

FACULTADES DE MEDICINA DE: ZARAGOZA,
SALAMANCA, NAVARRA, VALENCIA, SEVILLA y LA LAGUNA
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS



ANALES DE ANATOMIA

Volumen XXI

Agosto 1972

Núm. 53

SUMARIO

Trabajos originales:

	<u>Págs.</u>
EL ESQUELETO CONECTIVO DE LA VESÍCULA BILIAR, por <i>A. Alvarez-Morujo, G. Palomero Domínguez y F. Cuadrado Idoyaga</i> . . .	209
ACCIÓN DE LA CORTISONA EN LOS PROCESOS DEGENERATIVOS Y REGENERATIVOS DEL NERVIIO PERIFÉRICO, por <i>J. Boya</i>	219
LA FORMACIÓN RETICULAR DE LA BASE CEREBRAL (RELACIONABLE CON EL MECANISMO DE EXCITO-CONDUCCIÓN Y REPOLARIZACIÓN CARDIACA), por <i>J. Escolar, J. L. Escolar-Castellón, L. Martínez-Millán, J. Valdizán, A. Lobo y J. L. Lancho</i>	233
APORTACIÓN A LAS RELACIONES RECÍPROCAS ENTRE LAS TRANSFORMACIONES DEL ALLOCORTEX, HIPOTÁLAMO Y ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES PRODUCIDAS POR TRASTORNOS METABÓLICOS EXPERIMENTALES (CON ESPECIAL REFERENCIA A LAS VARIACIONES DEL CONTENIDO EN METALES PESADOS DE ESTAS ÁREAS), por <i>A. Faci</i>	245
APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DE LA ULTRAESTRUCTURA DEL ALLOCORTEX AMMÓNICO, por <i>E. Ferres-Torres</i>	283

(*Sigue a la vuelta*)

	<u>Págs.</u>
LA ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL PÁNCREAS DE LA RATA A NIVELES ULTRAESTRUCTURALES, por <i>R. Ferres-Torres</i>	295
CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES Y SIGNIFICACIÓN DE LAS VESÍCULAS SINÁPTICAS ADRENÉRGICAS DE LA CORTEZA SUPRARRENAL DEL CAVIA COBAYA, por <i>F. García-Alvarez</i>	301
RECONSTRUCCIÓN ESTEREOMÉTRICA DE UN ENCÉFALO DE GATO RECIÉN NACIDO (ALGUNAS APORTACIONES SOBRE LA FORMACIÓN RETICULAR), por <i>J. L. Lancho</i>	311
SOBRE LA ACCIÓN DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA EN EL SUBSTRATO GENITAL FEMENINO EN DIVERSAS ETAPAS DEL DESARROLLO POSTNATAL (REFERENCIA ENTRE LAS TRANSFORMACIONES VASCULARES Y EL GRADO DE MADURACIÓN PREVIO), por <i>E. Losada Menés</i>	323
ACCIÓN DE LA GLUCOSA SOBRE LOS ISLOTES DE LANGERHANS EN EL SAPO BUFO ARENARUM HENSEL, por <i>I. von Lawzewitsch</i>	353
POSIBILIDADES DE LA TÉCNICA DE TIMM PARA METALES PESADOS, EN EL ANÁLISIS DE LAS TRANSFORMACIONES DEL SUBSTRATO NEUROENDOCRINO, por <i>R. Sarrat</i>	367
TRANSFORMACIONES GONADALES PRODUCIDAS POR DIETAS CARENCIALES E INDUCCIÓN HORMONAL CORIOGONADOTRÓFICA (HCG), por <i>R. Sarrat y J. Gómez-Perún</i>	377
<i>Noticias</i>	385
<i>Notas bibliográficas</i>	386

ANALES DE ANATOMÍA

CONSEJO DE REDACCIÓN:

P. Amat (Salamanca). — J. Astruc (Richmond, U. S. A.).
 A. Dabelow (Mainz). — R. Diepen (Frankfurt). — J. Escobar (Zaragoza). — L. M. Gonzalo-Sanz (Pamplona). —
 J. Jiménez-Castellanos (Sevilla). — L. Jiménez-González (Zaragoza). — F. Reinoso (Madrid). — S. Rodríguez García (Zaragoza). — J. Sandoval (Córdoba). — R. Sarrat (Bilbao). — J. Smith-Agreda (Tenerife). —
 V. Smith-Agreda (Valencia). — J. Soler (Granada).
 D. Starck (Frankfurt). — E. Tonutti (Bonn). — M. Watzka (Mainz).

DIRECTOR:

J. Escolar.

SECRETARIO DE REDACCIÓN:

E. M.^a Martín-Muñoz.

DIRECCIÓN, REDACCIÓN Y ADMINISTRACIÓN:

Cátedra de Anatomía (A). Departamento Anatómico.
 Facultad de Medicina. - Plaza Paraíso, 1. - Zaragoza.

ANALES DE ANATOMIA

Suplemento de "Archivos de la Facultad de Medicina de Zaragoza"

FACULTADES DE MEDICINA DE: ZARAGOZA,
SALAMANCA, NAVARRA, VALENCIA, SEVILLA y LA LAGUNA
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

ANNALES DE ANATOMIA

Volumen XXI

Agosto 1972

Núm. 53



Depósito legal Z. 15-1960

Imprenta "Heraldo de Aragón". - Calvo Sotelo, 9. - Zaragoza - 4-VII-1972 Ref. 1032

COLABORADORES EN ESTE NÚMERO

ALVAREZ MORUJO, A.	<i>Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.</i>
BOYA, J.	<i>Prof. Ayudante. Cátedra de Histología. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.</i>
CUADRADO, F.	<i>Prof. Ayudante. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.</i>
ESCOLAR, J.	<i>Numerario de Anatomía. Director del Departamento Anatómico en Coordinación con el C.S.I.C. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
ESCOLAR-CASTELLÓN, J. L.	<i>Colaborador Científico C.S.I.C. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
FACI, A.	<i>Doctorando. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
FERRES TORRES, E.	<i>Prof. Adjunto. Cátedra de Anatomía "A". Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.</i>
FERRES TORRES, R.	<i>Prof. Agregado. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna (Santa Cruz de Tenerife).</i>
GARCÍA-ALVAREZ, F.	<i>Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
GÓMEZ-PERUN, J.	<i>Doctorando. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
LANCHO ALONSO, J. L.	<i>Prof. Ayudante. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.</i>
LOBO, A.	<i>Prof. Ayudante. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
LOSADA, E.	<i>Doctorando. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>
LAWZEWITSCH, I.	<i>Prof. Ayudante. Cátedra de Histología. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires (Argentina).</i>
PALOMERO, G.	<i>Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.</i>
SARRAT, R.	<i>Numerario de Anatomía. Director del Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Bilbao.</i>
VALPÍZAN, J. R.	<i>Doctorando. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.</i>

EL ESQUELETO CONECTIVO DE LA VESÍCULA BILIAR*

POR

A. ALVAREZ-MORUJO, G. PALOMERO DOMÍNGUEZ y F. CUADRADO IDOYAGA

LA existencia del conectivo de la vesícula biliar fue señalada por LUSCHKA (1863), y sobre la base dada por este autor se hicieron las descripciones posteriores de este tejido. Más tarde, ASCHOFF (1905) y ASCHOFF y BACMEISTER (1909) han señalado con más precisión la existencia de haces conectivos en la llamada capa fibromuscular de la vesícula. AGATA (1909, 1910) ha dado mayor extensión al contenido de conectivo en la vesícula, al considerar que además de los haces de este tejido que existen en la capa fibromuscular también los hay en la capa submucosa y formando setos entre los vasos.

SUDLER (1900) también había precisado la presencia de haces conectivos separando los distintos haces musculares y POLICARD (1909) ha reafirmado los datos de los autores antes citados. También han sido similares las aportaciones reseñadas por SHIKINAMI (1905) y por JURISCH (1909) tratando sobre tema del conectivo en la vesícula biliar.

JEANNIN (1927 a, b) ha manifestado que en la vesícula biliar existe gran cantidad de tejido elástico entre los haces musculares, y que mezclado con este tejido hay gran cantidad de elementos conectivos. Homólogos conceptos ha empleado LUNTKENS (1926) al decir que existen entre los tabiques de separación de las fibras musculares haces de tejido elástico mezclados con haces de tejido conectivo.

HALPERT (1927) cita la presencia del conectivo alrededor de los vasos, como elemento asociado a ellos, que a la par de servir de separación entre tales vasos, actúan como elementos de sujeción de ellos. También este autor ha considerado que debajo de la capa muscular hay un tejido conectivo muy denso que rodea por completo la vesícula. PFUHL (1932) y más tarde MAXIMOW (1947) se han hecho eco de estos conceptos de HALPERT, añadiendo ambos autores que el

* Departamento Anatómico de la Facultad de Medicina de Salamanca. Director: Prof. P. Amat.

tejido conectivo de la vesícula puede continuarse con el conectivo hepático.

Estas disposiciones descritas del tejido conectivo en la vesícula por los distintos autores ha sido obtenida en cortes histológicos, en los cuales dicho tejido es señalado de un modo secundario y con no mucha riqueza de detalles. En este caso, como en otros que hemos estudiado tal tejido en diversos órganos (ALVAREZ MORUJO, 1970 a, b y 1971 a, b) por medio de la corrosión, su abundancia es mucho mayor que la que se describe, y asimismo se encuentran variedades y disposiciones especiales de unos lugares a otros, como vamos también ahora a describir en la vesícula humana.

Material y métodos

Diversas vesículas humanas, obtenidas ya de piezas de autopsias o de intervenciones quirúrgicas, se han sometido a la corrosión específica para el conectivo mediante la solución de carbonato de sosa y padutina en una proporción del 0'3 % durante un espacio de tres meses.

Una vez efectuada la corrosión, se han cortado las piezas con un espesor variable que oscila entre 20 y 200 micras. La lectura de las piezas se ha realizado por medio de epicondensador sobre fondo oscuro.

Hallazgos

En la visión panorámica (fig. 1) de un corte del conectivo de la vesícula, se aprecia que existen diversas incidencias. Podemos encontrar capas de este tejido, en las cuales aparecen o no zonas acribilladas por orificios, que pueden ser vasculares o puntos muertos de este tejido; o bien conectivo dispuesto en láminas que bordean y limitan grandes cavidades; o haces gruesos y haces finos, los cuales pueden seguir un trayecto regular o también ofrecer entre sus mallas gran cantidad de orificios; o bien láminas y haces que llevan un trayecto uniforme mientras que otras veces tienen un aspecto ondulado. Todas estas variaciones se pueden observar en casi todos los territorios que se miren, predominando según los distintos campos, dispositivos de una y otra clase de los ya enumerados.

Cuando existen estos orificios, ya sean vasculares o no (fig. 2), convierten al conectivo en una especie de retículo, que aparece como tal en las zonas donde hay poca cantidad de haces o estos haces están disociados, pero en aquellos puntos donde el tejido está más condensado para formar una lámina, ésta ofrece el aspecto de un panal. Hay orificios que están rodeados por varias vueltas de haces de tejido conectivo, de los cuales sólo un haz se apoya en el molde de tal orificio.

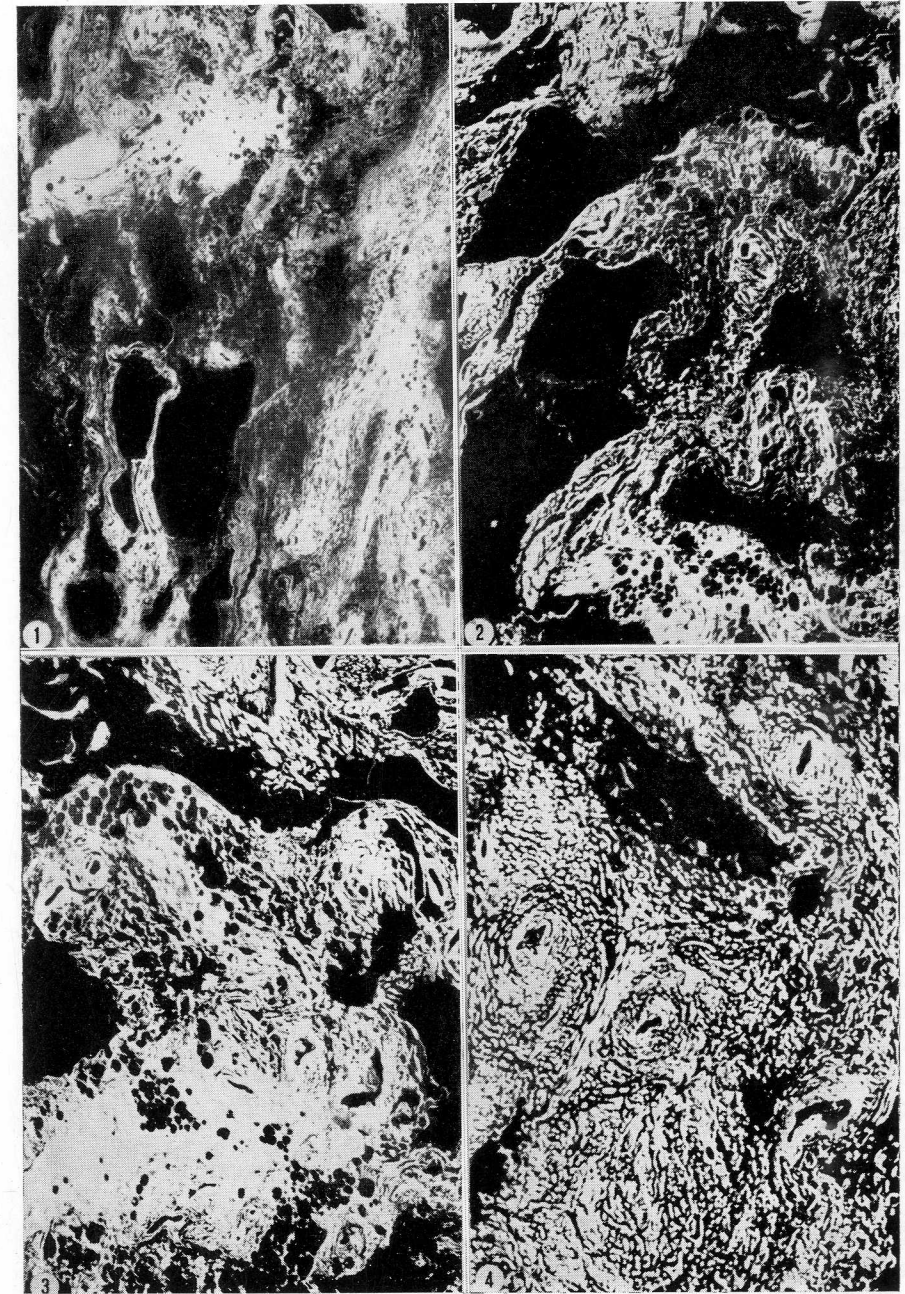


FIG. 1. — Panorámica del conectivo de la vesícula biliar.

