos en el sentido de la reciente doctrina de Nageotte (2) acerca de la acción conservadora de las sales de sodio, sería lícito imaginar que si las células y fibras cerebrales mutiladas y aisladas se conservan bien, ello resulta de la constancia de la composición salina y albuminoide del plasma ambiente. Pero sobre este punto no está dicha la última palabra.

#### MÉDULA ESPINAL

En la médula espinal, los experimentos de heridas asépticas prontamente cicatrizadas sin penetración de la trama mesodérmica, consiégense fácilmente y con éxito mucho más constante que en el cerebro y cerebelo. De ordinario, toda herida pungitiva hecha con fino escalpelo á través de la columna vertebral y partes blandas y de manera que interrumpa sólo parcialmente la substancia blanca ó gris, cicatrízase rápidamente sin formación de quiste. Los labios de la lesión aparecen soldados por un tabique delgado de neuroglia, donde pululan escasos leucocitos y algunos capilares de nueva formación. Trátase, en fin, de una cicatrización rápida, comparable á la llamada por los anatomo-patólogos reunión por primera intención. A menudo, obtiégense ya reuniones de este género á los tres ó cuatro días consecutivos al traumatismo.

Repárese, por ejemplo, en la fig. 7 A, un pedazo de esta cicatriz neuróglia. En su trama destacan ciertos núcleos relativamente pequeños, provistos de uno ó dos nucleolos semejantes á los característicos de los elementos neuróglícos normales. En torno de tales núcleos percíbese la masa pálida del protoplasma neuróglíco sin formas bien definidas. De trecho en trecho, destacan algunas pocas células granulosas y tal cual bola aislada de substancia axónica. Examinemos separadamente ahora el comportamiento de las dos substancias blanca y gris interrumpidas por la lesión.

(1) *Cajal*: Algunos experimentos de conservación y autólisis del tejido nervioso. *Trab. del Lab. de Inves. biol.*, tomo XIII, fasc. 8, 1910.

(2) *Nageotte*: Action des métaux et de divers autres facteurs sur la dégénération des nerfs en survie. *Compt. rend. de la Soc. de biol. de Paris*. Séance 17 Déc. 1910.



**Substancia blanca.**— En los preparados donde la trama conectiva exterior no ha tenido ocasión de penetrar, el hecho culminante es también la indiferencia vegetativa de la substancia blanca, en la cual no se descubren, sino excepcionalmente, fibras ramificadas. En su inmensa mayo-

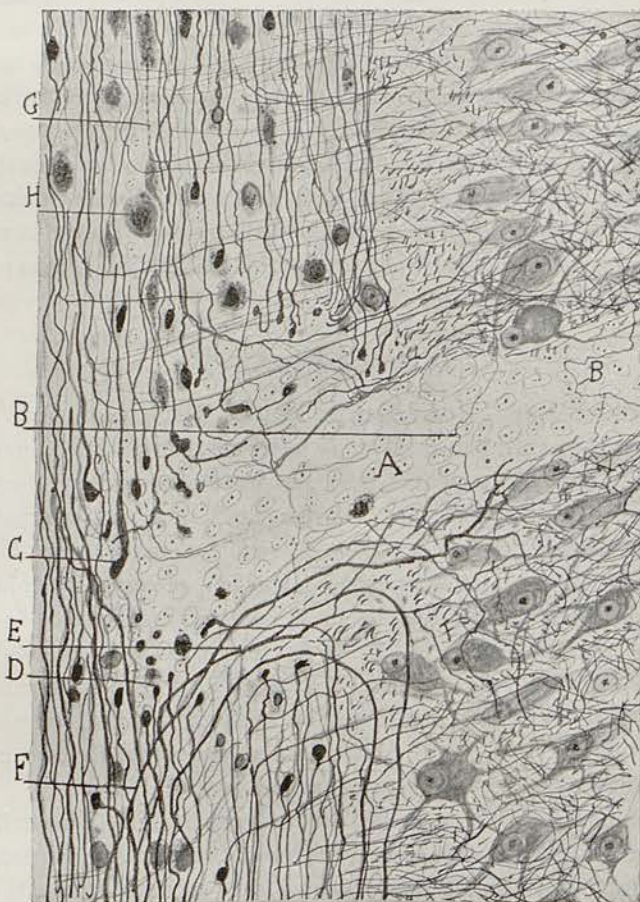


Fig. 7. — Corte parcial de la médula espinal del perro joven sacrificado seis días después de la lesión. — A, cicatriz neuróglia; B, fibras perforantes; C, D, bolas en el cabo final de tubos de la substancia blanca interrumpida; E, fibras arrosariadas; F, colaterales de radicales motrices.

ría acaban mediante bolas de retracción de diversas formas y tamaños. Por caso raro sorpréndese alguna ramilla colateral terminada en grano ó en anillo y tal cual bifurcación (fig. 7), observable, sobre todo, en las secciones parciales del cordón anterior. En los cortes incompletos del posterior, sólo aparecen mazas exentas de ramificación, según se ad-



vierte en la fig. 10, B. En fin, reparemos que en la sustancia blanca ni los axones coronados de mazas ni las raras fibras ramificadas, son capaces de cruzar la delgada cicatriz y ganar la opuesta orilla (figs. 7 y 10).

Bajo este aspecto, el contraste existente entre las cicatrices neuróglícas y las amplias cicatrices formadas por la irrupción del tejido conjun-

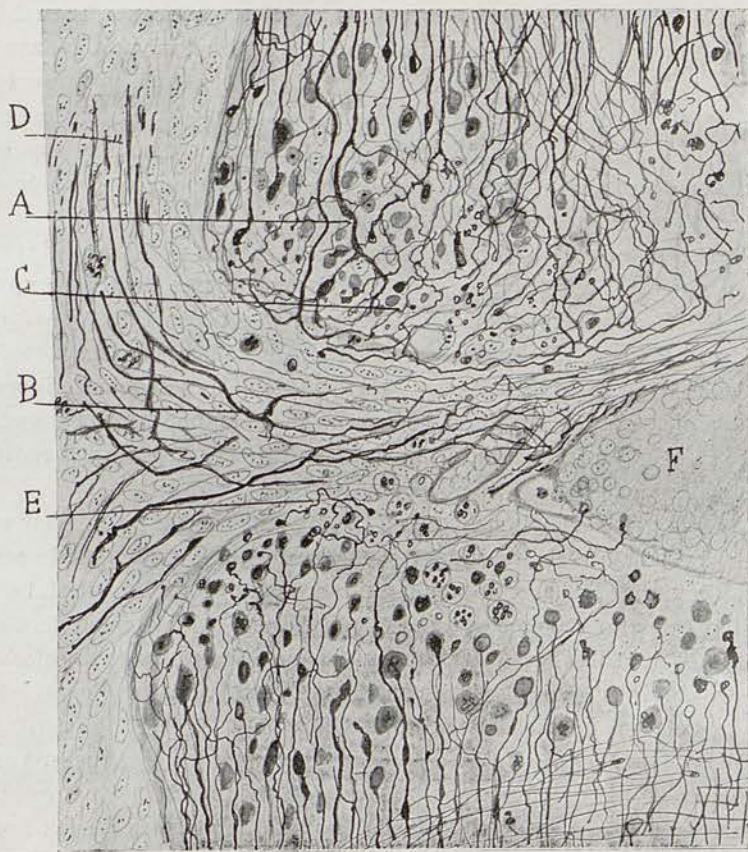


Fig. 8. — Labios de una herida medular total del perro joven sacrificado seis días después de la operación. — A, C, fibras cordonales ramificadas en la porción necrótica de la sustancia blanca; B, fibras neoformadas llegadas de una raíz anterior regenerada; D, restos de esta raíz anterior; F, quiste en formación.

tivo es notable. En la figura 8 mostramos una de estas últimas, correspondiente á la médula espinal, totalmente interrumpida, de un perro joven, sacrificado seis después de la lesión. Obsérvese la notable riqueza de ramificaciones ofrecida por los axones interrumpidos del cordón antero-lateral; muchas fibras neoformadas dan vueltas y revueltas por el



espesor de la zona necrótica, asomándose á la cicatriz, en la que penetran más ó menos. No son, sin embargo, los retoños cordonales los principales factores inervadores de la cicatriz conectiva. El rico plexo nervioso que en ésta se percibe, proviene, con toda evidencia, de las raíces anteriores, una de las cuales aparecía seccionada á no mucha distancia de la herida. Diríase que existe cierto antagonismo, algo así como una lucha entre ambas categorías de retoños nerviosos, durante la cual las fibras motrices, dotadas de superior pujanza regenerativa, alcanzan la victoria, y obligan á las cordonales á abandonar el campo y retraerse á la porción necrótica medular. A la derecha de la figura 8, F, destácase un quiste en vías de formación, donde pululan leucocitos y células granulosas. Algunas mazas cordonales han caído por error en el espesor del quiste, dentro del cual no osan aventurarse.

En suma; en las grandes heridas medulares abiertas é invadidas por el tejido conectivo embrionario, los axones cordonales parecen experimentar cierta sobreexcitación formativa. Este proceso falta ó es poco marcado en las heridas rápidamente cicatrizadas á favor de la neuroglia. A despecho de la citada excitación neurocládica, la potencia de inervación de la cicatriz por las fibras de la sustancia blanca resulta fugaz, y siempre inferior en intensidad á la capacidad inervadora de las radicales motrices ó sensitivas neoformadas.

**Substancia gris.**—Por lo que toca á la sustancia gris, las heridas medulares rápidamente cicatrizadas revelan pocos actos evidentes de regeneración. Sin embargo, la exploración cuidadosa del plexo intersticial y de la cicatriz permite reconocer, aunque con rareza, la existencia de algunos puentes fibrilares, es decir, de expansiones que cruzan la cicatriz juntando las substancias grises contiguas. Semejantes prolongaciones son de dos clases, nerviosas y protoplásmicas.

a) *Ramas nerviosas.*—Trátase de fibras finas pálidas, flexuosas, á menudo dispuestas en escalones complicados, que cruzan más ó menos oblicuamente la cicatriz, enlazando los plexos de colaterales de las áreas opuestas de las astas medulares. Halláanse de preferencia en el territorio del asta anterior y región gris central. A veces, diviéndose durante su itinerario, perdiéndose sus ramas en los citados plexos. Perseguidos los tallos de origen de los citados conductores perforantes, se les ve cambiar de plano y engolfarse en la complicada urdimbre intersticial de la sustancia gris. Verosimilmente, continúanse con colaterales cordonales, aunque de ello no tenemos pruebas decisivas. En las figuras 7, B y 10, D, mostramos algunos de estos delicados conductores unitivos. En ellas se han reunido fibrillas encontradas en tres secciones sucesivas.