FIG. 2. — Agujeros vasculares y no vasculares entre fascículos y láminas.

FIG. 3. — Zona cribosa del conectivo biliar.

FIG. 4. — Segmentos de conectivo en forma helicoidal con un vaso central.

En esta preparación (fig. 2) puede observarse que hay fascículos variables, lo mismo en su forma y tamaño que en su dirección, pues a la par que hay cortes longitudinales los hay transversales.

Las zonas cribosas (fig. 3) se dan indiferentemente allí donde el conectivo está dissociado o en el espesor de las partes condensadas. Tal disposición es muy singular de la vesícula biliar y lo mismo en aquellos puntos donde este tejido está desflecado como cuando se presenta muy apiñado tales orificios pueden conjugarse, dando lugar a cavidades mayores.

Los orificios vasculares se distinguen en estas zonas cribosas de los que no lo son, porque tienen un molde de conectivo propio, que si en algunas ocasiones contacta con el conectivo general, en otras queda limitado a uno o dos los puntos por donde se unen.

Además de estos pequeños orificios, también existen grandes oquedades no ocupadas por conectivo, los cuales no corresponden al paso de ningún elemento extraño, sino que son consecuencia de la especial arquitectura de la vesícula que da lugar a estas cavidades vacías y profundas.

En los cortes finos del conectivo de esta glándula (fig. 4) se puede ver que dicho tejido se presenta como un tamizado, formado por pequeños copos o corpúsculos, que si bien en alguna zona está hilvanado con sus vecinos, en otros, dentro de una ruta uniforme, está colocado como si fuera una línea de puntos, lo mismo los haces longitudinales que los trasversales. Tales líneas punteadas, aparentemente están dispuestas a modo de circunferencias concéntricas sobre el orificio central, que generalmente es vascular, pero fijándose bien se aprecia que tales puntos tienen una dirección helicoidal, los cuales están dissociados en la periferia y muy concentrados en las cercanías del orificio sobre el que confluyen.

También se observa que en su conjunto tales líneas están distribuidas en forma de nódulos o segmentos, separadas del vecino por un seto de conectivo colocado en línea recta o bien por espacios vacíos de este tejido.

Existen otras ocasiones donde el orificio que hace de centro a esta disposición concéntrica del conectivo no es un hueco vascular, sino una cavidad vacía, pero la formación circunferencial es semejante al que se ve cuando el orificio es un vaso (fig. 5).

Como contraste se ven en esta microfotografía diversos vasos trombosados (la pieza procede de una colecistitis crónica) donde sólo existen a su alrededor residuos de capas concéntricas de conectivo.

En cortes gruesos (fig. 6) se observa que, como en los casos anteriores, el conectivo está dispuesto alrededor del orificio central en forma de láminas o cordones en el mismo sentido helicoidal, y asimismo que existen gruesas bandas que hacen de límite entre estas

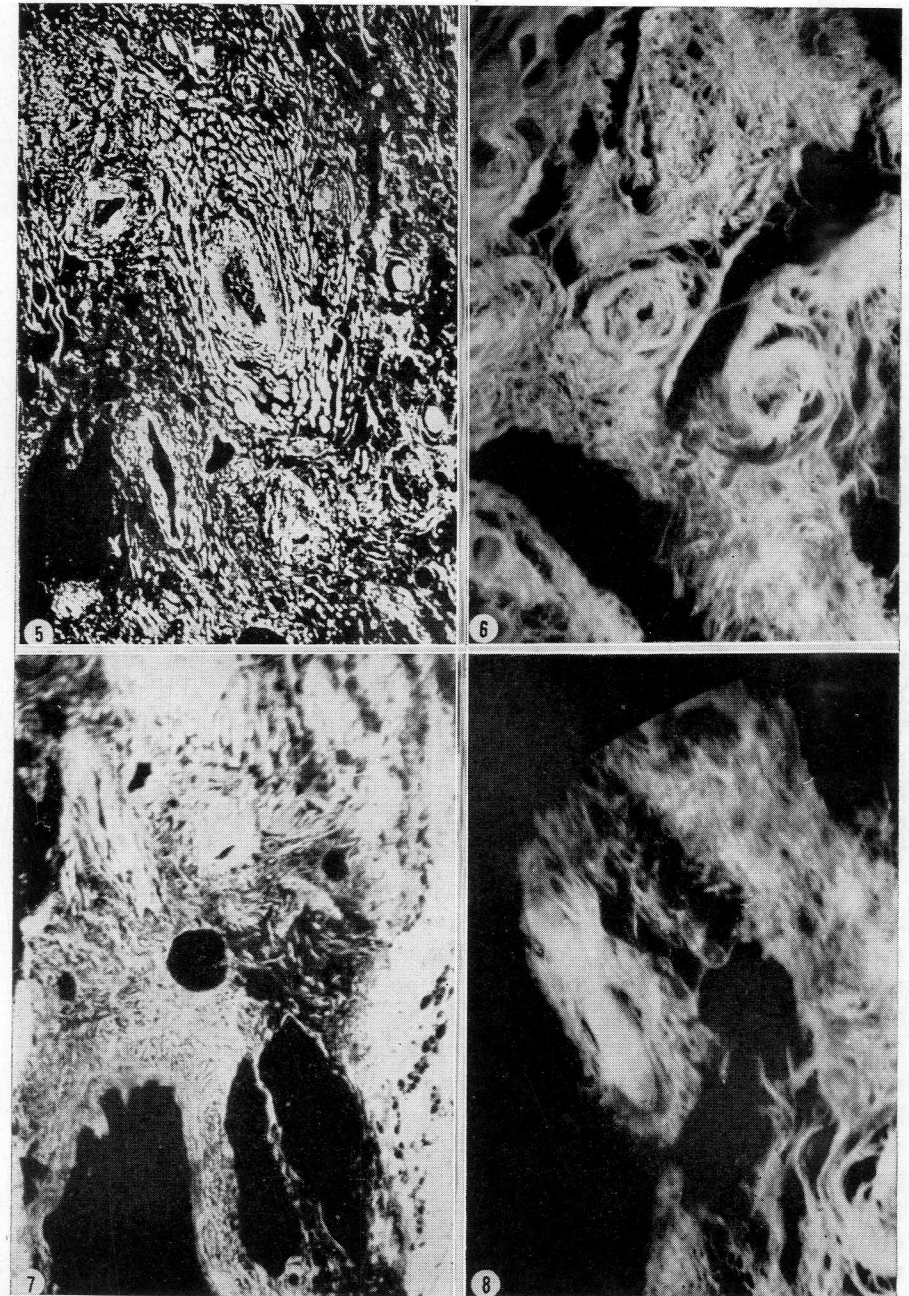


FIG. 5. — Formación espiral del conectivo biliar con un hueco central no vascular.

FIG. 6. — Formación laminar espiral en cortes más gruesos.

FIG. 7. — Vaso rodeado de conectivo en forma radiante.

FIG. 8. — Vaso rodeado de conectivo con haces paralelos a él.

formaciones espiroideas. En la preparación de la figura 6 puede verse que si bien sólo hay dos formaciones de este tipo, también hay ciertas láminas de conectivo colocados en su cercanía que tienen sus haces una disposición ondulante, como si tal tejido se hubiera desenvuelto de una gran formación en espiral. Junto a éstos hay láminas planas que forman modelos distintos de estas disposiciones helicoidales.

Pueden existir otros orificios vasculares con conectivo envolvente no dispuesto de la manera que hemos reseñado en los casos anteriores, sino que el vaso recibe por toda la circunferencia gran cantidad de haces en forma irradiada que proceden de la lámina donde está empotrado (fig. 7). Estos orificios pueden ser más o menos grandes, pero siempre se ve en ellos el mismo formato.

Las secciones longitudinales de una arteria permiten ver la envoltura conectiva que le envaina (fig. 8), que está constituida por haces que siguen una dirección paralela al vaso y le forman un lecho o nido que lo protege.

Comentario

En la literatura existe un criterio común de que el conectivo de la vesícula forma setos que separan y envuelven a los diferentes haces musculares y lo mismo sucede con los vasos. Tal conectivo a veces está mezclado con tejido elástico. También se ha señalado que estos haces tienen a veces cierta individualidad y forman, al estar condensados, una especie de capa en la submucosa y en la subserosa, que en la zona de contacto con el hígado esta última puede progresar hasta él asociándose con el conectivo hepático.

Sin embargo, el campo de extensión del conectivo es mucho más amplio y con morfología diversa según los distintos territorios. De esta especial morfología, quizá lo más singular que hemos encontrado por nuestra parte en el esqueleto conectivo de la vesícula biliar han sido, fundamentalmente, las zonas cribosas, los fascículos helicoidales formando segmentos independientes y esos vacíos limitados por conectivo que dan lugar a cavidades. Se nos escapa el significado de la zona cribosa, es decir, de esa zona en la que numerosísimos orificios perforan las láminas o el retículo del conectivo. Estos orificios podrían ser identificados con los llamados senos de Rokitansky-Aschoff, que atraviesan el corion y la capa muscular, y que en muchos casos son la expresión de alteraciones patológicas. Sin embargo, los senos de Rokitansky-Aschoff no han sido señalados con tanta abundancia numérica como los orificios de la cribosa. Dichos orificios podrían ser la expresión de los conductos de Luschka, o sea, de los conductos filiares aberrantes que nunca desembocan en la luz de la vesícula. Pero también en este caso hay que tomar con precaución

tal idea, por cuanto que los agujeros tienen tendencia a unirse, dando lugar a cavidades mayores, hecho que no sucede en los de Luschka y que también su número no está tan repetido ni repartido de una manera uniforme por toda la vesícula.

Las láminas espiroideas o en cortes más finos las líneas helicoidales, tienen la ventaja que nos dan así colocadas una idea estructural de esta parte del conectivo, la cual consiste en que los haces se forman de la suma de pequeños fascículos aparentemente independiente. Mas también resulta contradictorio que si en algún punto de la vesícula aparecen tales formaciones de una manera constante, en otros lugares, sin embargo, no hay formaciones del conectivo que se le asemejen. Por otra parte, en estos dispositivos hay dos importantes contradicciones. Una, que el orificio central puede ser de un vaso, y por otra parte, que no es genérica su presencia, sino por zonas. Esto hace suponer que tal conectivo así dispuesto puede servir de aparato de contracción de la vesícula y, a su vez, de los vasos a quien rodea.

También en lo referente a las relaciones entre el vaso y conectivo existen notables diferencias. Por un lado ya hemos citado el vaso colocado en posición central en los segmentos donde el conectivo se coloca en sentido espiral, de cuyo contacto con el vaso queda reducido a uno o dos fascículos. En otros casos hemos visto otro vaso donde el conectivo forma al vaso una corona radiante y por último donde el conectivo lleva un sentido paralelo a los vasos, formándole una vaina envolvente.

Por último, quedan los espacios muertos y las grandes cavidades, los cuales tienen por explicación fácil que ellos son la consecuencia de la estructura cavitaria que la glándula tiene.

Resumen

El esqueleto conectivo de la vesícula biliar es variable según sus diferentes zonas. Dominan como formaciones especiales en este conectivo:

1. Las zonas cribosas.
2. Las láminas espirales.
3. Las cavidades rodeadas de conectivo. La zona cribosa tiene orificios vasculares y no vasculares.

Las láminas espirales se colocan alrededor de un vaso. Las relaciones entre los vasos y el conectivo es variable. En unos casos forman el centro de las láminas espirales; en otros forma una corona alrededor del vaso. También el conectivo puede formar una vaina a los vasos con haces paralelos a él.

Summary

The connective tissue of the gall bladder is variable according to the different places.

The more special connective formations in the gall bladder can be:
The cribiform zone.
The spiral plates.

The larger cavities surrounded by connective tissue.
The cribiform zones, vessels and no vessel orificies, they have.
The spiral plates, has been located around of a vessel.

The relations between the vessels and the connective tissue formations are different according the places.

In some point, the vessel form the center of the spiral plates.

In other the connective tissue, form as a radiant crown, around of the vessel.

Also the connective tissue can formed a sheath to the vessels with parallels fibers to him.

Zusammenfassung

Das Bindegewebe der Galle erscheint als sieb und spirale Lamellen. Die letzteren sammeln sich um die Gefäße.

Resumé

Le squelette conjonctif de la vésicule biliaire se trouve en forme de lames criblées et de lames en spirales. Ces dernières se situent autour des vaisseaux.

BIBLIOGRAFÍA

- AGATA, G. d. (1909): Sulla fellea e sul ductus choledochus di alcuni mammiferi. «Inter. Mschr. Anat. und Physiol.», **26**: 1-18.
- AGATA, G. d. (1910): Di una fina particolarita di struttura epitheliali cistifellea. «Bull. Socie. med. Chi. Pavia», **24**: 531-534.
- ALVAREZ-MORUJO, A. (1970 a): Sobre el esqueleto conectivo del bazo. «An. Anat.», **19**: 27-39.
- (1970 b): El esqueleto conectivo de la amígdala. «Acta Oto-Rino-Lar. Española», **4**: 1-14.
- (1971 a): El esqueleto conectivo del hígado. «An. Anat.», **20**: 5-18.
- (1971 b): El esqueleto conectivo del riñón. «Arch. Esp. Urol.», **24**: 68-82.
- ASCHOFF, L. (1905): Bermenkungen zur pathologischen Anatomie der cholelithiasis und cholecystitis. «Verh. Deuch. path. Gess.», **9**: 41-48.
- ASCHOFF, L., und A. BACMEISTER (1909): Die Chollelithiasis. Jena.
- HALPERT, B. (1927): Morphological studies on the gall bladder. «The true Luschka ducts and Rokitansky-Aschoff sinusses» of the human gall bladder. «Bull. Johns Hopkins Hosp.», **41**: 77-103.
- JEANNIN, J. (1927 a): La disposition du tissu élastique dans la vésicule biliaire à l'état normal et dans quelques cas pathologiques. «Bul. Hist. appli.», **4**: 231-236.

- JEANNIN, J. (1927 b): Contribution a l'étude de la disposition du tissu élastique dans la vesicule biliaire de l'homme. «Cont. ren. Soc. Biol.», **97**: 91-92.
- JURISCH, A. (1909): Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Histologie der Gallenblase. «Anat. H.», **39**: 395-467.
- LUSCHKA, H. (1863): Anatomie des menschlichen Bauches (Die Anatomie des Menschen II). Tübingen.
- LUTKENS, U. (1926): Aufbau und Funktion der extrahepatischen Gallenwege. Kapitel 2. «Mikroskopische Untersuchungen, Seit», 70-111. Leipzig.
- MAXIMOW, A., y W. BLOOM (1947): Tratado de Histología. Traducción Española. Labor. Buenos Aires.
- PAUHL, W. (1932): Magen-Leber Gallenwege. Hand Mikros. Ana. des Menschen de V. Möllendorf.
- POLICARD, A. (1909): Sur quelques caracteres histophysiologiques des cellules del épithelium de la vesicule biliaire. «Cont. ren. Soc. Biol.», **167**: 15-16.
- SHIKINAMI, J. (1908): Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Gallenblase. «Anat. H.», **36**: 551-599.
- SUDLER, M. (1900): The architecture of the gall bladder. «Proc. Assoc. Amer. Anat.», **177**: 184.

Prof. Adj. Dr. A. ALVAREZ-MORUJO
Departamento Anatómico
Facultad de Medicina
Salamanca (España)



ACCIÓN DE LA CORTISONA EN LOS PROCESOS DEGENERATIVOS Y REGENERATIVOS DEL NERVIIO PERIFÉRICO*

II. COMPRESIÓN

POR

J. BOYA

La respuesta del tejido nervioso a la acción de los corticoides no está hoy día nada aclarada. Nosotros estudiamos la acción de la cortisona (acetato de cortisona) en la regeneración del nervio ciático de la rata después de su sección completa con el fin de ver las posibilidades de inhibir el tejido cicatricial que se forma entre los dos segmentos del tronco nervioso seccionado, basándonos en los estudios de ASBOE-HANSEN (1950, 1959), LIKAS (1963) sobre la acción inhibidora de la cortisona en la producción de mucopolisacáridos, y GERARBE (1953), HOLDEN (1957) y DAUGHADAY (1962) que describen la inhibición de los fibroblastos en presencia de dicha hormona. Conseguiamos una reducción parcial del tejido cicatricial y una más rápida reinervación del segmento distal. Junto a este resultado vimos un aumento en la cantidad de núcleos y mitosis en los animales tratados, que consideramos pertenecientes a las células de Schwann.

En el presente trabajo pretendemos evitar la participación del tejido conectivo ambiente en la formación de la cicatriz, por lo que realizamos compresión en vez de sección.

Material y métodos

Hemos utilizado ratas albinas de un peso comprendido entre los 40 y 50 gramos. Todos los animales se les operó bajo anestesia etérea y practicamos la lesión aproximadamente en el tercio medio del muslo. Consistió

* Cátedra de Histología de la Facultad de Medicina de Salamanca. Director: Prof. L. Zamorano.

la lesión del nervio en una compresión realizada con una pinza de hemostasia, empleando la misma para todos los animales con el fin de que la lesión fuese igual en todos. Conseguimos de esta manera la destrucción completa de todas las estructuras del nervio, a excepción del epineuro.

Dividimos los animales en dos grupos: un primer lote le dejamos que evolucionara normalmente (controles) y al segundo le administramos 1 mg diario (20-25 mg/Kg/día) de una suspensión de acetato de cortisona.

Los animales fueron sacrificados a los 3, 5, 7, 10, 15, 25, 40, 60 y 90 días después de la operación mediante inhalaciones de éter sulfúrico. Tomamos aproximadamente 2 cm de nervio (1 cm por encima y por debajo de la lesión) y para evitar su retracción durante el período de fijación se le extendió y sujetó a una tablilla por medio de dos ataduras con hilo de seda.

Aplicamos las técnicas de la hematoxilina-eosina, «azan» de Heidenhain, para el estudio de las células de Schwann y vainas conjuntivas; ácido ósmico para las envolturas mielínicas y los procederes del nitrato de plata reducido de Cajal para el estudio de los cilindroejes.

Los nervios fueron incluidos en parafina y cortados en serie a 5 micras, excepto los impregnados con las sales de plata, que se cortaron a 25-30 micras.

El recuento de las mitosis se hizo siempre en los cinco cortes centrales de la serie y obtuvimos después la media aritmética de los valores hallados. Contamos las mitosis en toda la superficie del corte.

Los valores nucleares se tomaron siempre de la zona central de la lesión y utilizamos un ocular con recuadro para la delimitación del campo.

Resultados

3 días

Macroscópicamente podemos localizar la zona de lesión por presentar un aspecto grisáceo, lo mismo que el segmento distal, y un calibre ligeramente aumentado. En los cortes histológicos se observa una zona de intensa destrucción local producida por la compresión. El epineuro permanece conservado, lo que evita la penetración del conjuntivo ambiente.

Prácticamente todo el espesor del tronco nervioso a nivel de la compresión está constituido por dos tipos celulares: unas células presentan un núcleo alargado de cromatina laxa y nucleolo muy patente en algunos casos. Los límites celulares son difíciles de apreciar. Se disponen en pequeños paquetes o fascículos, delgados en estos primeros estadios, y siempre paralelos al eje longitudinal del nervio. Las consideramos como células de Schwann que van a formar bandas de Büngner. Entre estos paquetes de células de Schwann se sitúan los corpúsculos más abundantes y característicos de estos primeros días. Las técnicas de anilinas los muestra con un núcleo pequeño esférico o de forma irregular, muchas veces con escotaduras, rodeados por un citoplasma globuloso, pálido y de aspecto vacuolado, en cuyo interior podemos ver algunas partículas englobadas. Pero se sin duda cuando las estudiamos con las técnicas del ácido ósmico

cuando nos hacemos una idea más clara de estas células. Aparecen con un citoplasma grisáceo, de aspecto completamente distinto al que presenta la mielina degenerada del cabo distal como después veremos. En su citoplasma aparecen restos fagocitados, de los cuales los más abundantes son los mielínicos, pero también podemos ver otras partículas, como restos nucleares, hematíes o restos axónicos revelados con las sales de plata. Consideramos a estas células como macrófagos cuya misión es la de eliminar las estructuras destruidas por la compresión. En estos primeros momentos después de la compresión son muy abundantes, de tal forma que constituyen verdaderos paquetes ocupando los huecos entre las escasas bandas de células de Schwann.

Aparecen ya procesos de proliferación, principalmente en las células de Schwann del segmento proximal.

En el cabo distal vemos dos procesos degenerativos: la degeneración axónica que se realiza por fragmentación de los cilindroejes y la de la mielina en forma de la clásica degeneración walleriana. Esta aparece en forma de glóbulos o esférulas macizas impregnadas intensamente en negro por el ácido ósmico. Se sitúan perfectamente alineadas en sentido longitudinal a lo largo de todo el cabo periférico, y son todavía de un calibre considerable.

Consideramos de interés el hecho de que en el cabo distal no encontramos los macrófagos ni los fenómenos de degeneración walleriana en la lesión. Nosotros creemos que esto es debido a la diferente lesión sufrida en cada zona. La del cabo distal es debida a la separación de las fibras de su centro trófico, el soma neuronal. Esto trae consigo la degeneración de la vaina mielínica y del axón, pero no de las células de Schwann, que perduran y serían las encargadas de eliminar estos materiales degenerados. Por el contrario, en la zona de compresión la destrucción es prácticamente completa, afectándose también las células de Schwann, las vainas conjuntivas internas (endo- y perineuro), habrá rotura de vasos, extravasación de células sanguíneas, etc. Aquí se produce una destrucción masiva de todas las estructuras del tronco nervioso (excepto el epineuro) y no hay opción a que surja la degeneración walleriana. La eliminación de todos estos detritus correrá a cargo de las abundantes células espumosas que se encuentran a nivel de la lesión y que se originarían fundamentalmente de las vainas conjuntivas del nervio y de la adventicia de los vasos. La emigración de los macrófagos desde las vainas conjuntivas al interior del nervio ya fue descrita por POLAK (1955 a, b; 1956 a, b) en la lesión del nervio ciático del perro y constituyen lo que dicho autor denomina "microglia periférica".

El estudio comparativo de las dos series nos muestra una mayor cantidad de macrófagos a nivel de la lesión en los animales tratados

con cortisona. La actividad mitótica está también aumentada en estos animales (43 %). El estudio de los segmentos distales revela un ligero retraso de la degeneración walleriana en los animales inyectados.

5 días

Macroscópicamente se nos presenta la zona de lesión ligeramente engrosada y el segmento distal con una coloración grisácea más intensa que la observada el día anterior.

El dato más característico en este día es la gran hiper celularidad que encontramos en la zona de lesión, acompañada de una intensa actividad proliferativa. La hiper celularidad es a base, principalmente, de las células de Schwann, que son muy abundantes en comparación con el día anterior y forman paquetes más gruesos que recorren una longitud considerable a lo largo de la zona de lesión. La mayor parte de las mitosis las encontramos a nivel de estas bandas. Los macrófagos empiezan a disminuir y presentan una independencia mayor; los apetonamientos celulares no son frecuentes, sino que se presentan perfectamente separados unos de otros en su mayoría.

Las impregnaciones argénticas nos presentan una fragmentación axónica más avanzada, siendo los restos ya de pequeño calibre. Los residuos mielínicos son de menor calibre.

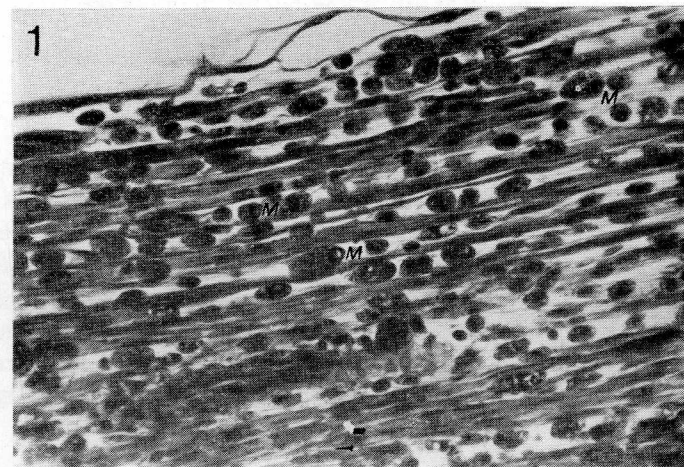
La actividad mitótica, de máxima intensidad en este día, es más marcada en los animales tratados, lo que trae consigo que las bandas de Büngner estén más desarrolladas en estos animales. Los macrófagos son considerablemente más escasos en los animales controles (figs. 1 y 2), pudiéndose ver en éstos una mayor independencia entre ellos. Debido a que hay mayor acúmulo de células en los animales con tratamiento hormonal (macrófagos y células de Schwann), la deformidad del nervio en esta zona es mayor que en los testigos.

Como en el día anterior, la reabsorción de mielina del segmento distal está más retrasada en los animales tratados (figs. 3 y 4).

7 días

Hay en este día un predominio neto de las células de Schwann sobre los macrófagos alineados longitudinalmente. Los fenómenos proliferativos comienzan a descender, debido a que las bandas unen ya los dos segmentos del nervio.

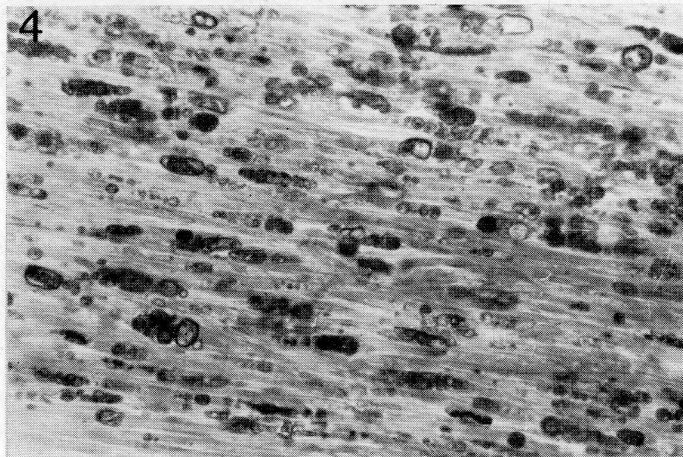
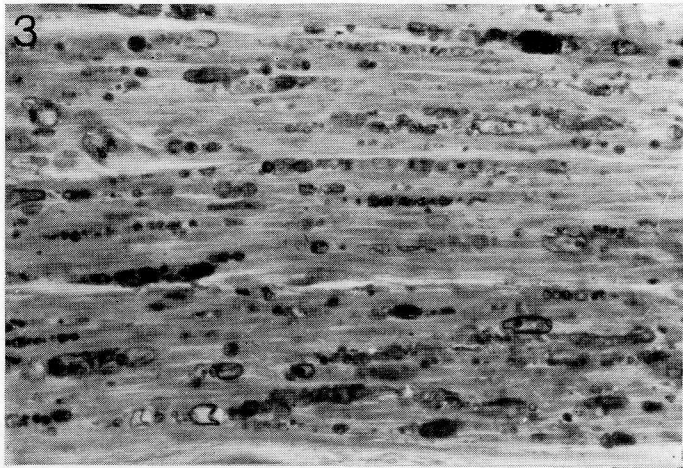
En este séptimo día podemos ver los primeros axones regenerados en número escaso, de calibre muy fino y dispuestos en paquetes. Se sitúan siempre paralelas al eje longitudinal del nervio. No hemos encontrado ninguna estructura que refleje dificultad al paso de los jóvenes axones a través de la zona de lesión (formaciones de Perroncito, ramificaciones, engrosamientos, etc.)