Importa no confundir las citadas hebras perforantes, íntegras y bien



coloreadas, con ciertos trozos sueltos ó mutilados, pálidos y granulosos, residentes también en la cicatriz. Semejantes pedazos de ramas, que suelen faltar en las cicatrices de más de quince días, nos parecen restos del plexo intersticial preexistente disociados y dispersados por la violencia traumática (fig. 9, a).

b) *Ramas protoplásmicas*.—Además de las hebras nerviosas, encuéntranse también, aunque menos á menudo, ciertas fibras perforantes ro-

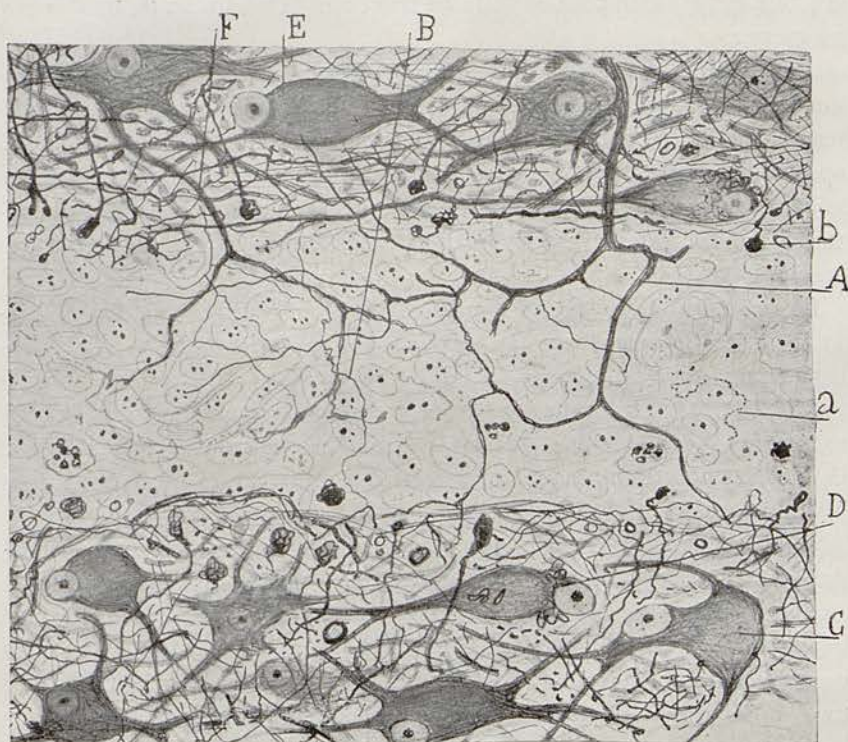


Fig. 9. — Herida de la sustancia gris de la médula de perro joven cicatrizada mediante una lámina neuróglia. — A, expansión protoplasmática neoformada; B, fibra nerviosa perforante; D, neurona con núcleo saltón y asas neurofibrilares hipertróficas; C, otra con núcleo emigrado hacia una dendrita.

bustas, de aspecto estriado á lo largo, y ramificadas y orientadas de preferencia según el plano de la cicatriz, por cuya razón casi todas sus ramas aparecen de punta en las secciones longitudinales de la médula. En su camino, á través de la cicatriz, se dividen y subdividen complicadamente; el conjunto de la arborización imita las nerviaciones del asta del ciervo (fig. 9, A). Ahora bien, perseguidas algunas de tales ramas hacia su terminación, reconócese que, después de variados giros, durante los



cuales cambian de plano, acaban por ganar la substancia gris del borde opuesto, en donde se terminan. Seguido el tallo generador hacia su origen, se le ve tornarse de cada vez más grueso y pálido, y perderse, al fin, en el plexo dendrítico situado entre las neuronas del asta anterior ó de la substancia gris intermediaria. En la figura 9, A, donde reproducimos una de las recias expansiones perforantes de este género, que pudo seguirse en mayor extensión, dicho tallo acababa continuándose con una gruesa dendrita cortada de través en la vecindad de una neurona motriz.

Así que damos por verosímil que esta segunda categoría de expansiones perforantes representa la porción intracitricial de algunas dendritas en vías de regeneración. Por lo demás, ya O. Rossi (1) ha llamado la atención sobre la capacidad neoformativa de las expansiones protoplásmicas (neuronas motrices), en algunas de las cuales ha observado el contorno del tallo de origen espesado y erizado de ramas de nueva formación.

La regenerabilidad de las dendritas es hecho poco frecuente y á menudo difícil de demostrar. De todos modos, su existencia es en algunos casos indudable y denota la posibilidad de actos reconstructivos con miras asociativas. En efecto, no parece inadmisible que las citadas dendritas neoformadas, después de cruzar la cicatriz, entren en conexión con la arborización terminal de colaterales ó terminales de fibras sensitivas ó funiculares.

Las precedentes observaciones recayeron en gatos y perros sacrificados cuatro, seis y siete días después de la operación. Claro es que en periodos ulteriores las cosas podrían variar. Así, las susodichas ramas nerviosas y protoplásmicas perforantes, podrían ser asiento de un proceso de reabsorción; más plausible empero, parece que, orientadas por un resto de quimiotactismo específico de las neuronas, y fortalecidas por la excitación funcional, se conviertan ulteriormente en vías permanentes supletorias. A este propósito, conviene hacer notar la gran diferencia existente entre el proceso regenerativo de la substancia blanca y el de la substancia gris. En aquélla, las neuronas de origen de los axones cortados residen á enorme distancia, y toda acción neurotrópica orientadora y neurocládica parece imposible. Al contrario, tratándose de dendritas y de arborizaciones nerviosas de la substancia gris, las fuentes orientadoras yacen vecinas, y por débiles que se las suponga en el adulto, podrían actuar eficazmente, á condición de que las cicatrices, libres de elementos mesodérmicos extraños, sean delgadas y las neuronas

(1) O. Rossi: *Loc. cit. Rivis. di patol., ner. e mentale*, ano XIII, fasc. 11, 1908.



próximas á la herida hayan sido poco comprometidas por las violencias traumáticas.

A fin de averiguar si, como es de presumir, las fibras regeneradas de la cicatriz de la substancia gris persisten y aumentan más allá de los seis días consecutivos á la operación, hemos practicado en una serie de perros de pocos días algunas punturas medulares. La operación se ejecutó á través de las partes blandas, á fin de disminuir en lo posible todas las causas de inflamación y de degeneración traumática extensa de la médula espinal. Los animales fueron sacrificados veinte días después de la operación. No obstante las precauciones tomadas, en dos perros la lesión fué demasiado extensa y se desarrolló en ella un quiste; en otros, en cambio, la herida parcial aparecía cicatrizada por delgado tabique neuróglia.

El examen de estas cicatrices neuróglia, previa coloración con el nitrato argéntico (fijación en piridina al 50 por 100, alcohol después, etc.), mostró mayor número de fibras nerviosas que las cicatrices de seis días. En cambio, no aparecieron vegetaciones dendríticas perforantes. Entre las fibras nerviosas que cruzan enteramente la cicatriz, las hay finas y gruesas.

Las finas son flexuosas, trazan á menudo escalones por entre las células neuróglia de la herida, se bifurcan alguna vez en su trayecto intracicatrizal y se pierden finalmente en los plexos de colaterales que rodean las neuronas del asta anterior. Por su delgadez y por el paraje de donde emanan, tales fibras semejan colaterales del cordón anterior regeneradas. Algunas de las no enteramente perforantes se las ve coronadas de minúsculas bolas de crecimiento y como detenidas en el espesor de la cicatriz. Por lo demás, las fibras finas perforantes completas son numerosas. En un sólo corte se contaron 24 ó 25.

Las fibras gruesas poseen calibre de axones y cruzan, ya directa ya oblicuamente, la trama cicatricial, perdiéndose en los plexos de la substancia gris. En su camino no suministran ramas. Estos conductores son también bastante numerosos. En uno de los casos en que la herida medular contenía un pequeño quiste, la cicatriz neuróglia, prolongada en el espesor del asta anterior, exhibía un gran número de conductores de este género. Su intensa colorabilidad, su ausencia de mielina, su perfecta integridad, etc., no permiten dudar de su carácter de fibras regeneradas.

Imposible saber si los citados gruesos conductores son axones cordones restaurados ó más bien robustas colaterales regeneradas. Nos inclinamos, sin embargo, á esta última opinión, por haber notado que las tales fibras disminuyen á veces de calibre en la substancia gris, como si, al nivel de la cicatriz, hubieran adquirido una especie de hipertrofia.



En suma; veinte días después de la operación, las cicatrices neuróglícas de la médula (tanto puras como periquísticas), cuando son delgadas y juntan con proximidad los bordes de la herida, contienen gran número de fibras nerviosas perforantes. Estas fibras neoformadas parecen constituir vías definitivas. En ellas ha desaparecido todo rastro de mazas y de ramificaciones. De todos modos, la cuestión de la regeneración parcial de la sustancia gris no la juzgamos resuelta. Se impone aún ejecutar nuevos experimentos en los cuales los animales sean sacrificados dos y tres meses después de la operación, á fin de averiguar si las fibras perforantes persisten definitivamente.