Figs. 1 y 2. — Acido ósmico. 24×. Zona de lesión cinco días después de la compresión. En la figura 1 (animales controles) los macrófagos (M) presentan una independencia mucho mayor que en el animal inyectado (fig. 2), debido a su menor cantidad. Entre ellos pueden verse las primeras bandas de células de Schwann.

Los procesos de degeneración walleriana y axónica siguen progresando, siendo los restos cada vez más escasos y pequeños.

Las diferencias observables entre las dos series se refieren al retraso de los procesos de eliminación (macrófagos y degeneración walleriana) y a la actividad proliferativa de las células de Schwann. En este día, al contrario que en los anteriores, es mayor el número de mitosis en los animales testigos.



Figs. 3 y 4. — Acido ósmico. 24 \times . Segmento distal siete días después de la lesión. Los restos de mielina son escasos y pequeños en los animales controles (fig. 3). Animal tratado (fig. 4).

10 días

Los cortes histológicos nos permiten ver que en este día prácticamente todo el espesor del nervio está ocupado por bandas de Büngner que unen plenamente los dos cabos del tronco nervioso. Los escasos macrófagos se sitúan en los pequeños huecos existentes entre ellas.

Aumenta el número de cilindroejes neoformados y empiezan a aparecer las vainas de mielina. Se encuentran en la zona de lesión y sólo una pequeña cantidad invade el segmento distal. Tienen un

calibre muy pequeño y se disponen en pequeños paquetes. Tampoco observamos con esta técnica ninguna desorganización de las fibras al atravesar la zona lesionada.

Las diferencias observadas en este décimo día después de la lesión en las dos series de animales son similares, pero en menor grado que las descritas en el día anterior. El ligero engrosamiento localizado en la zona comprimida de los ciáticos tratados prácticamente no existe en los controles. No hay diferencias apreciables en cuanto a las fibras y vainas de mielina neoformadas.

A partir de los diez días de la lesión los cambios van a ser lentos pero progresivos. El estudio macroscópico del nervio sólo nos va a mostrar una recuperación progresiva del color blanquecino brillante del segmento distal.

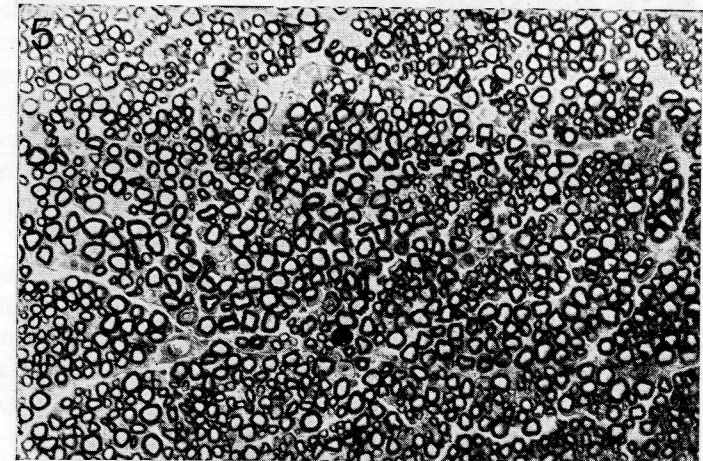
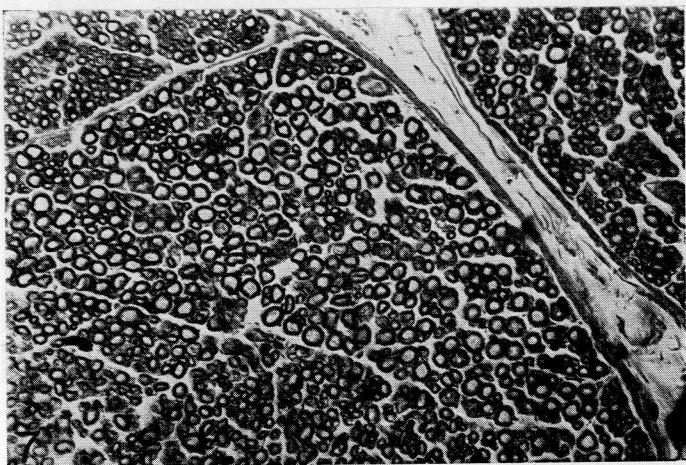
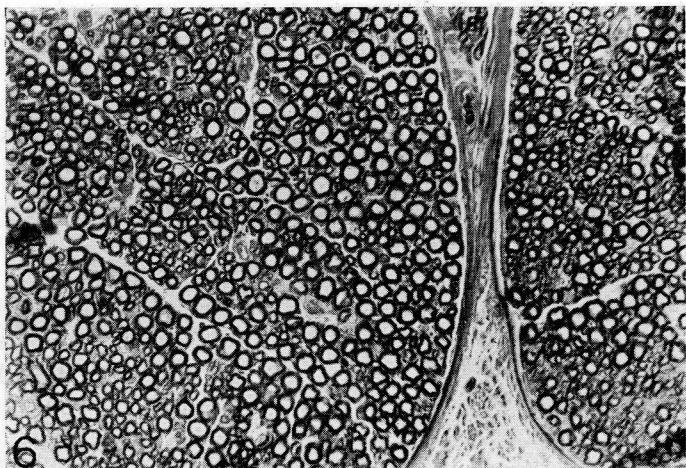


FIG. 5. — Acido ósmico. 24 \times . Sección transversal del segmento proximal.

En los cortes histológicos se observa también una evolución de todos los procesos, pero con un predominio de los regenerativos. Estos procesos, que en los primeros días se realizan rápidamente, a partir de los quince días son lentos, de tal forma que a los noventa días de la operación todavía podemos ver algún macrófago en la primitiva zona lesionada y restos mielínicos en el segmento distal, aunque en cantidad mínima. Por el contrario, el aumento de calibre de los axones y vainas de mielina son patentes, de tal forma que a los noventa días el grosor de los mismos en el cabo distal (figs. 6 y 7) es prácticamente igual al del cabo proximal (fig. 5).

El aspecto de los ciáticos de las dos series es muy similar en todos estos días. A los noventa días la única diferencia sería la can-



FIGS. 6 y 7. — Acido ósmico. 24 \times . Sección transversal del segmento distal, noventa días después de la lesión. Nótese la gran similitud de las vainas miélicas. Figura 6, animal control; figura 7, animal tratado.

tividad ligeramente mayor de macrófagos a nivel de la lesión en los animales tratados.

Discusión

Examinando los resultados es fácil comprobar que los procesos regenerativos son bien distintos según se trate de una simple compresión o de una sección completa del nervio, como describíamos en

un trabajo anterior. Es lógico que así sea, ya que en el primer caso si bien se destruye el tejido nervioso propiamente dicho se conserva el epineuro, mientras que en el segundo caso también se destruye el epineuro.

La compresión del nervio lleva consigo la destrucción de todas sus estructuras y por consiguiente la formación de detritus celulares que han de ser eliminados, hecho éste que apenas es patente en la sección del nervio. Durante los diez primeros días después de la compresión, en los animales controles, la mayor parte de los detritus celulares son eliminados, comprobándose la existencia de gran cantidad de macrófagos que se encargarán de dicha eliminación. Pautinamente la cantidad de estos elementos va disminuyendo. En los animales tratados con cortisona la cantidad de detritus está enlentecida, no por que no afluyan macrófagos que aparecen en gran cantidad, sino porque su movilidad y actividad están disminuidas, tal y como lo describen GERMUTH, OTTIN GER y OYAMA (1952). En el caso de sección del nervio, al no haber detritus celulares no aparecen macrófagos, siendo sustituido el fenómeno de eliminación por los procesos proliferativos. Fenómenos proliferativos que también son muy importantes en los animales con compresión.

En los animales con compresión del nervio se observa la proliferación de las células de Schwann, sobre todo a nivel del segmento proximal, para formar las bandas de Büngner que unirán los dos segmentos. Estas bandas celulares atraviesan la zona de compresión, lo mismo que después los axones, siguiendo una trayectoria rectilínea, es decir, sin formar remolinos ni las típicas disposiciones fibrilares, que en el caso de la sección del nervio nos indicaban la existencia de un obstáculo constituido por la zona de tejido cicatricial.

Al igual que en el caso de sección del nervio, encontramos un aumento en el número de mitosis (fig. 8), confirmado por los recuentos nucleares (fig. 9) y la hiper celularidad manifiesta, en los animales tratados con cortisona. Creemos que esta mayor cantidad de mitosis se debe a las células de Schwann, ya que en el caso de compresión está eliminado el componente fibroblástico y además GERMUTH, OTTINGER y OYAMA (1952) describen la inhibición del macrófago frente a la cortisona que sería el otro componente que encontramos en la lesión.

Consideramos de interés el comparar las células de Schwann del segmento distal, que para WEISS serían macrófagos (la mayor reserva de macrófagos del nervio) con las células globulosas que aparecen en la zona comprimida en los primeros días después de la lesión. Estas células sí actúan como macrófagos, ya que tienen que eliminar todo el material destruido (también células de Schwann) en la compresión y por tanto tienen que captar partículas del medio

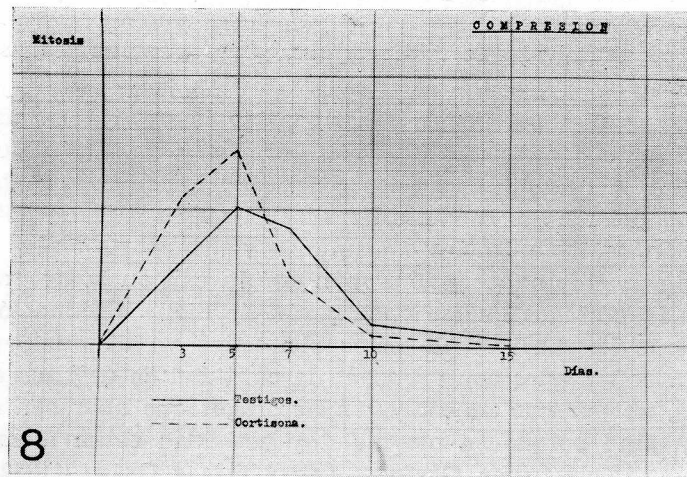


FIG. 8. — Gráfica de recuento de mitosis.

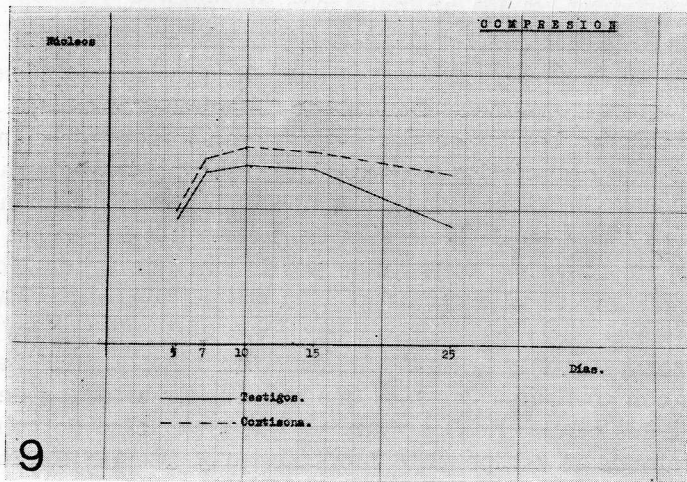


FIG. 9. — Gráfica de recuento de núcleos.

extracelular. Por el contrario, como ya indicábamos en otra publicación, la mielina eliminada por las células de Schwann durante la degeneración walleriana en el segmento distal no es extracelular, sino su propio plasmolema, y no tendría por tanto que captar elementos extracelulares. Además consideramos de importancia el hecho de que en la zona de compresión no aparece degeneración walleriana, al igual que en el segmento distal no hemos encontrado en

ningún caso células globulosas identificables como macrófagos. Además estos macrófagos de la lesión no provendrían de las células de Schwann vecinas; según POLAK (1955 a, b; 1956 a, b), que estudia su emigración en el ciático del perro, su origen son las vainas conjuntivas del tronco nervioso.

Resumen

Se estudia la acción de la cortisona (acetato de cortisona) en los fenómenos de degeneración y regeneración del nervio después de su compresión. Se aplican las técnicas de hematoxilina-eosina, azan de Heidenhain, ácido ósmico y nitrato de plata reducido de Cajal.

En la compresión del nervio no se forma tejido cicatricial (por mantenerse intacto el epineuro) en la lesión, por lo que la aplicación de la cortisona no acelera la reinervación del segmento distal.

El que no se forme tejido cicatricial cuando se comprime un tronco nervioso indica que dicho tejido se forma fundamentalmente a partir del conjuntivo ambiente que penetra entre los dos segmentos cuando producimos una sección completa, y no de las vainas conjuntivas propias del nervio.

La aplicación de la cortisona produce un aumento de las mitosis de las células de Schwann e inhibe los macrófagos.

Los procesos degenerativos están inhibidos con la administración de la hormona.

Summary

The authors study the action of cortisone (acetate of cortisone) in the phenomena of degeneration and regeneration of the nerve after its compression. The following methods were utilized: eosin-hematoxylin, «azan» de Heidenhain, osmic acid and reduced silver nitrate of Cajal.

In nerve compression no scar tissue is formed (due to the maintenance of the epineurium intact) in the lesion and in the reason why application of cortisone does not accelerate the reinnervation of the distal segment.

The fact that scar tissue does not form when the nerve trunk is compressed indicates that such tissue forms fundamentally, from the (connective tissue) connective atmosphere which penetrates between the two segments when one does a complete cut and not of the connective sheaths of the nerve.

The application of cortisone produces an increase of the mitosis in the Schwann cells and inhibits the macrophages.

The degenerative processes are inhibited by the administration of the hormone.

Zusammenfassung

Man studiert die Tätigkeit der Kortisone bei der Degeneration und Regeneration des Nerves, nach dessen Pressung. Es bilden sich keine Vernarbungen, das bedeutet, dass sich diese erst um das Bindegewebe bilden. Dagegen beobachtet man eine Erhöhung der Mitosen der Schwammzellen.

Resumé

L'action de la cortisone est étudiée dans les phénomènes de dégénération et régénération du nerf après sa compression. L'absence de tissu cicatriciel indique que celui-ci est formé à partir de son conjonctif du milieu. Par contre on observe une augmentation de la mitoses des cellules de Schwann.

BIBLIOGRAFÍA

- ASBOE-HANSEN, O. (1950): The effect of adrenocorticotrophic hormone of the pituitary on mesenchymal tissues. «Scand. J. Clin. Lab. Invest.», **2**: 271-283.
- (1959): Endocrine control connective tissue. «Amer. J. Med.», **26**: 470-487.
- BOYA, J. (1971): Acción de la cortisona en los procesos degenerativos y regenerativos del nervio perémico. I. Sección. «An. Anat.» (En prensa). Invest. Biol., **4**: 123-218.
- (1906): Les métamorphoses précoces des neurofibrilles. «Trab. Lab. Invest. Biol.», **5**: 47-104.
- (1909): Histologie du Systeme Nerveux. Edición del C.S.I.C. Madrid 1952.
- (1910): Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas. «Trab. Lab. Invest. Biol.», **8**: 177-196.
- (1911): Fibras nerviosas conservadas y fibras nerviosas degeneradas. «Trab. Lab. Invest. Biol.», **9**: 181-215.
- (1912): Influencia de las condiciones mecánicas sobre la regeneración de los nervios. «Trab. Lab. Invest. Biol.», **9**: 277-285.
- (1926): Demonstration photographique de quelques phenomenes de la regeneration des nerfs. «Trab. Lab. Invest. Biol.», **24**: 191-214.
- (1928): Degeneration and regeneration of the Nervous System. Oxford Univ. Press. London.
- DAUGHADAY, W. H. (1962): Conversion of proline-U-C¹⁴ to labelled hydroxyproline by rat cartilage in vitro. Effects of hypophysectomy, growth hormone and cortisol. «J. Lab. Clin. Med.», **59**: 741-763.
- GERARBE, H. W., M. JONES (1953): The effect of cortisone on collage synthesis in vitro. «J. Biol. Chem.», **201**: 553-568.
- GERMUTH, F. G., B. OTTINGER, J. OYAMA (1952): The influence of cortisone on the evolution of acute infection and the development of immunity. «Bull. Hopkins Hosp.», **91**: 22-45.
- HOLDEN, M., L. B. ADANS (1957): Inhibitory effects of cortisone acetate and hydrocortisone on growth of fibroblasts. «Proc. Soc. Exp. Biol. Med.», **95**: 364-372.
- LIKAS, L. J., M. M. MASON, H. ROSENKRANTZ (1963): Response of the level of acid mucopolysaccharide in rat granulation tissue to cortisone. «Endocrinology», **73**: 393-412.
- POLAK, M. (1955): Peripheral microglia of sympatectic ganglia. «Acta Neurol. Latinoam.», **1**: 16-23.

- (1955): Experimental mobilization of microglia in sympathectic ganglion of dog. «Acta Neurol. Latinoam.», **1**: 265-268.
- , H. CHRISTIANSEN (1956): Sobre la microglía periférica. «Arch. Hist. N. Pat.», **6**: 307-317.
- , J. E. AZCOAGA (1956): Microglía en los nervios periféricos. «Arch. Hist. N. Pat.», **6**: 318-327.
- WEISS, P. (1944): The technology of nerve regeneration: a review. Sutures, tubulation and related methods of nerve repair. «J. Neurosurg.», **1**: 400-450.
- , M. V. EDDES (1946): The effect of terminal connexions on the calibre of nerve fibres. «Anat. Rec.», **92**: 215-233.
- , H. B. HISCOE (1948): Experiments on the mechanism of nerve growth. «J. Exp. Zool.», **107**: 315-396.
- , A. C. TAYLOR (1944): Further experimental evidence against "neurotropic" in nerve regeneration. «J. Exp. Zool.», **95**: 233-256.
- , WANG (1945): Transformation of adult Schwann cells into macrophages. «Proc. Soc. Exp. Biol.», **58**: 273-275.

Dr. J. BOYA

Departamento de Histología
Facultad de Medicina
Salamanca (España)



LA FORMACIÓN RETICULAR DE LA BASE CEREBRAL
(RELACIONABLE CON EL MECANISMO DE EXCITO-CONDUCCIÓN Y
REPOLARIZACIÓN CARDIACA)

POR

J. ESCOLAR, J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN, L. MARTÍNEZ-MILLÁN,
J. VALDIZAN, A. LOBO y J. L. LANCHO

Son conocidos distintos tipos de disquinesias experimentales, consecuentes a lesiones en el cerebro de gato (ESCOLAR, 1969, 1970, 1971). Junto a estos trastornos motores se observan también trastornos vegetativos que afectan la función respiratoria y cardiaca (ESCOLAR-CASTELLÓN, 1971; ROQUÉS, 1971; MUÑOZ, 1972). A este propósito son muy clásicos los trastornos respiratorios graves tras lesiones de la formación reticular rombo y mesencefálica. Hace pocos años, sin embargo, la Neuropatología humana ofrece en su literatura clínica trastornos de la hemodinamia cardiaca, expresados en alteraciones electrocardiográficas de la conducción y repolarización, concomitantes con lesiones diencefálicas y telencefálicas (ver la abundante bibliografía desde BURCH, 1954, hasta BONVALLET, 1972, en el capítulo final)

También se conocen experiencias por ligadura de ambas carótidas comunes, juntamente con el de las arterias vertebrales, que conducen a una total isquemia del cerebro del gato y son acompañadas de inmediata desaparición de la actividad electroencefalográfica, así como también de muchas alteraciones en la electrocardiografía (REY PÍAS, 1971; MARTÍNEZ-OSORIO, 1972; ZARAZAGA, 1972). Estas isquemias no pueden naturalmente ser referidas a zonas concretas; por lo tanto, la localización de esas zonas claves de S.N.C. siguen siendo un problema. A este propósito, sin embargo, puede señalarse que: 1.º No hay alteraciones electrocardiográficas tras la hemisferectomía (Cía, 1969). 2.º No hay alteraciones electrocardiográficas tras lesión

bilateral de cualquier territorio del neurocortex que no afecte la profundidad y que no se complique con hipertensión endocraneal ni con alteraciones de la ventilación respiratoria (ESCOLAR y colaboradores, 1971). 3.º En contraste con esto, señala la literatura alteraciones electrocardiográficas tras lesiones en hipotálamo y subtálamo junto al neocortex basal, en cuya profundidad se encuentra la formación reticular y sus prolongaciones cruciales que se infiltran entre el striopallidum y el complejo amigdalino (BONVALLET y colab., 1972; FUSTER y col., 1970; KASSOF y col., 1963; MARTÍNEZ-MILLÁN, 1971; PORTER, 1962; VALDIZAN, 1972, etc.; ESCOLAR, 1963, 1965).

Material

Nuestra experimentación en el gato consiste principalmente en descerebraciones. El tentorio cerebeloso es la principal referencia para esta intervención experimental (fig. 1), que se hace con arreglo a la técnica de MARTÍNEZ-MILLÁN (1971), estabilizada por VALDIZAN (1972). Si la coagulación que perfora el mesencéfalo, siguiendo la dirección del plano tentorial, no alcanza la base del cerebro, entonces se observan pocas alteraciones E.C.G.

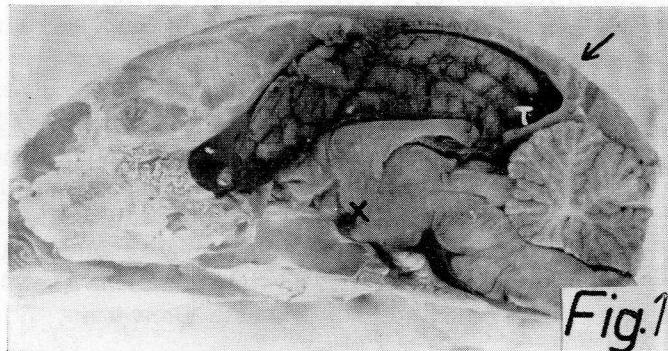


FIG. 1. — (T), tentorio. (X), zona basal donde tiene que llegar la descerebración dirigida desde el lugar indicado en la flecha.

Se han seleccionado 20 casos de descerebración del material de VALDIZAN (1972), observando comparativamente tres de ellos (fig. 2), que muestran, según la altura, una descerebración alta (A), una media (M) y una baja (B). Todas alcanzan la base cerebral y motivan muchas alteraciones electrocardiográficas.

A estos casos de descerebración se han unido otras lesiones experimentales del cerebro que engloban la base del polo frontal, habiendo seleccionado 18 casos del material de Lobo (1972). Cuando no se

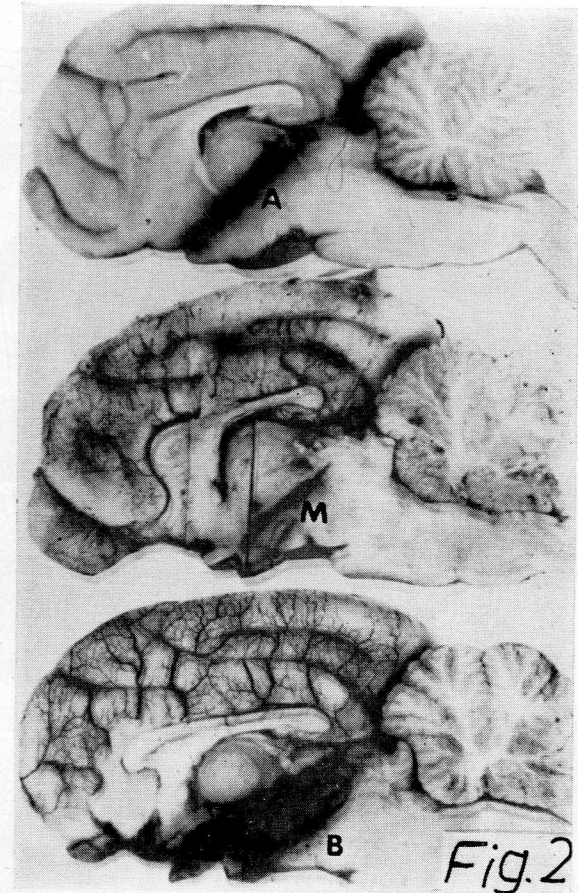
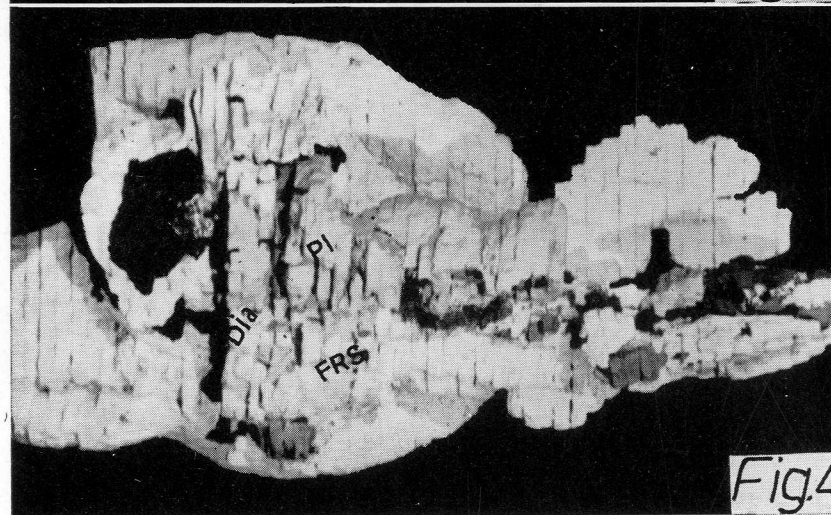
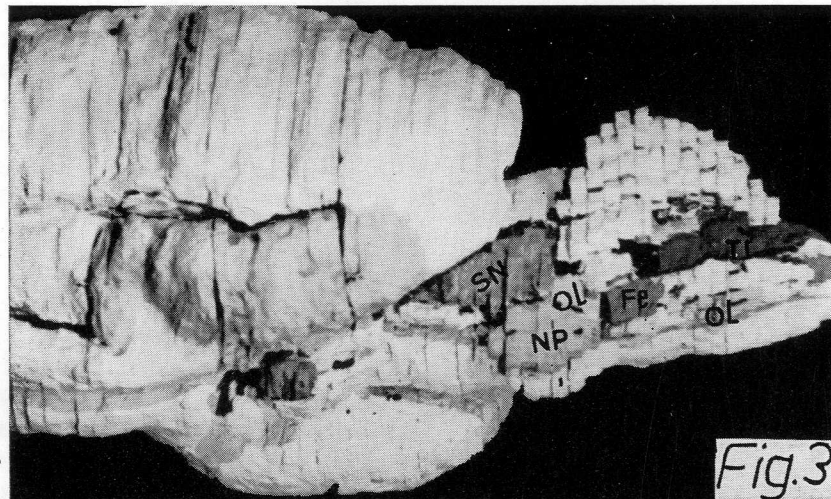


FIG. 2. — (A), caso de descerebración alta sobre el subtálamo. (M), caso de descerebración media que engloba el subtálamo. (B), caso de descerebración baja que afecta el mesencéfalo.

engloba la base del polo frontal en las lesiones indicadas, el material electrocardiográfico aparece prácticamente sin alteración, como se ha podido advertir en otros 10 casos seleccionados (Lobo, 1972).

El territorio afectado por esas lesiones en S.N.C. a las que se achacan alteraciones electrocardiográficas, corresponde a la formación reticular subtalámica y a sus prolongaciones entre el allocortex y el striopallidum, así como a la F.R. epitalámica. Por lo tanto, es útil aportar algo sobre la topografía y la arquitectonía de la formación reticular en dichas zonas.