Por lo demás, la sustancia gris de la médula espinal, cuya sección ha sido rápidamente cicatrizada, exhibe otros detalles dignos de atención. Reconócese, desde luego, que las fibras de la sustancia blanca y gris se alteran tanto menos cuanto más delgadas son, es decir, cuanto más cerca se hallan de su estado embrionario. Así, por ejemplo, en la figura 10, *f*, se observa que mientras determinadas fibras del cordón posterior (probablemente meduladas y separadas de su centro trófico) aparecen arrosariadas y en vías de reabsorción, sus colaterales subsisten todavía, mostrando hacia la sustancia blanca, es decir, hacia su origen, una maza ó bola de retracción (fig. 10, *e*, *f*). Esta bola, indicio de la degeneración walleriana, aparece detenida en distintos planos de la sustancia de Rolando (haces de colaterales radiadas) y á menudo va precedida de un asa ó corvadura.

De pensar es que la arborización terminal sensitiva se conserve íntegra, dado que los plexos de la sustancia gris, así como el curso ulterior de las citadas colaterales, carece de mazas, rosarios y de toda especie de alteraciones. Sin embargo, andando el tiempo, es seguro que tales ramificaciones, disociadas de su célula de origen, acabarán por reabsorberse. En todo caso, compruébase también en la médula ese fenómeno de indiferencia regenerativa de las fibras ameduladas y de los plexos terminales que hemos reconocido en la sustancia gris del cerebro.

Nótase asimismo en dichas preparaciones que los tubos medulados todavía unidos á su centro trófico degeneran también en cierta extensión (degeneración traumática), mostrando una bola de retracción detenida á distancias variables de la herida (*b*). De ordinario, la bola de retracción dista tanto más de la lesión cuanto más robusto es el axon, particularidad reveladora de la notable capacidad degenerativa de los gruesos tubos medulados. Es frecuente advertir que la bola de retracción se detiene justamente al nivel de la emergencia de la colateral más inmediata á la herida, con lo que, según señalamos hace tiempo, la colateral se convierte en terminal (fig. 10, *a*). Ulteriormente, la bola de retracción desaparece.



Del estudio minucioso á que hemos sometido la sustancia blanca en continuación con las fibras interrumpidas, resulta que existe un criterio seguro para discernir, por el examen del axon, la fibra medulada separada de su centro trófico de la que no lo está. El cilindro-eje, aislado de

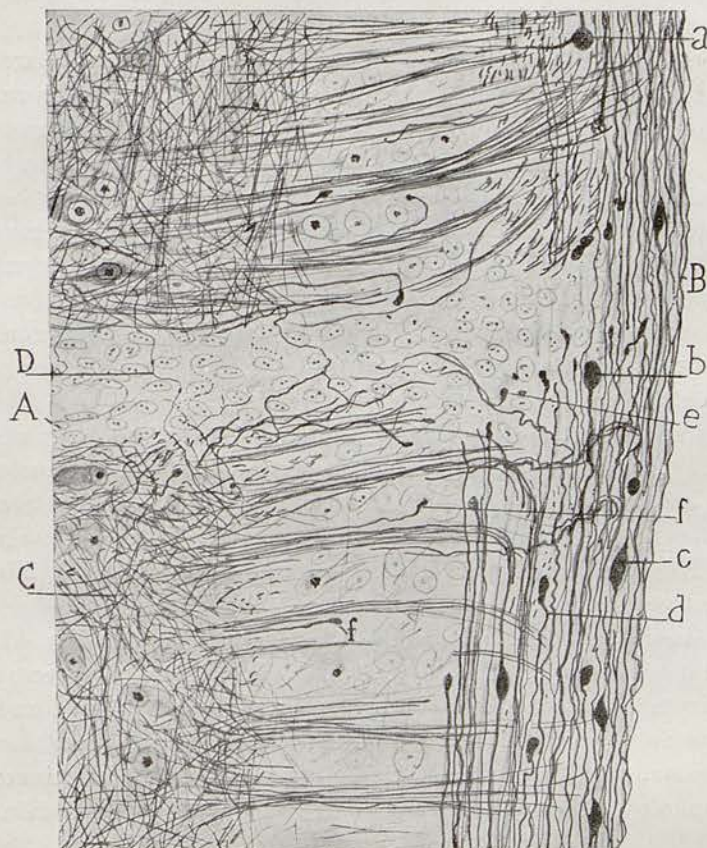


Fig. 10. — Corte parcial de la médula espinal del perro joven. Región del cordón posterior y sustancia de Rolando. — A, cicatriz; B, cordón posterior; C, plexo nervioso del asta posterior; D, fibra nerviosa perforante; a, bola de la que sale una colateral; b, bolas de retracción de la sustancia blanca; c, rosarios de fibras degeneradas; f, bola final en colaterales sensitivas.

la célula de origen, desde los dos ó tres días en adelante aparece arro-sariado, granuloso y relativamente pálido; los puentes de unión de los espesamientos se adelgazan sucesivamente, y al cabo de un tiempo variable (diez á veinticinco días en la médula espinal), las varicosidades se hacen libres, constituyendo bolas que acaban por reabsorberse. En cambio, el axon, unido á su centro trófico, se caracteriza por exhibir



una sola bola ó maza de retracción situada á más ó menos distancia de la herida, sin exhibir jamás aspecto arrosariado.

Respecto de las células nerviosas vecinas de la herida, nada nuevo podemos comunicar. Limitarémonos á comprobar que la mayoría de ellas muéstranse en cromatolisis, con núcleo extraordinariamente periférico y notablemente saltón (fig. 9, E, D).

El soma aparece redondeado ó elipsoideo y frecuentemente paralelo á la herida, alojando el núcleo en uno de sus polos. De cuando en cuando, sorpréndese el protoplasma inmediato al núcleo en plena erupción de asas y redes periféricas como las descritas por G. Sala y Cortese (1) y O. Rossi (2), en la médula espinal del conejo (fig. 9, D). Tampoco es raro encontrar dendritas más ó menos recias y largas que lo ordinario y exhibiendo matiz obscuro como si fueran asiento de irritación formativa. No hemos hallado, empero, esas vegetaciones superficiales descritas en ciertas gruesas dendritas por O. Rossi. El axon de las células cromatolíticas es todavía coloreable por el nitrato de plata reducido y no parece haber sufrido gran cosa de la vecindad de la herida.

En la figura 9, C, mostramos una célula cuyo axon pudo seguirse bien hasta la substancia blanca. Repárese la extraña posición del núcleo que abulta dentro de gruesa dendrita anterior. Nótese también lo frecuente que es en las neuronas motrices la emigración del núcleo hacia adelante. A causa de la hernia nuclear anterior, el conjunto de la célula posee aspecto extraño, como de cántaro ó ánfora (figs. 7 y 9).

*Fenómenos regenerativos simpáticos en las raíces anteriores.*—La vecindad del proceso inflamatorio repercute á menudo en el trayecto intramedular de las radicales motrices. Es singular que esta repercusión se advierta no sólo en radicales próximas, sino en las bastante alejadas de la lesión, y que, de ordinario, sólo uno ó dos axones reaccionen, degenerando en su porción extramedular y entrando en excitación divisoria.

En la figura 11 mostramos algunas de estas radicales excitadas por la vecindad de una herida medular. Repárese, desde luego, que la mayoría de los axones se mantiene incólume, sin otra alteración ostensible que un recio y fusiforme espesamiento emplazado por debajo de la basal medular. Diríase que la turgescencia sobrevenida en la porción intramedular del neuroplasma, no ha podido propagarse hacia el segmento

(1) G. Sala y Cortese: Sui fatti che si svolgono nel midollo spinale in seguito allo strappo delle radici. Pavia, 1909.

(2) O. Rossi: Loc. cit. y Sopra alcune apparenze morfologiche che si reicontrano nelle cellule nervose del midollo, etc. Riv. di pat. nerv. e mentale, tomo XIV, fascículo 8, 1909.



extracentral, por impedirlo la angostura del agujero de la basal, por donde los axones se filtran. A veces, sin embargo, este espesamiento afecta menor dimensión y reside por fuera de la basal.

En cuanto á las radicales sobreexcitadas y en vías de regeneración, es preciso distinguir dos especies: las que conservan la porción extramedular del axon y las que lo han perdido enteramente.

Las fibras radicales de la primera categoría limitanse á emitir durante su tránsito por el cordón anterior ó en la vecindad de la basal tal cual colateral á menudo recurrente y penetrante en la sustancia gris. A este género pertenecen, sobre todo, ciertas robustas fibras recurrentes y ramificadas (fig. 7, F) halladas á veces en los labios de la cicatriz. En ocasiones, tales ramas, desorientadas y á merced de los obstáculos mecánicos, dirigen en sentido ascendente ó descendente.

Las fibras radicales de la segunda categoría son más numerosas que las precedentes y á primera vista se distinguen de las normales

por su mayor espesor y avidez de la plata coloidal. Estos conductores caminan hacia adelante en la primera parte de su trayecto, en unión con las radicales normales, y llegadas que son á la región superficial del cordón anterior, resuélvense en una arborización terminal intracordonal, en la cual abundan las ramas recurrentes y las orientadas en sentido tan-

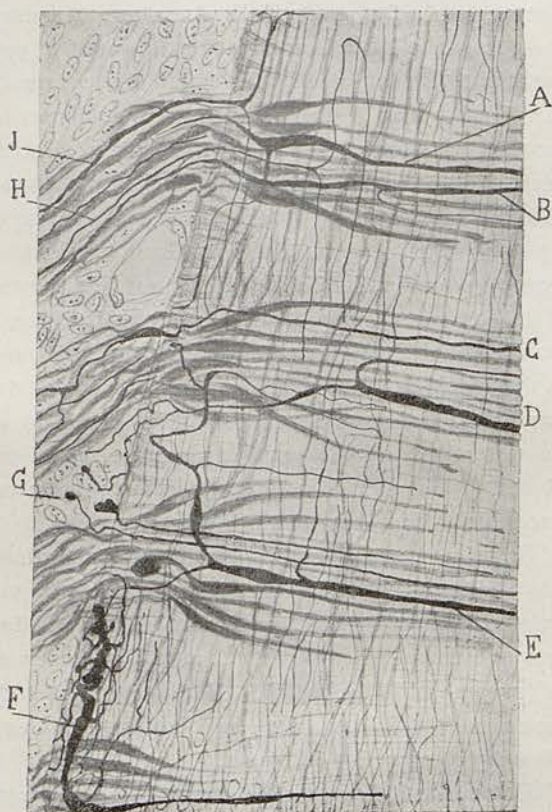


Fig. 11. — Fenómenos de regeneración en raíces anteriores vecinas á heridas medulares. Perro de pocos días. — A, B, C, D, E, fibras en vías de regeneración; F, fibra apelotonada bajo la pia; G, fibras extraviadas en el tejido conectivo; H, fibras llegadas del exterior.



gencial. Curioso es notar que la mayoría de tales ramas se dirige al azar, aprovechando los intersticios hallados en su camino. No pocas de ellas chocan contra la basal y se tornan recurrentes, después de emitir algunas ramas (fig. 11, E).

En general, el obstáculo de la basal, cuando no es rápidamente franqueado, suscita ramificaciones y apelotonamientos axónicos, según mostramos en la figura 11, F. En fin, algunas ramas más afortunadas logran perforar la basal é invaden la raíz anterior correspondiente, donde, en ocasiones, se ramifican (C). Ocurre á veces que no es la continuación del axon, sino una ó dos colaterales del mismo lo que logra emerger del cordón anterior, cayendo en plena raíz, ó errando también en el seno del tejido conectivo perimedular (G). En estos preparados, por lo demás, no se presentan esos interesantes ovillos y apelotonamientos de colaterales y ramas terminales, que G. Sala y Cortese han observado en el curso intramedular de las raíces motrices arrancadas.

De la presente observación hay que recoger, sobre todo, dos enseñanzas. Desde luego, el hecho de que sin daño traumático de la raíces, y á distancia de una lesión pequeña y aséptica de la médula espinal, ciertos axones motores degeneran hasta cerca de su origen y se aprestan á la restauración de la porción perdida; y, en segundo lugar, la singular desorientación del axon y sus ramas, mientras crecen por el espesor medular y no han cruzado la basal.

El primer hecho podría explicarse suponiendo que la resistencia de los axones á los desórdenes inflamatorios es variable; al lado de fibras vigorosas y resistentes, existirían acaso otras, fatigadas y débiles, á quienes el menor estímulo perturbador haría caer en degeneración. Opinión algo semejante ha emitido Nageotte, para explicarse por qué ciertas neuronas sensitivas de los individuos normales son asiento de lo que él llama *regeneración colateral*.

En cuanto al fenómeno de la desorientación y premiosidad con que las radicales alcanzan la raíz, ello sería motivado por estas tres causas: dificultad en salvar los pequeños agujeros de la basal; escasez en la raíz, que se encuentra en estado casi enteramente normal, de fermentos ó de catalizadores de nutrición y orientación (nótese que en ella hay pocas cintas de Büngner); y, en fin, difusión laboriosa y tarda de tales substancias á través de la citada membrana perimedular, en donde no habría más brechas accesibles que los angostos espacios por donde emigran las radicales.



## CONSIDERACIONES GENERALES Y CONCLUSIÓN

De todos los hechos que llevamos referidos, despréndese una vez más la consecuencia, clásica hoy en la ciencia neurológica, de la irregenerabilidad esencial de los centros nerviosos, ya que la mayoría de los fenómenos regenerativos que muchos autores (y nosotros mismos) han comunicado, son actos fugaces, procesos restauradores abortados, incapaces de conducir á la restauración completa y definitiva de las vías interrumpidas.

Esta ley atañe, sobre todo, á la sustancia blanca, y, en general, á las vías largas. En cuanto á las vías breves intragris, es decir, á las establecidas mediante la arborización de colaterales nerviosas, de ramificaciones terminales de axones ó de prolongaciones dendríticas, el postulado de la irregenerabilidad sería, según se desprende de nuestros trabajos, menos riguroso; dado que parece posible, en determinadas y muy favorables circunstancias, el crecimiento de colaterales y dendritas á través de cicatrices neuróglícas y su enlace con los focos inmediatos de que antes dependían. Ann estos modestos actos regenerativos recaen, al parecer, de modo exclusivo ó casi exclusivo, en la médula espinal. En el cerebro y cerebelo de los animales tramautizados no hemos hallado hasta ahora, y sólo en casos raros, más que conatos de regeneración rápidamente frustrados.

¿A qué causas obedece la suspensión y aborto de los actos regenerativos de la sustancia blanca, y, por tanto, la incapacidad de los axones para restaurar las vías interrumpidas?

Sobre tan árduo problema no han faltado tentativas de explicación. En ellas se refleja el concepto especial formado por cada autor acerca del mecanismo de la regeneración de los nervios.

Así Bethe (y con él varios autoregeneracionistas ó poligenistas, para quienes la célula de Schwann goza de la propiedad de producir neurofibrillas y segmentos axónicos, con independencia del soma neuronal), es naturalmente de parecer que la ausencia de regeneración de las vías centrales deriva lógicamente de la falta de corpúsculos de Schwann. Prescindiendo del aserto, refutado por numerosas observaciones, de la incapacidad de retoñamiento del axon central, hay algo de verdad en este dictamen. Aunque los citados corpúsculos de Schwann carezcan de la virtud neurogenética que les atribuye Bethe, parecen necesarios para la nutrición y orientación de los tubos nerviosos periféricos neoformados. Mas esta hipótesis, con encerrar parte de la verdad, no comprende toda la verdad. Recordemos que las fibras de los centros ner-



viosos, singularmente de la médula espinal, retoñan más ó menos una vez lesionados, y en circunstancias especiales referidas por nosotros, producen arborizaciones extensísimas, susceptibles de abandonar la médula y de crecer á lo largo de las raíces y en el seno del tejido conectivo embrionario. No se puede negar, pues, á los axones centrales la virtud de retoñar, y lo que hay que explicar es por qué, una vez iniciado el movimiento reconstructivo, las nuevas fibras agotan sus energías y suspenden su crecimiento.

Stroebe (1), que nunca dudó de la capacidad retoñadora de los axones centrales, atribuye el fracaso de la regeneración á la tendencia de dichas fibras á diluirse en multitud de colaterales en el interior de la cicatriz. Dispersa de este modo la actividad del crecimiento, ningún axon posee energía suficiente para superar los obstáculos mecánicos y restablecer las vías interrumpidas. Análoga opinión expuso Marinesco (2) en sus primeros estudios acerca de la regeneración de la médula espinal.

El hecho es cierto, pero Stroebe lo exagera mucho. Por de pronto, la inmensa mayoría de las fibras de la sustancia blanca no se ramifica ni poco ni mucho, y de los axones divididos en los labios de las heridas, el mayor número exhibe solamente dos, tres ó cuatro ramillas terminales, poco largas, salvo casos excepcionales que dejamos apuntados. Además, recordemos que los tubos periféricos emiten incomparablemente mayor número de ramas, y aunque muchas de ellas se extravíen, algunas crecen lo bastante para alcanzar los aparatos nerviosos terminales, sin que en ningún momento quede agotada la energía de nutrición y ramificación de los axones.

O. Rossi (3), que ha publicado excelentes observaciones sobre la regeneración de las vías ópticas y médula espinal, formula una hipótesis muy ingeniosa. A juicio de este sabio, la reacción neuronal impulsora del proceso regenerador hállase en razón directa de la masa protoplásmica separada, es decir, de la cuantía de su mutilación axónica. Una raíz sensitiva ó motriz seccionadas cerca de la médula, dan muestras de gran poder regenerador, porque se les ha arrebatado gran parte de su masa, ya que el pedazo de axon separado es cuantitativamente superior

(1) *H. Stroebe*: Experimentelle Untersuchungen über die Degeneration und reparatorischen Vorgänge bei der Heilung von Verletzungen der Rückenmarks, etc. *Ziegler's Beiträge*. Bd. XV, H. 7, 1894.

(2) *Marinesco*: Recherches sur la régénérescence de la moelle. *Nouvelle Iconographie de la Salpêtrière*, núm. 5, 1906.

— *Ibid*: *Marinesco et Minea*: Note sur la dégénérescence de la moelle chez l'homme. *Compt. rend. de la Société de Biologie*, tomo XL, pág. 1.027, 1906.

(3) *Rossi*: Processi rigenerativi e digenerativi conseguenti a feriti asettiche del sistema nervoso centrale. *Riv. di pat. ner. e ment.*, anno XIII, fasc. 11, 1908.



al cuerpo celular mismo; al contrario, una célula piramidal del cerebro ó funicular de la médula espinal cuyos axones son seccionados en este último centro, sólo pierden mínima parte de su masa y, por tanto, la reacción regenerativa falta ó es insignificante.

Esta hipótesis posee la ventaja de explicar bastante bien las diferencias incontestables de la capacidad regenerativa mostrada por los axones centrales y periféricos, y por las distintas especies de fibras nerviosas constitutivas de la sustancia blanca medular. Por ejemplo: esas fibras del cordón posterior, generadoras de extensa arborización cicatricial, pertenecerían á neuronas de ganglios próximos, al paso que las poco ramificadas ó apáticas tendrían su centro trófico á gran distancia.

Por desgracia, á la precedente hipótesis pueden hacerse objeciones de fuerza, y el mismo O. Rossi se ha hecho cargo de algunas que no consigue refutar satisfactoriamente. Citemos ciertos hechos contrarios ó difícilmente explicables dentro de la citada teoría. *a)* Cuando en vez de seccionar el ciático cerca de la pelvis córtanse en la corva los dos nervios ciático-poplíteos (conejo, gato, etc.), la regeneración nerviosa se desarrolla con la misma ó mayor actividad. *b)* La sección de las raíces posteriores (porción interna ó medular) en el ganglio mismo no va seguida de mayor actividad regenerativa que cuando la interrupción se efectúa cerca de la médula. Lo mismo ocurre con la sección próxima ó alejada de las raíces anteriores. *c)* En los casos de lesión central en que evidentemente la separación del axon se ha efectuado cerca de la neurona de origen (células piramidales, células de Purkinje, etc.), lejos de producirse fenómenos regenerativos exagerados, obsérvase la formación de una bola de retracción acaso transformable quizás con el tiempo en botón de crecimiento (según H. Rossi ha demostrado en el cerebelo humano), pero en todo caso lentas y premiosas en retoñar. *d)* La sección del nervio óptico, cerca de la papila, separa necesariamente una masa protoplásmica superior á la que resta en la retina y, sin embargo, la regeneración es escasa y se frustra rápidamente, según han probado los experimentos de Tello y del mismo O. Rossi.