FIGS. 3 y 4. — (Arriba) Reconstrucción estereométrica de un encéfalo de recién nacido en que se ha suprimido la sustancia blanca, lo que permite un desmontaje gradual de bloques grises como se refiere en la figura inferior. (Dia), allocortex diagonal. (Fc), núcleo facial. (FRS), formación reticular subtalámica. (Ol), olivas. (NP), núcleos del puente. (Pl), pallidum. (SN), sustancia negra. (Tr), núcleo del trigémino.

Hallazgos

La topografía de la F.R. se pudo representar en una reconstrucción estereométrica (fig. 3) realizada según los métodos clásicos (ESCOLAR, 1963) en un gato recién nacido, donde la formación reticular no está todavía enmascarada por la mielinización vecina que le invade (LANCHO, 1972). Tras algunos desmontajes se pudo ver en el original (pero no en la foto) la formación reticular subtalámica (FRS) y sus prolongaciones entre el allocortex diagonal (Dia) y el pallidum (Pl). La sustancia negra (SN), núcleos del puente (NP), ambas olivas (Ol), núcleo del facial (Fc) y trigémino (Tr) unidas a formación reticular intermedia, forman un bloque separable (fig. 4).

La arquitectura de la formación reticular subtalámica pudo ser observada macroscópicamente mediante perfusión vascular con tinta china (métodos clásicos, ESCOLAR y col., 1971). El aspecto es de una red fina, uniforme e ininterrumpida, observable en cortes sucesivos, transversales al neuroeje, desde el tubérculo olfatorio hasta el bulbo raquídeo, así:

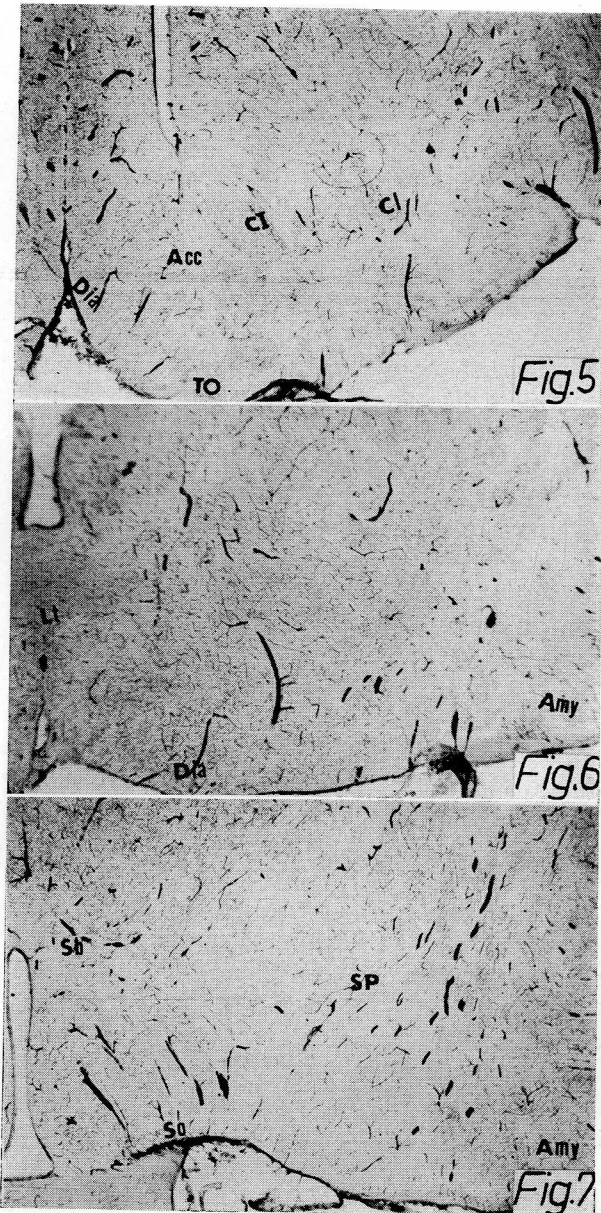
A nivel del tubérculo olfatorio (TO) (fig. 5) se ve esa red vascular entre el allocortex diagonal (Dia) y el núcleo accumbens (Acc). La cápsula interna (CI) ofrece poca red vascular perfundible en contraste con el claustrum (Cl), que es muy vascularizado.

Un poco más caudalmente (fig. 6) se ve esta red vascular desde la lámina terminal (Lt) del diencefalo, a través del allocortex diagonal (Dia) hasta el complejo amigdalino (Amy).

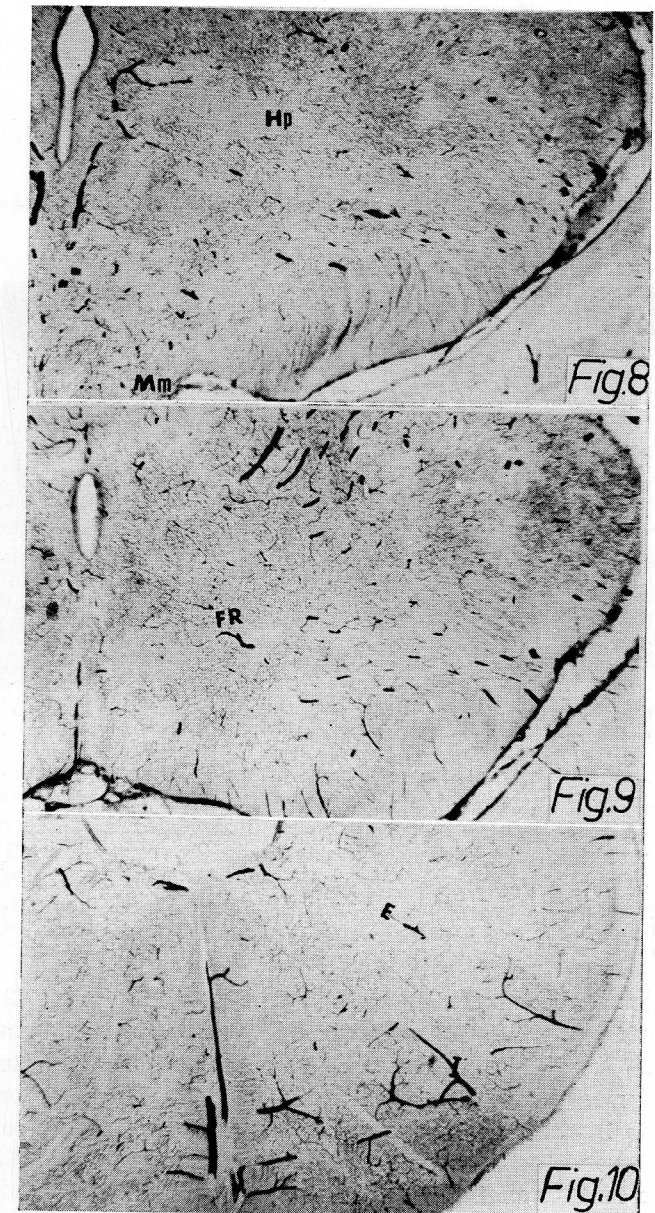
Más caudalmente aún (fig. 7) la red se extiende desde el subtálamo (Sb) hasta el complejo amigdalino (Amy), entre el núcleo supraóptico (SO) y el striopallidum (Sp).

En pleno subtálamo (fig. 8), la formación reticular está entre los cuerpos mamilares (Mm) y el acueducto mesencefálico, alrededor del tracto habenuropeduncular (Hp), en pleno territorio del llamado sistema circadiano epitalámico. Lesiones de este territorio coinciden con disociaciones auriculoventriculares (fig. 11): Las hondas "P", ofrecen un ritmo independiente del del complejo ventricular (ver arriba). En la parte inferior de la gráfica veamos el espacio "RT" con alteraciones de repolarización en el caso de lesiones más rostrales.

Más abajo aún, en el mesencéfalo (fig. 9), la formación reticular (FR) está concentrada. Sus lesiones motivan pocas alteraciones electrocardiográficas, pero se observan ya trastornos respiratorios. Estos trastornos son obligados siempre, tras lesiones más abajo aún, hacia el bulbo (fig. 10), donde la formación reticular se agrupa en los centros inspiratorios (I) y espiratorios (E), que pueden ser delimitados.



FIGS. 5, 6, 7, 8, 9 y 10. — *Leyenda común.* (Acc), núcleo accumbens. (Amy), núcleo amigdalino. (Cl), claustrum. (Dia), allocortex diagonal. (E), centro espiratorio. (FR), formación reticular. (HP), habénulo peduncular. (I), centro inspiratorio. (MM), cuerpo mamilar. (Sb), subtálamo. (SO), núcleo supraóptico. (SP), striopallidum. (TO), tubérculo olfatorio.



Consideraciones

La formación reticular forma una masa ininterrumpida, longitudinal y ventral al Sistema Nervioso Central, cuya parte rombo y mesencefálica rige funciones respiratorias y cuya parte diencefálica ofrece una topografía y arquitectura relativamente precisables, pero necesitada de sucesivas aclaraciones.

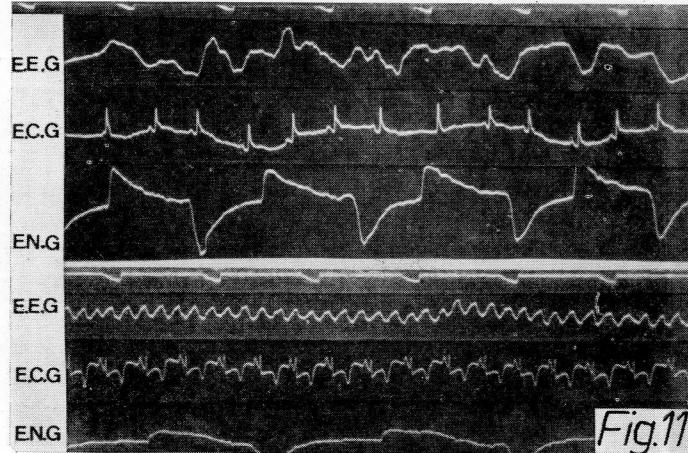


FIG. 11. — Registros electroencefalográficos (EEG), electrocardiográficos (ECG) y de respiración (ENG) de dos casos experimentales. El caso de la parte superior corresponde a una lesión de la formación reticular subtalámica, demostrando disociación auriculoventricular. El caso indicado inferiormente corresponde a lesión de la formación reticular a nivel del núcleo accumbens, demostrando trastornos de repolarización cardíaca.

El comentado trastorno de la función cardíaca aparece al lesionar ampliamente la formación reticular subtalámica, intensificándose al cabo de las horas, cuando el animal sobrevive. Parece como si se crease una nueva situación, en la que cabe admitir trastornos metabólicos de las catecolaminas en el territorio lesionado, lo que sugiere continuar el estudio con métodos de fluorescencia. Ello aportaría sobre la influencia de mecanismos simpáticos en estas alteraciones cardíacas, máxime si se pudieran relacionar las alteraciones de fluorescencia nerviosocentral con las de los vasos coronarios. A este propósito cabe recordar que en animales donde ramillas coronarias fueron lesionadas sin ofrecer trastornos ostensibles, se producían alteraciones de disociación auriculoventricular cuando se lesionaban a continuación los ganglios estrellados (MARTÍN-TRENOR, 1969).

Resumen

Las alteraciones electrocardiográficas se obtienen en amplias lesiones, un tanto estabilizadas, de la F.R. subtalámica y sus prolongaciones striopallidal y epitalámica. Dichas alteraciones corresponden fundamentalmente a trastornos de disociación auriculoventricular. Esta línea de trabajo debe de ser continuada con más material y con métodos de fluorescencia.

Summary

We obtain alterations in the electrocardiogram in big damages of the subthalamic reticular formation and its infiltrations in the striopallidum and epithalamus.

These alterations mainly belong to the auriculo-ventricular dissociation. It is necessary to accumulate more material and to apply fluorescence methods.

Zusammenfassung

Man erhält elektrokardiographische Veränderungen bei weiten Läsionen der Formatio reticularis des Subthalamus und deren Verlängerungen durch das Strio-pallidum und den Epithalamus. Diese Veränderungen entsprechen hauptsächlich der auriculo-ventrikulären Disociation. Es ist notwendig noch weiteres Forschungsmaterial anzusammeln und Fluoreszenzmethoden anzuwenden.

Resumé

On obtient des troubles électrocardiographiques dans d'amples lésions de la formation réticulaire subthalamique et de ses prolongations par le striopallidum et par l'épithalamus. Ces troubles obéissent fondamentalement à la dissociation auriculo-ventriculaire. Il est nécessaire d'accumuler plus de matériel et appliquer des méthodes de fluorescence.

BIBLIOGRAFÍA

- ABILDOSKOV, J. A. (1970): Electrocardiographic Wave Form and the Nervous System. «Circulation», **43**: 371-373.
- , K. MILLAR, M. J. BURGESS y W. VICENT (1971): El electrocardiograma y el Sistema Nervioso Central. «Progresos en las enfermedades cardiovasculares», **9**: 221-228.
- BONVALLET, M., E. GARY BOBO (1972): Changes in phrenic activity and heart rate elicited by localized stimulation of amygdala and adjacent structures. «E.E.G. and Clinical Neurophysiology», **32**: 1-16.
- BURCH, G. E., R. MEYERS, S. A. ABIZOSKOV (1954): A new electrocardiographic pattern observed in cerebrovascular accidents. «Circulation», **9**: 719.

- BURCH, G. E., R. S. SOHAL, S. C. SUN y col. (1969): Effects of experimental intracranial hemorrhage on the ultrastructure of the myocardium of mice. «*Amer. Heart. J.*», **77**: 427.
- , S. C. SUN, H. L. COLCOLOUGH y col. (1967): Acute myocardial lesions following experimentally induced intracranial hemorrhage in mice: A histological and histochemical study. «*Arch. Path. (Chicago)*», **84**: 517.
- CÍA, P. (1969): Evolución de las hemiplejías experimentales en relación con el nivel de reacción producido (Estudio crítico de zonas reticulares telencefálicas). «*An. Anat.*», núm. 50, vol. XX, Zaragoza.
- CHOU, T. C., y B. SUSILAVORN (1969): Alteraciones electrocardiográficas en la hemorragia intracraneal (Electrocardiographic changes in intracranial hemorrhage). «*J. Electrocardiology*», **2**: 193.
- CONNOR, R. C. R. (1968): Heart damage associated with intracranial lesions. «*Brit. Med. J.*», **3**: 29.
- CHOPP, G. J., y G. W. MANNING (1960): Electrocardiographic changes-stimulating myocardial ischemia and infarction associated with spontaneous intracranial hemorrhage. «*Circulation*», **22**: 25.
- ESCOLAR, J. (1963): Die Rekonstruktions Verfahren in der Biologie. First Congress. International Society for Stereology. «*Wien. An. Anat.*», número 50.
- , J. SMITH-AGREDA (1965): Beziehungen zwischen der Formatio Reticularis telencephalica und dem Allocortex während der Entwicklung. «*Verhandlung der Anat. Gesell.*».
- , — (1969): Die Basis des Fontalpoles in Verbindung mit der Formatio Reticularis Strio-Diagonalis als Referenz zur experimentelle Diskinesien. «*Verhandlung der Anat. Gesells.*».
- , — (1970): Substrato de disquinesias experimentales como aportación al sistema motor. (referencia al caso del gato). «*An. Anat.*», núm. 46, Zaragoza.
- , —, (L. MARTÍNEZ-MILLÁN y E. BUSTAMANTE (1970): Die Organization der Formatio Reticularis zwischen Striopallidum und Diagonalband in Beziehung zur experimentellen Disquinesien. 65 Vers. An. Gesell. Verhandl. der Anat. Gesell.
- , J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN y L. MARTÍNEZ-MILLÁN (1971): La experimentación en Sistema Nervioso Central para aportar sobre las alteraciones del substrato en relación con trastornos provocados en la motilidad somática y en funciones vegetativas. «*An. Anat.*», núm. 50, vol. XX, Zaragoza.
- ESCOLAR-CASTELLÓN, J. L., y D. MUÑOZ (1971): Die Organization des Mittelhirns in Beziehung zur experimentellen vegetative Störungen. Verhandl. An. Gesell.
- FUSTER, J. M., y WEINBERG, S. J. (1960): Bioelectric changes of the heart cycle induced by stimulation of the diencephalic regions. «*Expl. Neurol.*», **2**: 26-39.
- GREENHOOT, J. H., y D. D. REICHENBACH (1969): Cardioac Injury and Subarachnoid Hemorrhage. **30**: 521-531.
- KASSOFF, A., P. SCHEIN, K. VITIKAINEN (1963): Neuropenic cardiac dysrhythmias induced by hippocampal stimulation. (Pharmacology tesis) Upstate Medical Center. Syracuse. New York.

- KORTEWEG, G. C. J., J. T. F. BOELES, J. T. CATE (1957): Influence of stimulation of some subcortical areas on the electrocardiogram. «*J. Neurophysiol.*», **20**: 100.
- KOSKELO, P., S. PUNSAR y W. SIIPIA (1964): Subendocardial haemorrhage and ECG. changes in intracranial bleeding. «*British medical Journal*», **1**: 1479-1480.
- LANCHO, A. J. L. (1972): Reconstrucción estereométrica de un encéfalo de gato recién nacido. «*An. Anat.*», Zaragoza.
- LOBO, A. (1972): La F.R. encefálica difusa en relación con trastornos de funciones vegetativas y disquinesias experimentales. (Trabajo inédito).
- MARTÍN TRENOR, A. (1969): Aportaciones a la vascularización del sistema de excitación a efectos de obliteraciones experimentales de coronarias (Un complemento crítico tras resecciones adicionales del ganglio estrellado). «*An. Anat.*», **18**: 103.
- MARTÍNEZ MILLÁN, L. (1971): Descerebraciones diencefálicas experimentales relacionando las alteraciones del substrato y los trastornos vegetativos concomitantes. «*An. Anat.*», núm. 50, vol. XX, Zaragoza.
- MARTÍNEZ OSORIO, L., y A. ZARAZAGA (1972): Relación entre riego cerebral y ritmo cardíaco. «*An. Anat.*», **52**: 133.
- MILLAR, K., J. A. ABILDSKOV (1968): Notochedt waves in young persons with central nervous system lesions. «*Circulation*», **37**: 597.
- NGAI, S. H., y S. C. WANG (1957): Organization of central respiratory mechanisms in the brain stem of the localisation by stimulation and destruction. «*Amer. J. Physiol.*», v. 190.
- OFFERHAUS, L., y VAN GOOL (1969): Electrocardiographic changes and tissue catecholamines in experimental subarachnoid haemorrhage. «*Cardiovascular Research*», **3**: 433.
- PAINTAL, A. S. (1955): Impulses in vagal afferent fibres from specific pulmonary deflation receptore. «*Quart. J. Exp. Physiol.*», v. 40.
- PORTER, R. W., K. KAMIKAWA y J. H. GREENHOOT (1962): Persistent electrocardiographic abnormalities experimentally induced by stimulation of the brain. «*American Heart Journal*», **64**: 815-819.
- REY PÍAS, J. M. (1971): Aspectos de las redes vasculares cerebrales tras la producción isquemias experimentales. Aproximación anatómica, fisiopatológica y EEG. «*An. Anat.*», núm. 50, vol. XX, Zaragoza (Tesis doctoral).
- ROQUÉS, V., y M. P. ESCOLAR (1971): Pulmón de rata y distress experimental por vagectomía. «*An. Anat.*», **49**: 169.
- SCHMIDT, E. V., E. Z. USTINOVA, E. T. DRIGO (1963): Cerebrovascular accidents and disturbances of coronary circulation. «*Klin. Med. (Moskva)*», **41**: 13.
- SULG, I. A. (1967): Polygraphy in differential diagnosis of paroxymal loss of consciousness. «*Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*», **23**: 389.
- UEDA, H., UCHIDA y K. OZEIK (1969): Sympathetic activity in cerebral embolism. «*Japanese Heart. Journal*», **10**: 318.
- VALDIZAN, J. R. (1972): La formación reticular subtalámica. Aportación en descerebraciones experimentales. (Trabajo inédito).

WONG, T. C., y S. E. COOPER (1969): Atrial fibrillation with spontaneous with ventricular slowing in a patient with spontaneous subarachnoid hemorrhage. «Amer. J. Card.», v. 23.

ZARAZAGA, A. (1972): Aportación a las isquemias encefálicas experimentales. (Trabajo inédito).

Prof. Dr. J. ESCOLAR

Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

APORTACIÓN A LAS RELACIONES RECÍPROCAS ENTRE LAS TRANSFORMACIONES DEL ALLOCORTECX, HIPOTÁLAMO Y ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES PRODUCIDAS POR TRASTORNOS METABÓLICOS EXPERIMENTALES

(CON ESPECIAL REFERENCIA A LAS VARIACIONES DEL CONTENIDO EN METALES PESADOS DE ESTAS ÁREAS)*

POR

A. FACI

Introducción

La literatura a revisar en el presente trabajo obliga a una clasificación partiendo de aquellos conceptos más generales, para terminar haciendo referencia a situaciones más específicas en que los distintos substratos van siendo influenciados por el trastorno carencial.

A) *Bibliografía de las alteraciones metabólicas relacionadas con procesos clínicos*

La eclampsia, la uremia, varias intoxicaciones químicas, comas prolongados, han producido trastornos hipofisarios y allocorticales, como señalan los trabajos de ANSELMINO y HOFFMANN (1931), BUTNER (1935), PHILIPP (1935), LEARY y ZIMMERMAN (1937), ROUSSY y MOSINGER (1949). Muy estrechamente relacionadas con procesos clínicos están las observaciones de BEVACQUA (1911), NEUBERT (1912), SIMONDS (1925), BANDRÉS (1925) ANSELMINO y HOFFMAN (1933), CUSHING (1934), entre

* Tesis Doctoral defendida en la Facultad de Medicina de Zaragoza el día 21-II-1972, ante el Tribunal constituido por los profesores Lozano, Mateo Tinao, Escolar, Palomar y Gómez Lus. Calificada de Sobresaliente "por unanimidad".

Realizada y patrocinada en el Departamento Anatómico de la Universidad de Zaragoza, en coordinación con el C.S.I.C. Dirigida por el Prof. R. Sarrat.

otros, relacionándose lesiones anatomopatológicas de la clínica humana con alteraciones metabólicas que estos pacientes presentaban.

B) *Bibliografía de las alteraciones metabólicas relacionadas con trastornos funcionales*

En este sentido, observando cómo se alteran factores humorales, aportan los trabajos de STENDELL (1913), ATWELL (1918), HOUSSAY y UNGAR (1924), ATWELL y HOLLEG (1936), GEILING y LEWIS (1936), COLLIN (1937), KAWASHIMA y col. (1964), entre otros; centrandose su interés en variaciones de constantes plasmáticas y de medio interno en general motivadas por el trastorno metabólico de hambre, hambre y sed o dietas unilaterales producidas experimentalmente.

C) *Bibliografía de transformaciones del substrato anatómico producidas por trastornos del metabolismo en condiciones experimentales*

A nivel de la corteza cerebral, DONALD (1938), SMITH (1943), PORTER (1951) tratan de las modificaciones ocurridas en este parénquima, en algunos roedores sometidos a dietas unilaterales y a soluciones hipertónicas, como agua de bebida. Hiper cromatosis y degeneraciones de las neuronas, así como intensas proliferaciones gliales fueron descritas por estos autores. Con el desarrollo de modernas técnicas, KNOLLE (1959), ORTMANN (1957-64), FELBERG y FLEISCHHAUER (1960) GRIMMER (1961), SABATINI, BENSCH, RUSSELL y BARNETT (1963), FLEISCHHAUER (1964-66), etc., por medio de la microscopía de fluoresceína, electrónica, autorradiografía, histoquímica y cultivo de tejidos, fueron precisando transformaciones de substratos nerviosos y neuroendocrinos en alteraciones experimentales del metabolismo.

El trastorno carencial se centró más tarde en zonas de corteza antigua (*allocortex*) por su gran relación con la esfera endocrina. Demostrado por MASKE (1955) FLEISCHHAUER y HORSTMANN (1957) y TIMM (1958 a, b) el alto contenido en metales pesados (*zinc, cobre, hierro*) de los *allocortex*, surgieron a continuación una serie de trabajos que intentaron establecer relación entre los trastornos metabólicos y el contenido cortical en estos metales, así como su riqueza en algunos fermentos. En este sentido aportaron los trabajos de KOELLE JEFICI, LOWRY y col. (1954), v. EULER (1961), GRIMMER (1961), ORTMANN (1961), UCHIMURA (1928) y SCHARRER (1940); estos dos últimos autores reseñando cambios específicos del asta de Ammon. Posteriores trabajos aportan nuevos datos en el funcionalismo de los *allocortex*; y así, OTSUKA y col. (1962-65), OTSUKA e IBATA (1968), SARRAT (1968-69-70) refieren estudios concretos sobre las variaciones del contenido en *zinc* del *hipocampo* en condiciones experimentales.

El sistema neurosecretor hipotalámico-neurohipofisario muestra

transformaciones claras ante trastornos carenciales, más manifiestos ante el proceso de la deshidratación que ante la dieta unilateral. Desde JACKSON (1917), BENOIT (1936), BAILIF (1938), RODECK (1962) se conocen modificaciones del parénquima hipofisario por influjos experimentales. Advirtamos, sin embargo, que fueron los trabajos de DE ROBERTIS y PRIMAVESI (1942), SELYE y HALL (1943), ORTMANN (1951-54), SARRAT (1967), quienes puntualizaron las verdaderas transformaciones progresivo-regresivas del sistema hipotalámico-neurohipofisario. En este sentido, igualmente, pero en material de aves, aportan WINGSTRAND (1950-51-53), LEGAIT H. (1949), DUNCAN (1955-56), OOTA y KOBAYASHI (1962), FARNER y OKSCHE (1962), WEBER y BACHMANN (1964) y LAWZEWITSCH (1965-67-69).

El *epítalamo* y *órganos circunventriculares* han sido motivo asimismo de estudio en situaciones carenciales desde ROSE (1926) hasta SARRAT (1968-69), donde se hace referencia a variaciones del ganglio de la habénula, epífisis y plexos coroideos, así como al aumento en contenido de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en el órgano subfornical de animales carenciales. En este mismo sentido, AKERT, POTTER y ANDERSON (1961) ANDRÉS (1965), PALKOVITS (1966), discuten la morfología normal y experimental de los órganos circunventriculares, haciendo este último autor un análisis cariométrico, detectando un aumento del volumen nuclear en las células del órgano subfornical de los animales deshidratados.

A nivel de la *suprarrenal* sus transformaciones de carácter progresivo-regresivo ante stress toxiinfecciosos son conocidos desde SELYE (1949), TONUTTI (1953-54), LUDWIG (1954), AMAT (1954-55), ESCOLAR y colab. (1957), donde se describen las características de las transformaciones corticosuprarrenales, aunque no sea con el alarmígeno metabólico que nosotros hemos empleado.

En relación con la suprarrenal se encuentra abundante bibliografía referida a las *gonadas*, toda ella relativamente reciente: ELFTMAN (1963), que trata sobre la importancia de las células de Sertoli; HARKONEN y col. (1963), sobre acción del trabajo muscular en el testículo de la rata, y concretamente sobre las variaciones enzimáticas; TICE y BARNETT (1963), concretando la localización de diversas fosfatasas en estos órganos; así como el trabajo de CHOWDHURY y STENBERGER (1964), sobre la influencia del calor en el epitelio germinal del testículo. No obstante, quizás sea MUSCKE (1955) quien hace una descripción más detallada de las transformaciones progresivo-regresivas del testículo y a quien debemos la sistematización de la dinámica genital.