Cuando se medita acerca de la escasa capacidad regenerativa de los axones arrancados, de los pertenecientes á células motrices fronterizas de una herida medular, de los cilindros-ejes de Purkinje mutilados cerca del soma, de los axones de las pirámides del cerebro cortadas en plena sustancia gris, etc., dan ganas de invertir la hipótesis de O. Rossi, atribuyendo la escasa regenerabilidad de las fibras centrales al estado de postración y atonía patológica en que cae toda neurona á quien se le quita cantidad considerable de protoplasma. Esta conjetura tendría la ventaja de armonizar, mejor que la de Rossi, con los estudios y conclu-



siones ya antiguos acerca de las atroñas provocadas en las células motrices por el arrancamiento de sus axones (atrofia de Gudden) ó la sección de los mismos cerca de su emergencia (fenómeno de cromatolisis, etcétera). Pero apresurémonos á declarar que semejante explicación suscita también graves objeciones.

Por su parte, Dustin (1) apunta otra solución al problema que nos ocupa. Influido este sabio por las aventuradísimas especulaciones teóricas de Held acerca de los caminos preestablecidos en la neurogenesis, atribuye el fracaso de la regeneración de las vías centrales á la ausencia de *odogenesis*, es decir, á la falta de una trama conectiva embrionaria, semejante á la de las cicatrices internerviosas, con tubos é intersticios capaces de orientar á las fibras jóvenes. Influirían también, según Dustin, la presencia en las heridas centrales de cicatrices densas y exuberantes, y el hecho de que en los axones de la médula espinal la facultad del crecimiento es más limitada que en las periféricas.

Esta última proposición, objetivamente exacta, parece una petición de principio. La resolución, aunque hipotética, del problema, ha de consistir precisamente, no en anunciar el hecho harto conocido de la debilidad regenerativa de las vías centrales, sino en explicar de alguna manera esta debilidad, subordinándola en lo posible á condiciones físico químicas.

Por lo demás, en trabajos anteriores (2) creemos haber refutado la hipótesis neurogenética de Held, probando que en ningún caso marchan las fibras nerviosas centrales del embrión por el interior de otros elementos ni por un sistema fijo de huecos interorgánicos; estimamos, por tanto, impropcedente hacer de dicha hipótesis apelación alguna para el esclarecimiento de la regeneración patológica.

Recientemente Marinesco, en un interesante trabajo citado más atrás (3), avanza una explicación que recuerda algo la de Dustin y un poco la nuestra. Después de comprobar que en las fibras centrales se desarrollan retoños preexistentes capaces de cruzar largas distancias, declara: «Si estas fibras neoformadas no restauran las antiguas conexiones, la causa no es intrínseca, sino que depende seguramente de la ausencia de un conductor adaptado al crecimiento de aquéllas». Es de-

(1) *Dustin*: Le rôle des tropismes et de l'odogenèse dans la Régénération du système nerveux. *Archives de Biologie publiées par M. E. v. Beneden et Ch. van Bambeke*, tomo XXV, 1910.

(2) *Cajal*: Nouvelles observations sur l'évolution des neuroblastes avec quelques remarques sur l'hypothèse neurogénétique de Hensen-Held. *Anat. Anzeiger*. Bd. XXXII, n° 1-2, 1908.

(3) *Marinesco*: Nouvelles contributions à l'étude de la régénérescence des fibres du système nerveux central. *Jour. fur. Psychol. u. Neurol.* Bd. XVII, 1910.



cir, que falta el guía, la acción neurotrófica orientadora, capaz de empujar los retoños nerviosos hacia sus puntos de conexión terminal.

Por nuestra parte, hace ya algunos años que, con ocasión de ensayos experimentales sobre la degeneración y regeneración de la médula espinal (1), formulamos una hipótesis que, no obstante fundarse sobre postulados diferentes que la proclamada por los poligenistas, tiene con ella bastante afinidad.

«En suma — decíamos —; incompletas y todo estas experiencias, parecen probar: 1.º, que los axones de las raíces posteriores (porción interna) y sustancia blanca medular son susceptibles de regeneración, mostrando botones de crecimiento y arborizaciones y ramas neoformadas; 2.º, que la creación del quiste intramedular y acaso también la falta de células capaces de segregar sustancias quimiotácticas vectoras del éxodo de los nuevos axones (ú otras condiciones ahora indeterminables) hacen fracasar el proceso restaurador, atrofiándose los brotes nerviosos y manteniéndose en definitiva solamente las porciones de los conductores que establecen conexiones interneuronales».

El aspecto de la cuestión ha cambiado hoy algo, á consecuencia de nuestros últimos trabajos. Ciertas condiciones mecánicas de la irregenerabilidad, tales como la presencia de quistes y el espesor de las cicatrices conectivas, han perdido importancia desde que se sabe, según dejamos demostrado más atrás, que la sustancia blanca en vías de retoñamiento es incapaz de traspasar cicatrices neuróglícas sumamente delgadas y exentas de formaciones quísticas. En cambio, la condición supuesta en nuestra hipótesis de falta de sustancias orientadoras, crece en valor á causa del hecho referido (2) de que en ciertas circunstancias, singularmente cuando en torno de la herida ó en su interior acumúlase masas conectivas embrionarias, las fibras de la sustancia blanca crecen á veces notablemente, generando extensas arborizaciones extracentrales. Por lo contrario, cuando no se produce un medio anormal, digámoslo así, revolucionario, á las fibras centrales; cuando las cicatrices son pequeñas y de naturaleza neuróglíca, la actividad regenerativa de las fibras nerviosas es nula ó revela escasa energía. Adaptada á un medio especial, en que la neuroglía constituye un factor importante, la fibra nerviosa necesita para reaccionar del choque de un nuevo ambiente, aportador de estímulos capaces de despertar energías adormecidas.

Este despertador parece constituido por el tejido conectivo embriona-

(1) *S. R. Cajal*: Notas preventivas sobre la degeneración y regeneración de las vías nerviosas centrales *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo IV, 1905-1906.

(2) *S. R. Cajal*: Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, 1910.



rio; acaso influyen también el exudado inflamatorio y las sustancias liberadas por desintegración celular. Por lo que toca al tejido conectivo embrionario, diríase que deja en libertad algún material nutritivo, cierto fermento especial susceptible de activar los procesos asimilativos del axon central. Con más eficacia obrarían aún sobre estos axones las diastasas liberadas por las bandas de Büngner de los tubos posteriores; gracias á su influencia, los axones cordonales llegan, según dejamos demostrado, á penetrar en las raíces anteriores y crecen durante largas distancias.

De tales premisas lógico parece deducir que la ausencia del estímulo trófico y orientador ejercidos por la célula de Schwann rejuvenecida y del corpúsculo embrionario mesodérmico, constituye la condición principal de la irregenerabilidad de las vías centrales. Sus axones poseen, en principio, aptitud restauradora ligada á la constitución misma del protoplasma nervioso. Toda neurobiona es capaz de proliferar, de generar neurofibrillas, de colaborar en la formación de anillos y botones de crecimiento, pero para ello necesita una alimentación especial que sólo los elementos mesodérmicos pudieran suministrarle. En ausencia de estímulos apropiados y suficientes, las fibras de la sustancia blanca sólo aciertan á forjar ramas aberrantes y extraviadas, retoños que se paralizan y marchitan rápidamente. Aun estos retoños suelen exigir, como condición de su formación, la presencia de factores mesodérmicos. Convertido el tejido conectivo embrionario en cicatriz fibrosa, cesa la liberación de estimulantes y caen en atrofia y degeneración las fibras neoformadas.

Resulta de lo expuesto que las fibras centrales son irregenerables, no *per se*, sino *per accidens*, es decir, por ausencia en el ambiente que las rodea de aquellas sustancias que, durante la época embrionaria, sirvieron de alimento y de guía á los conos de crecimiento.

Con lo cual no pretendemos negar en absoluto la existencia en los centros nerviosos adultos de sustancias neurotrópicas específicas. Al contrario, estamos persuadidos de que, en el estado normal, las neuronas dejan en libertad algún principio específico y trófico capaz de atraer y aun de robustecer, según los casos, las arborizaciones nerviosas perisomáticas ó peridendríticas.

La admisión de esta hipótesis nos parece indispensable, si de alguna manera hemos de comprender el ajuste permanente y la progresiva complicación adaptativa (hábitos motores, costumbres, talento profesional, etc.) de las articulaciones neuronales (1), durante el desarrollo ultra-

(1) Un caso típico de la progresión y ajuste por ejercicio funcional entre las fibras terminales y las células, preséntase en las neuronas motrices de la médula. Estudios recientes acerca de la constitución del nido pericelular revelan que los pies de Held-Auerbach y sus fibrillas secundarias no se han desarrollado todavía



fetal. Pero estos estímulos, capaces de difundirse por la trama neuróglia, poseen débil radio de acción y sólo actúan dentro de la sustancia gris entre neuronas y arborizaciones nerviosas, á condición de estar próximas ó de obrar al través de cicatrices neuróglia delgadas. Así se explica la relativa regenerabilidad observada por nosotros en la sustancia gris de la médula espinal. Toda recia cicatriz conectiva embrionaria representa causa de perturbación, y por tanto, de extravío; á mayor abundamiento, la trama conectiva llegada á la fase adulta, así como los quistes y tumores, constituirán pantallas infranqueables para tan débiles corrientes neurotrópicas.

La enorme distancia á que yacen las células asociadas y la ausencia de intersticios libres son, sin duda, también condiciones del fracaso restaurador de la sustancia blanca. Pero estas condiciones obran muy secundariamente. El hecho esencial es la pobreza regenerativa inicial de los axones. Tan cortos y escasos son los retoños que, aunque encontrarán ante sí todo un sistema de conductos orientadores vacíos, como los imaginados por Hensen y Held, no sabrían aprovecharlos. Les faltaría el *vis à tergo*, la superior potencia asimilativa característica de los tubos periféricos, el alimento, en fin, de la asimilación de los retoños.

Para que la restauración de las vías nerviosas fuera efectiva, sería preciso que en el adulto se reprodujeran las condiciones mismas de la evolución ontogénica, esto es: el rejuvenecimiento ó el retroceso á la fase neuroblástica de las neuronas mutiladas, y además la abreviación de las distancias entre los focos interneuronales, reduciéndose las vías adultas, enormemente largas, á los cortos espacios que separaban las células durante las primeras fases evolutivas, proximidad que tanto facilitó la acción neurotrópica recíproca. Todo esto implicaría la reversibilidad del proceso evolutivo, el salto atrás de la organización de los centros, un absurdo, en fin.

Y nada más, por ahora, que fuera inocencia grande pretender ir más lejos en la solución de un problema henchido de dificultades y pobrísimo de datos. Preciso es reconocer que, con relación á la neurogénesis y á la regeneración nerviosa, hallámonos aún en la fase de recolección de mate-

en los perros y gatos recién nacidos. En los animales de quince días aparecen ya modelados algunos finos y sencillos botones terminales, bajo la forma de anillos neurofibrilares, y sólo desde los veinte ó veinticinco días en adelante, cuando los reflejos complicados del animal (acción de andar, correr, saltar, etc.) comienzan á efectuarse, se organizan muchos de dichos pies, todavía pequeños. Sólo en el adulto, empero, preséntase la célula motriz rodeada de infinidad de botones terminales y de ramillas secundarias acabadas en anillos. Parecidos progresos, aunque sin la aparición de pies terminales, reconócen en los nidos de las células de Purkinje y en los plexos que rodean las grandes pirámides cerebrales.



riales empíricos. A causa de lo cual, nuestras hipótesis son prematuras, sin pretensión á la perfección ni á la perennidad. Son concepciones orientadoras, conjeturas de tanteo, para excitar y entretener la acción investigadora. En tal sentido, solamente profesamos y aceptamos la teoría neurotrópica. Es la bandera bajo la cual laboramos. La seguiremos mientras conduzca al descubrimiento de hechos nuevos, mientras satisfaga nuestra tendencia á reducir, bajo un mismo principio, fenómenos diferentes; la abandonaremos en cuanto otra concepción explique mejor los hechos de la regeneración y degeneración nerviosa, y dé más sabroso alimento á este espíritu de unificación y esquematización que parece ser indeclinable consecuencia de nuestra organización cerebral.

**Conclusiones.**—Aun cuando las precedentes observaciones son harto incompletas y exigen, en muchos puntos, comprobaciones y ampliaciones experimentales, de ellas pueden sacarse como probables, si no como definitivas, las siguientes conclusiones:

1.<sup>a</sup> En las heridas del cerebro, desprovistas de quiste, cicatrizadas mediante neuroglia y examinadas tardíamente (después de diez ó doce días de la operación), los tubos medulados no cruzan la cicatriz ni restablecen las vías nerviosas interrumpidas, por lo menos durante las tres ó cuatro semanas consecutivas á la operación.

2.<sup>a</sup> En iguales condiciones las fibras ameduladas son asimismo incapaces de regeneración, apareciendo sin bolas, seccionadas y retraídas en los confines de la herida.

3.<sup>a</sup> Las fibras perforantes, es decir, las que unen los bordes de la herida, son escasísimas, no ramificadas, y dudosas como expresión de fenómenos regenerativos.

4.<sup>a</sup> Igual apatía regenerativa revelan las fibras ameduladas durante los tres días consecutivos á la operación. Sólo en algún caso muestran bolas de retracción y rarísima vez divisiones.

En cambio, los tubos provistos de vaina medular y singularmente las pirámides gigantes (gato y perro de quince días á dos meses), son esquisitamente sensibles á los traumatismos, ofreciendo desde el primer día signos evidentes de degeneración y regeneración.

5.<sup>a</sup> Entre los signos degenerativos precoces de los tubos medulados cuéntase, en el cabo periférico, el arrosariamiento del axon y su progresiva fragmentación en bolas; y en el cabo central la formación de varicosidades, su reducción á bolas sueltas y, finalmente, la producción á bastante distancia de la herida de una maza ó bola final (*bola de retracción*).

6.<sup>a</sup> Entre los signos evidentemente regenerativos del axon central medulado, importa consignar los siguientes: aparición de apéndices ramifi-



cados en las bolas iniciales de retracción; producción de ramas en las varicosidades de trayecto; y, en fin, la creación de ramajes y ovillos en el espesor de segmentos pálidos y acaso necrosados del cilindro-eje.

7.<sup>a</sup> Estos retoños radican en la porción traumáticamente degenerada del axon central y representan quizás fenómenos agónicos, fugaces, de los cuales, á los diez días, no suelen quedar reliquias, ya que las porciones arrosariadas de dicho cilindro-eje se transformarán en bolas sueltas. Ignoramos si la última bola de retracción, es decir, la formada después de la destrucción de toda la porción degenerada del axon central, es susceptible de retoñamiento.

8.<sup>a</sup> Es probable que la extensión del axon central medulado comprometida en la degeneración traumática, así como la importancia de los procesos de degeneración y regeneración de esta expansión, guarden relación con la violencia del traumatismo (contusión de la herida, amplitud de la misma, coágulos hemorrágicos, etc.) y la energía del proceso inflamatorio; pues cuando la herida es pequeña, exiguo el exudado y escasa la porción necrosada, dichos procesos aparecen muy limitados.

9.<sup>a</sup> Los tallos protoplásmicos y demás dendritas son incapaces de regeneración; pero se conservan muchos días mutilados, sin ofrecer apenas alteraciones. Apréciase á lo más, en el cabo dendrítico central, cierta palidez y deshilachamiento, y en el cabo periférico, una disposición en punta muy característica (*punta de corrosión*).

10. Cuando la inflamación es poco enérgica, las dendritas y tallos radiales de las pirámides separados de su célula de origen mantiénnense incólumes una á dos semanas después del traumatismo.

11. El mismo fenómeno de conservación é indiferencia degenerativa y regenerativa se observa en las dendritas y neuronas aisladas de los secuestros nerviosos.

12. Las heridas completas de la médula espinal, con extensa cicatriz intercalar de tejido conectivo, promueven extensa alteración degenerativa de la substancia blanca, así como actos muy enérgicos de retoñamiento axónico.

13. Durante las semanas segunda, tercera y cuarta, consecutivas á la operación, los retoños nerviosos de la substancia blanca desaparecen progresivamente, abandonando definitivamente la cicatriz conjuntiva, donde se conservan exclusivamente las ramas de origen radicular.

14. Cuando las heridas medulares son pequeñas, incompletas y van rápidamente seguidas de cicatrización neuróglia, los fenómenos regenerativos de los axones medulados y amedulados se desarrollan parcamente y pueden faltar por completo, apareciendo solamente bolas de retrac-



ción (porciones centrales) y disposiciones varicosas (cabos periféricos).

15. Hay motivos para sospechar que dicha apatía regenerativa se debe, más que á la falta de suficiente excitación traumática, á la ausencia de influjos neurotrópicos mesodérmicos.

16. En las heridas seguidas de cicatrización rápida neurógica, la substancia gris revela, en cambio, fenómenos evidentes de neoformación. Estos recaen en las dendritas y en las fibras nerviosas. Las fibras perforantes neoformadas (fibras nerviosas finas y gruesas) escasas seis días después del traumatismo, se multiplican notablemente á los veinte días de la operación.

17. Esta reorganización parcial de la substancia gris, en la que colaboran principalmente ramas nerviosas colaterales, pudiera ser suficiente á restaurar, en breve radio, las conexiones interneuronales interrumpidas.

18. Sin sufrir traumatismo alguno, y por tanto, sin interrupción protoplásmica, existen axones radiculares motores que, no obstante su relativo alejamiento de la lesión medular, degeneran simpáticamente, mostrando fenómenos regenerativos intramedulares.

19. En fin, hasta hoy, y exceptuando los fenómenos regenerativos de la substancia gris espinal, que parecen causar estado, todos los actos de retoñamiento axónico descritos por los autores en las vías nerviosas centrales, representan reacciones neoformativas provisionarias y destinadas á desaparecer. La causa principal de este aborto regenerativo parece ser la ausencia de fuentes nutritivas específicas (agentes catalíticos, diastasa de asimilación, etc.), susceptibles de entretener y vigorizar el crecimiento del axon y de señalar su camino al través de la substancia blanca de los centros nerviosos.

---



## Las plaquetas de la sangre impregnada dentro de los vasos por el proceder del nitrato de plata reducido

POR

S. R. CAJAL

---

Con diversas fórmulas del método de nitrato de plata reducido, consiguense á veces cortes de vasos sanguíneos, en los cuales cabe discernir, más ó menos claramente, las plaquetas, que se presentan con aspecto granuloso y más ó menos obscuro. Pero hay una fórmula que da constantemente buenos resultados: la *fórmula V* (1), á base de fijación en piridina diluída.

Consiste este proceder en fijar las piezas en piridina disuelta en agua al 50 por 100, lavarlas durante seis horas en agua corriente, indurarlas en alcohol por veinticuatro horas y sumergirlas, en fin, en solución de nitrato de plata al 1'50 por 100. Las piezas, que permanecerán en estufa á 39° durante cuatro días, son reducidas, como de ordinario, en el ácido pirogalico-formólico.

Esta fórmula es excelente para teñir las fibras nerviosas regeneradas de nervios y centros. Entre otras ventajas posee la de no sobreteñir las porciones superficiales de las piezas. En cuanto á las células nerviosas y axones viejos, esto es, los no regenerados, suelen presentarse demasiado pálidos y menos fácilmente analizables que cuando se usa el fijador alcohólico amoniacal ó el hidrato de cloral. En fin, sobre todo, la referida *fórmula V* posee la propiedad de impregnar en moreno ó negro, dentro de los vasos, las plaquetas de la sangre coagulada, que, gracias á tal propiedad, pueden estudiarse con toda comodidad.

Como mostramos en la fig. 1, *a*, las plaquetas adquieren un tono obscuro y un aspecto francamente granuloso. Unas aparecen de frente y otras de perfil, y su tamaño varía entre 2 y 5 micras. En su mayoría, estos corpúsculos yacen separados; pero no es raro encontrarlos reunidos

(1) *Cajal*: Las fórmulas del proceder del nitrato de plata reducido, *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo VIII, fasc. 1 y 2, 1910.



en montones y, á veces, en zoglas considerables. En ningún caso (nos referimos á piezas rápidamente fijadas) se presentan conglutinadas y confundidas entre sí, como en la sangre extravasada. Esta particularidad denota que, después de la muerte, las pláculas de la sangre se alteran poco dentro de los vasos.

En las arterias y venas voluminosas encuéntrase á menudo enormes conglomerados placulares, verdaderos trombus blancos comparables á

los supuestos en la trombosis por ciertos anatomo-patólogos; pero por próximos que estén entre sí sus elementos constitutivos, jamás se funden enteramente.

En fin, cuando á causa de una fijación tardía las pláculas han tenido tiempo de alterarse, la masa granulosa que las forma se dilata y disgrega más ó menos.

Damos esta breve noticia sobre la capacidad que posee el método del nitrato de plata para teñir las plaquetas, porque con él la anatomía patológica del trombus puede, á nuestro juicio, ser fructuosamente estudiada.

Precisamente carecemos actualmente de proceder específico de teñido de las plaquetas de la sangre coagulada dentro de los vasos; de ahí la incertidumbre reinante sobre el modo de origen de los

trombus blancos y estratificados (trombus de los aneurismas del ateroma de la endocarditis, etc.). Por este proceder pueden reconocerse las plaquetas alteradas de trombos y hemorragias, relativamente antiguas. Así, en una hemorragia producida por herida cerebral, y que databa de cinco días, cabía sorprender todavía dichos corpúsculos intensamente teñidos y en distintas fases de disgregación. Veíanse en el coágulo plaquetas casi normales, otras mostrábanse muy granulosas y rodeadas de una corona de esférulas, y, en fin, las había reducidas á un magma de granitos oscuros y de muy diversas dimensiones.

El proceder mencionado colorea también las granulaciones de los leucocitos y el nucleolo de los mismos (fig. 1, b, c). Nuestros estudios sobre este punto son todavía muy superficiales y no autorizan ninguna conclusión segura. Nos ha parecido, sin embargo, que las granulaciones protoplásmicas, particularmente impregnables por la plata coloidal, corresponden á las llamadas *esferas neutrófilas* de los leucocitos volumi-

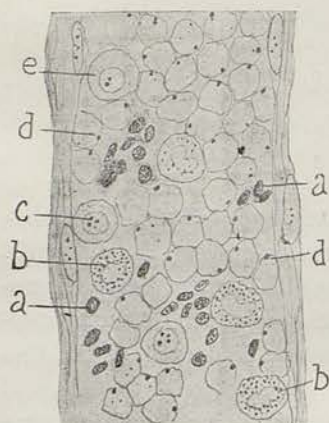


Fig. 1.—Vaso sanguíneo impregnado en nitrato de plata reducido. — a, plaquetas; b, leucocitos de granulaciones neutrófilas; c, leucocito mononucleado; d, hematie.



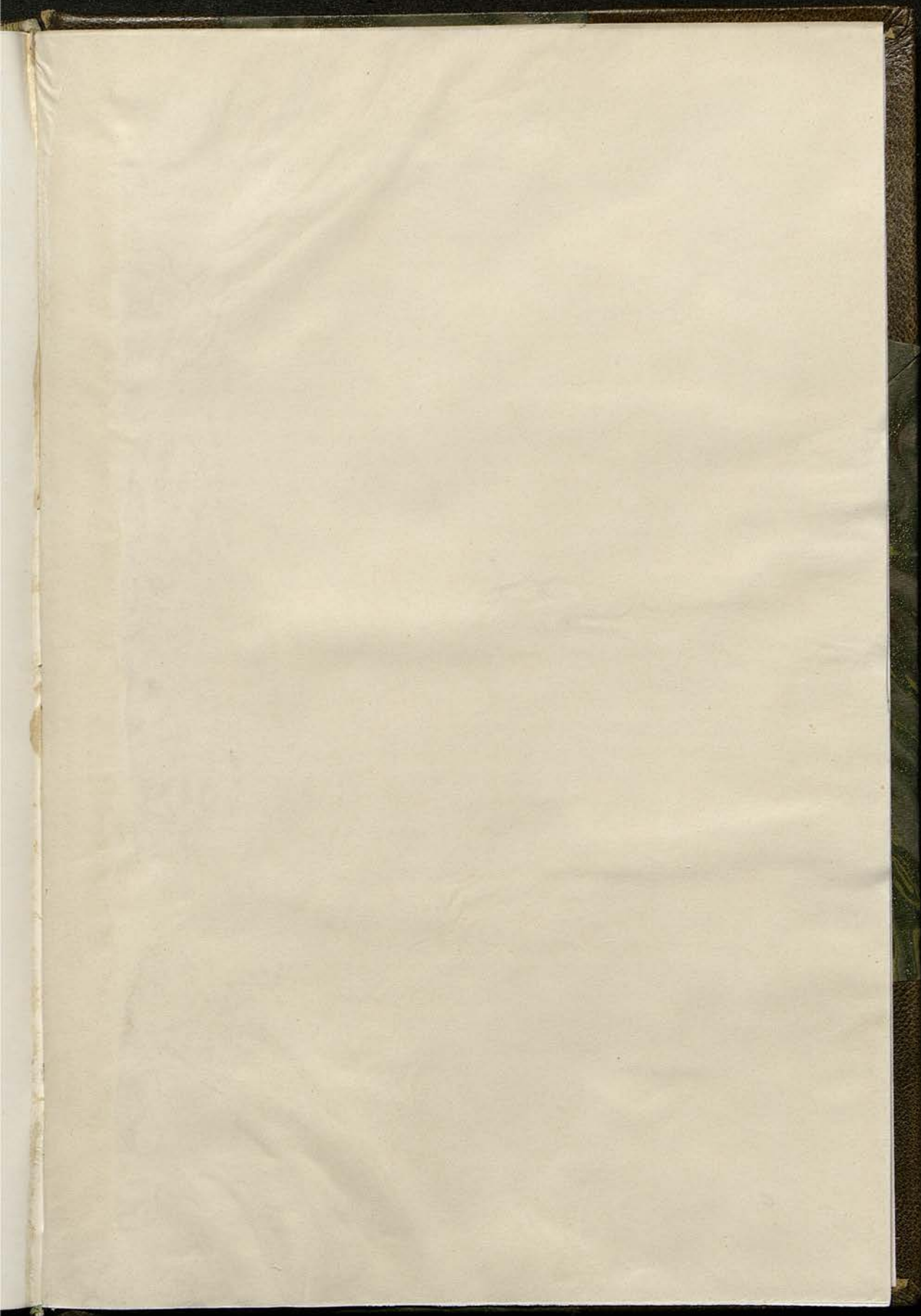
nosos. En cambio, ciertos otros leucocitos, es decir, los glóbulos blancos mononucleados, dejan ver en su núcleo dos á cuatro granos gruesos que corresponden verosimilmente á nucleolos.

También en los hematíes se observan gránulos, sobre todo, uno marginal más ó menos alargado y situado bajo la membrana (fig. 1, *d*). Hay preparados en que casi todos los hematíes exhiben este grano periférico, á veces doble y semejante á un diplosoma. Lo malo es que, en ocasiones, en vez de uno aparecen dos y más esférulas de este género. Esta circunstancia nos impone naturalmente la mayor reserva acerca de la significación de tales gránulos, que tanto podían representar precipitados argénticos sobre alguna substancia (sales de cal?) intraglobular, como reliquias de esos diplosomas que diversos autores, y singularmente Heidenhain, han señalado en los hematíes nucleados del embrión.

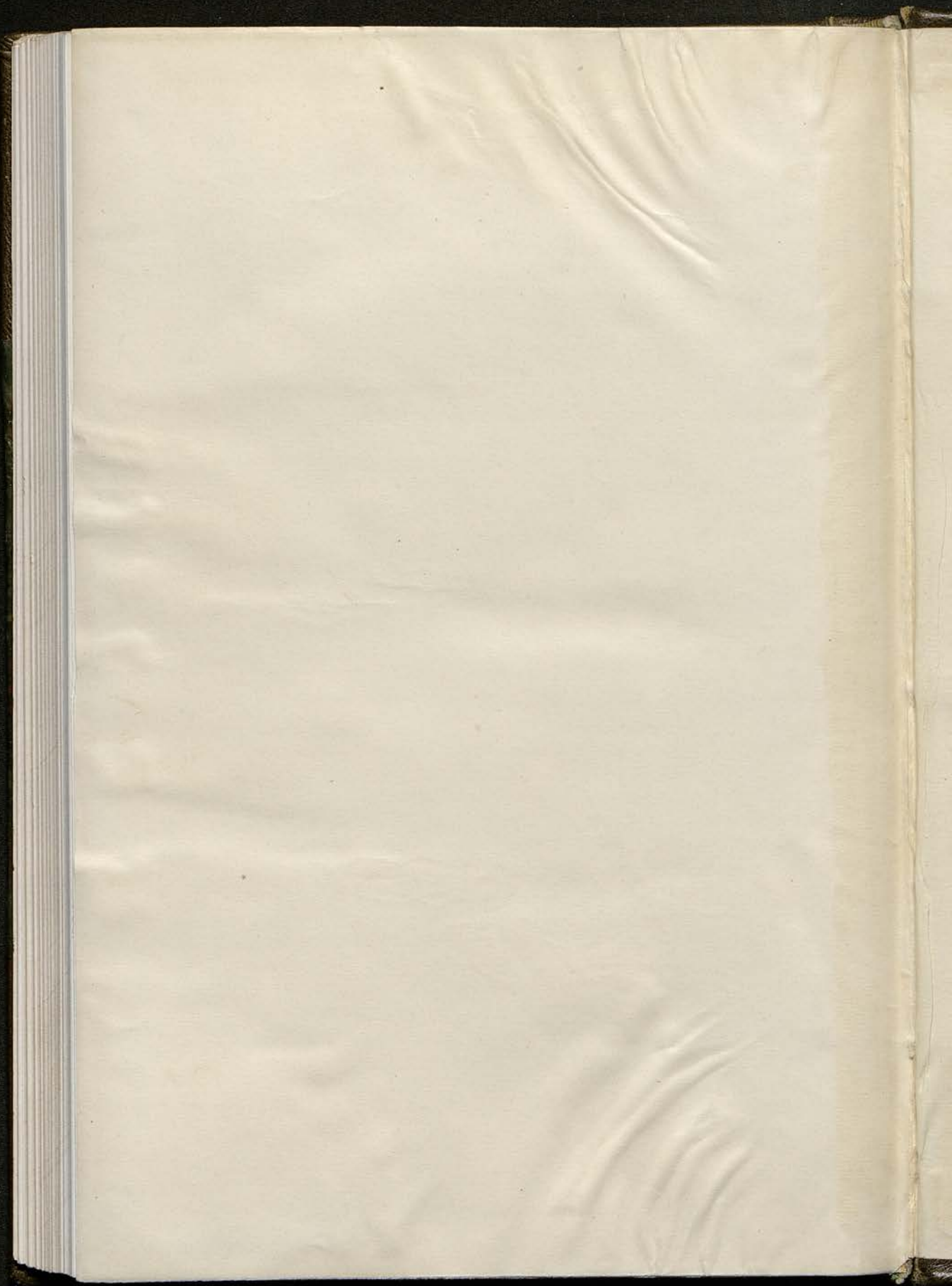


The first of these is the fact that the United States is a young nation. It has only been about 150 years since it was founded. This is a very short time in the history of the world. The second fact is that the United States is a large nation. It covers a vast area of land. The third fact is that the United States is a powerful nation. It has a large population and a strong economy. The fourth fact is that the United States is a free nation. It has a long history of freedom and democracy. The fifth fact is that the United States is a peaceful nation. It has never been at war with another country. The sixth fact is that the United States is a progressive nation. It is always moving forward and improving itself. The seventh fact is that the United States is a nation of opportunity. It offers a chance for a better life to anyone who wants it. The eighth fact is that the United States is a nation of hope. It believes in a bright future for itself and for the world.

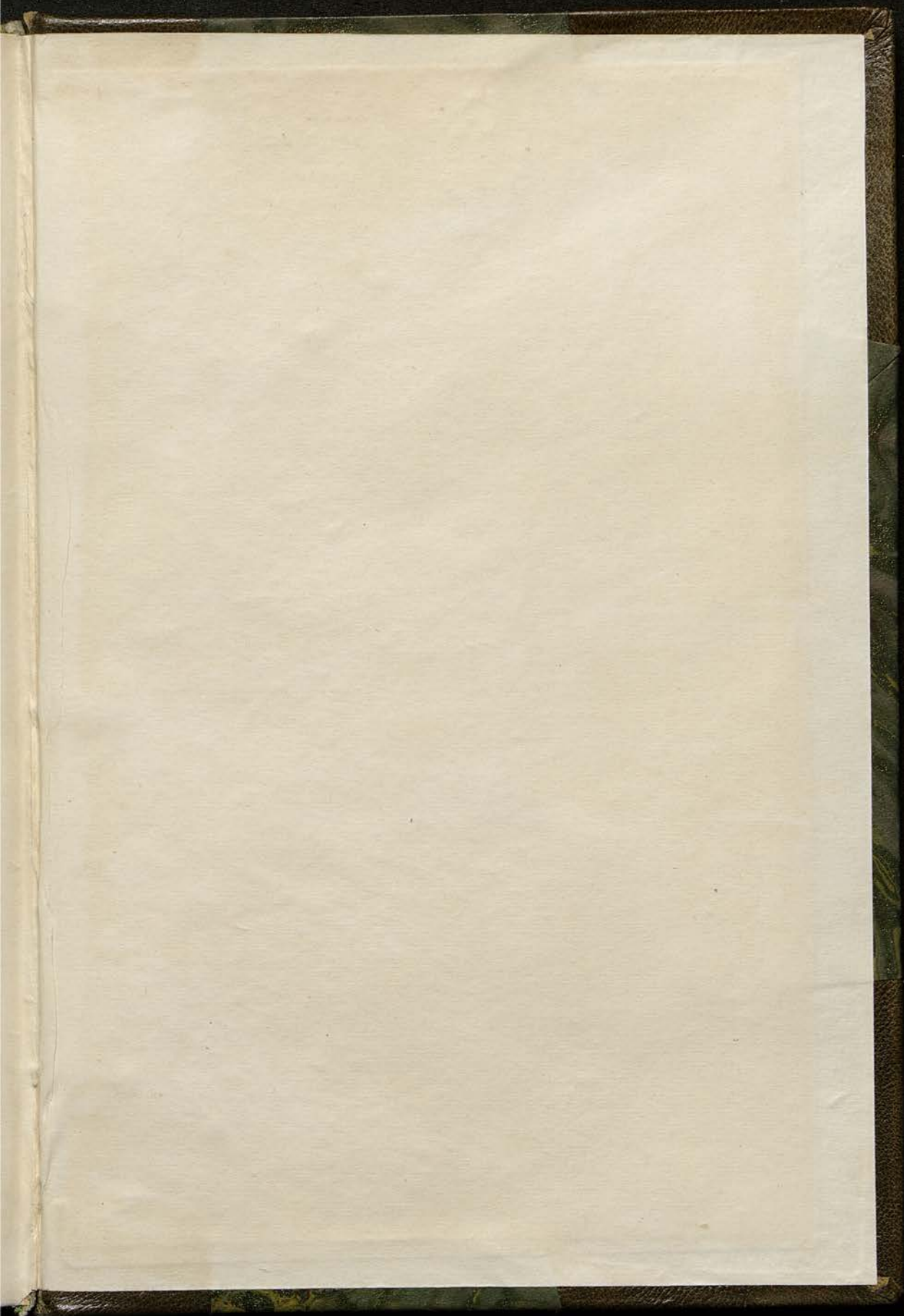




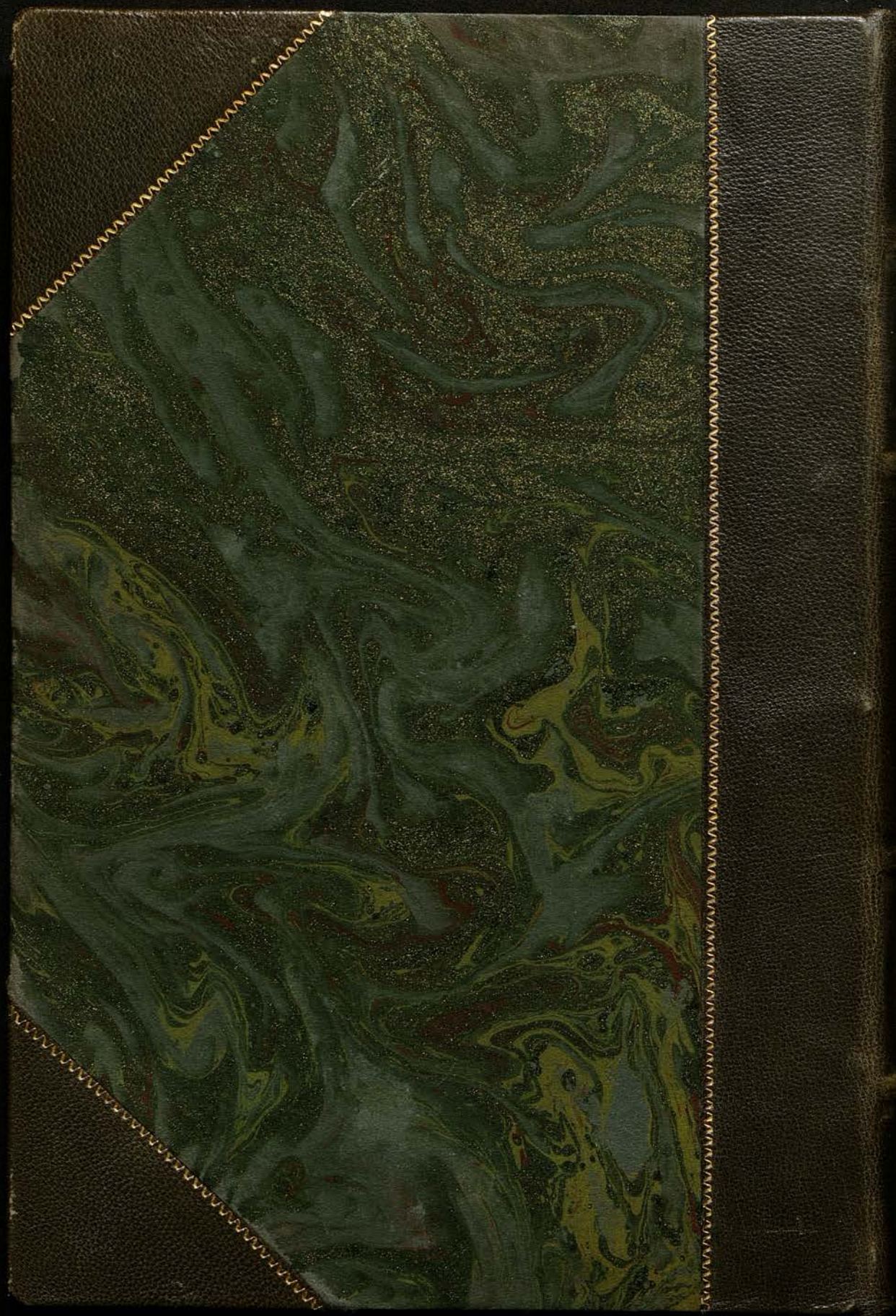














S. R. CAJAL

—  
TRABAJO

DEL

LABORATORIO

VOLUMEN VII

1910