El *tiroides* ha sido también un órgano en el que desde KRATCH (1953) se conoce el significado de sus transformaciones producidas por alarmígenos emocionales o por frío. Desde RIENHOFF (1930), LUD-

WIG (1954), ESCOLAR y col. (1954), NEUMANN (1963), ITO, KOBAYASHI y TAKAHASI (1964) conocemos tanto la estructura normal como la patológica del tiroides stressado. FRIEDMANN (1934) y EWERS (1936) señalan el dato de la descamación del tiroides regresivo, dato en que hemos de hacer hincapié en el capítulo de resultados y discusión. Concretamente el stress carencial ha sido empleado por JACKSON (1916), que estudia el efecto sobre esta glándula de la inanición crónica, y BENSLEY (1916), GIGHI (1938), que tratan de ciertos bocios ocasionados por dietas unilaterales, y finalmente SARRAT (1966 a, b, 1967), así como LATALSKI (1962), NEUMANN (1963), WOLLMAN (1964), estudian histológica e histoquímicamente el tiroides bajo diversos puntos de vista experimentales, perfilando algunos detalles sobre sus transformaciones.

Los procesos de tipo general, como es la *osificación*, se influyen apreciablemente por el trastorno carencial, si no con la especificidad de un órgano neuroendocrino, a los que hemos pasado revista, si al menos como expresión del trastorno general orgánico que afecta a todas las funciones. En este sentido merecen destacarse los trabajos de MENOZZI y col. (1961), RODECK (1962) y ROHOR (1963), referidos a los retardos en la osificación que sufren los animales sometidos a hambre, y especialmente los de FRANDSEN y col (1954) y LEACH (1965), que estudian los efectos sobre animales jóvenes de dietas hipoproteicas.

En estos trastornos metabólicos hemos revisado por motivo de nuestra especialidad el *aparato visual*, recordando en la bibliografía aquellos clásicos antecedentes de los efectos que dietas carenciales, avitaminosis, producían sobre la córnea, así como aquellas lesiones retinianas de la clínica humana causadas por alteraciones del metabolismo glucídico y lipídico. Merecen a este propósito citarse los trabajos de MOORE (1957), BRUCE, DENNING y SPALTER (1969), SALT y colab. (1960) y en sentido recopilativo a MC. LAREN (1963).

Planteamiento

A la vista de los antecedentes bibliográficos nos proponemos realizar un estudio sistemático de las transformaciones de los substratos neuroendocrinos y viscerales, producidos por el trastorno del metabolismo, a consecuencia de someter animales o bien a dieta unilaterales (glucídica, proteica) o privándoles de todo alimento y en ocasiones incluso del agua de bebida.

Pretendemos, al hacer un estudio global, ver:

A) Qué partes del organismo intervienen más directamente en la regulación del metabolismo en general.

B) Cómo se afectan estos substratos en el trastorno carencial y cuál es su expresión morfológica.

C) De qué forma el resto del sistema neuroendocrino está ligado a las zonas que intervienen primariamente en este trastorno metabólico.

D) Hasta qué punto funciones de tipo general (crecimiento, función renal, sentidos, etc.) se afectan en estas circunstancias.

Material y métodos

El material lo componen 34 gatos adultos, 25 ratas jóvenes en distintos períodos de crecimiento y 30 ratas adultas de ambos sexos. Los gatos fueron repartidos en 3 lotes de 8 animales útiles cada uno, pues el resto se perdió durante la experiencia.

Material de gatos

LOTE A). — Núms. 1 a 11. Animales adultos, entre 3.200 y 4.500 gr, aparentemente sanos y en buen estado de nutrición. Se fueron sometiendo sucesivamente a períodos de *hambre y sed*. Terminada la experiencia se sacrificaba el animal por inyección intraperitoneal de 10 c. c. de hidrato de cloral. Inmediatamente se procedía a la autopsia del sistema neuroendocrino y se tomaban algunas vísceras que tuvieran especial relación con el trastorno carencial. Se tomaba regularmente: cerebro, entero, del que se extraía una sección frontal, que comprendiese: hipotálamo, hipófisis, asta de Ammon, órganos circunventriculares, etc., tiroides, suprarrenales, gonadas, páncreas, riñón, intestino, hígado y uno de los globos oculares.

LOTE B). — Núms. 12 a 20. El mismo tipo de animales, gatos adultos del lote anterior, que fueron sometidos a *dieta absoluta*, pero con agua «*ad libitum*». La experiencia tuvo la misma duración aproximadamente que el lote precedente; los animales, en la primera mitad de la prueba presentaban mejor estado clínico que los del lote A), sin agua, pero a partir de los 15 días en nada se diferenció su comportamiento del de aquéllos; no beben apenas y el agua en nada prolonga la vida de estos animales, que tuvieron que ser sacrificados alrededor del día 20 como media, con una pérdida de peso muy semejante al lote A). Autopsia y recogida de órganos como en el caso anterior.

LOTE C). — Núms. 21 a 28. Gatos adultos. Sometidos a *dieta glucídica*, consistente en que tuvieran los animales siempre a disposición agua azucarada para beber y terrones de azúcar. Estos animales presentaban evidentemente un curso clínico mucho más favorable, y si bien su vida se prolonga hasta los 30 días como término medio, a partir de los 20 los animales están adinámicos, como en los lotes anteriores, y su pérdida de peso, aunque no tan rápida, llega a las mismas cifras finales.

A cada uno de los lotes A), B), y C) acompañaron 2 animales normales a modo de control.

Material de ratas

Adultos

LOTE D). — 10 ratas adultas fueron sometidas a *hambre y sed* por espacio de 7 a 12 días. Terminada la prueba los animales fueron sacrificados por decapitación previa ligera anestesia con éter. La necropsia del material de rata se llevó a cabo como se indica en el lote A).

LOTE E). — 10 ratas adultas fueron sometidas a *hambre con agua «ad libitum»* durante 8 días. Resto, como en el lote D).

LOTE F). — 10 ratas adultas fueron sometidas durante 15 días a *dieta glucídica* en las mismas condiciones descritas en el lote C) del material de gatos.

En desarrollo

LOTE G). — Pretende agrupar todo el material de rata en período de desarrollo a base de varios lotes de animales de 5, 10, 15, 20 días de vida postnatal, que fueron sometidos a *hambre y sed* por espacio, respectivamente, de 2, 3, 4 y 5 días. Sacrificio y recogida de órganos como en el lote D), con especial referencia a la columna vertebral, con vistas a detectar actividad fosfomonoesterásica.

El material obtenido fue sometido, según su destino ulterior, a 3 métodos de *fijación* distintos:

a) *Líquido de BOUIN* para todo el material destinado a técnicas histológicas corrientes.

b) *Formol al 10 %* tamponado a 4° C para determinación de fosfatasas alcalinas en columna vertebral.

c) *Alcohol-sulfhídrico* (alcohol de 96° donde se hace burbujear SH₂ a saturación) para determinación de metales pesados en corteza cerebral y en páncreas endocrino según la técnica de Timm.

Inclusión en parafina. Corte a 7 micras.

Métodos de coloración. — Hematoxilina-eosina, tricrómico de Martins, Azzan, Klüver-Barrera, Gomori, Gabe y rojo escarlata; métodos todos ellos clásicos en Histología y que remitimos al lector para detalles más técnicos a la obra de ROMEIS (1965).

Especial mención merecen las técnicas del calcio-cobalto de Gomori-Takamatsu para fosfatasas alcalinas y la técnica de Timm para metales pesados; procederes que, aunque pueden consultarse en la bibliografía (GOMORI, 1939; TAKAMATSU, 1939; TIMM, 1958), creemos conveniente describirlos detalladamente, pues pudiera tener cierta utilidad la experiencia que en estas técnicas hemos adquirido, a la par que el señalar alguna pequeña modificación con la que hemos obtenido los resultados óptimos.

Técnica del calcio-cobalto de GOMORI-TAKAMATSU (1939). — Fijación: formol neutro al 10 % conteniendo cloruro cálcico al 1 % a 4° C durante 16 a 20 horas. Cortar: por congelación 8-10 micras. Incubar: (10' a 1 horas) en el siguiente medio: 10 c. c. de beta-glicerofosfato sódico al 2 %; 10 c. c. de dietilbarbiturato sódico al 2 %; 20 c. c. de agua destilada; 2 c. c. de cloruro cálcico al 2 %; 1 c. c. de sulfato de magnesio al 2 %. Aclarar en agua. Tratar con nitrato de cobalto al 2 %. Lavar con agua. Solución diluída de sulfuro amónico. Lavar con agua. Deshidratación y montaje.

Técnica de TIMM (1958) para metales pesados.

a) Fijación: En alcohol sulfhídrico durante 24 horas. El fijador se obtiene haciendo burbujear sulfhídrico en alcohol de 80 a 96° hasta lograr una concentración lo más alta posible. La forma de obtener el sulfhídrico más sencilla y en grandes cantidades consiste en calentar en un tubo de ensayo una mezcla formada por azufre, amianto y parafina. Se desprende SH₂ que se conduce al frasco que contiene el alcohol, frasco de boca estrecha para impedir la evaporación. Si el fijador tiene suficiente SH₂, las piezas adquieren a los 5 minutos de introducir las en él un color gris ceniza por la formación de sulfuros.

b) Inclusión en parafina, procurando que los tiempos de pase por los alcoholes se reduzcan a lo imprescindible.

c) Corte a 7 micras. Desparafinizar. Agua.

d) Extender sobre el porta una solución de:

Goma arábica 15 %	50 c. c.
Hidroquinona, 2 gr	} 100 c. c. de agua
Ac. cítrico, 3 gr	
Nitrato de Plata 10 %	1 c. c.

Las soluciones se mezclan antes de usar y se agitan para conseguir una mezcla homogénea.

e) Se deja el porta con el baño encima 1-2 horas a la luz difusa y se lava con agua a 40° C vertiéndola sobre el porta inclinado.

f) Deshidratar. Montar en Eukit o similares.

Eventualmente puede realizarse antes de deshidratar una coloración de contraste con hematoxilina de Mayer o con violeta de cresilo, pero a nosotros nunca nos dio mejores resultados. Preferible es elegir cortes gemelos y teñirlos con Klüver-Barrera, para poder tener una idea exacta de la topografía del precipitado, tanto en general como en su distribución intracelular. Es importante que las piezas de los animales controles y experimentales tengan el mismo grosor, y se fijen en la misma solución, para que tenga valor cualitativo y cuantitativo el precipitado detectado por la impregnación argéntica.

Resultados

Asta de Ammon

Obsérvese en la figura 1, en un corte panorámico a nivel hipotálamico, el aspecto que muestra el asta de Ammon y fascia dentada. Véase la distribución celular en los diferentes tramos del Ammon h₁, h₂, h₃ y repárese especialmente en la capa piramidal de este último sector, donde las modificaciones en los animales experimentales son más expresivas.

Las transformaciones de los allocortex en los animales sometidos a dietas carenciales son, como dijimos, especialmente expresivas a nivel del asta de Ammon, y concretamente en su zona h₃.

Obsérvese cómo en los animales control (fig. 2) las células piramidales presentan un aspecto característico, con un núcleo claro y destacado nucléolo y un protoplasma uniforme e intensamente teñido.

En las coloraciones por el método de Klüver-Barrera se observa

cómo las células piramidales citadas toman exclusivamente el violeta de cresilo. Diferencias de color se observan en estas neuronas, pero solamente con arreglo a la intensidad de las apetencias por dicho colorante (fig. 2).

No se observan en los animales controles neuronas luxol-fast-blue positivas.

Dieta glucosada. — Los animales sometidos a esta dieta unilateral presentan el asta de Ammon y fascia dentada con variaciones en la estructura celular con arreglo a los animales controles, si bien éstas no son tan expresivas como en el caso de los animales que han sido

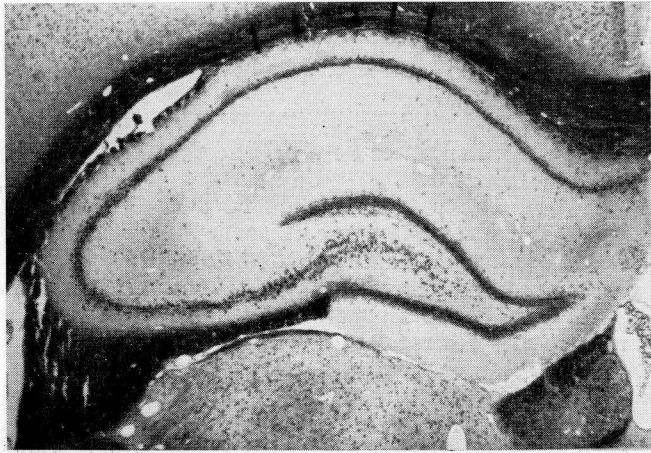


FIG. 1. — Corte transversal del cerebro de rata normal, mostrando el hipocampo. Nótese las demarcaciones del asta de Ammon y fascia dentada, según la terminología de Vogt. Klüver-Barrera. 50x.

sometidos a hambre y sed durante espacios prolongados de tiempo. Junto a neuronas con sus características morfológicas y apetencias tintoriales muy semejantes a los controles se observa en el asta de Ammon de los animales sometidos a dieta glucídica durante un mes (fig. 3) neuronas alargadas, estrechas y poco uniformes en sus contornos, que se prolongan mediante una gruesa dendrita y que se tiñen masivamente por el luxol-fast-blue.

Dieta completa y de hambre y sed. — Estas observaciones que hemos apuntado para los animales de dieta glucídica adquieren en el asta de Ammon de animales sometidos a hambre y sed su máxima fuerza expresiva, observándose cómo entre las pocas neuronas de apariencia normal, que en la coloración de Klüver-Barrera aparecen sus protoplasmas teñidos por el violeta de cresilo, se observan grupos

FIG. 2

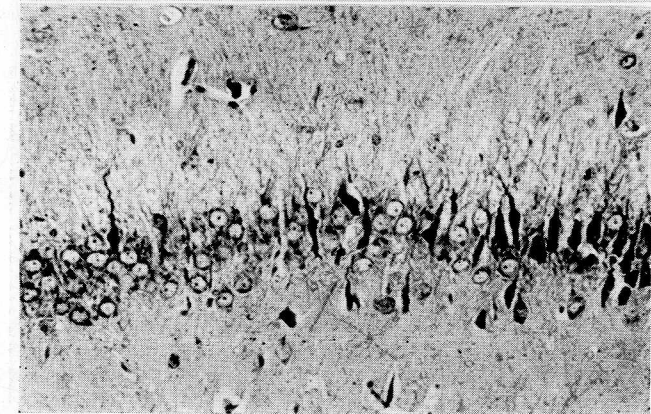
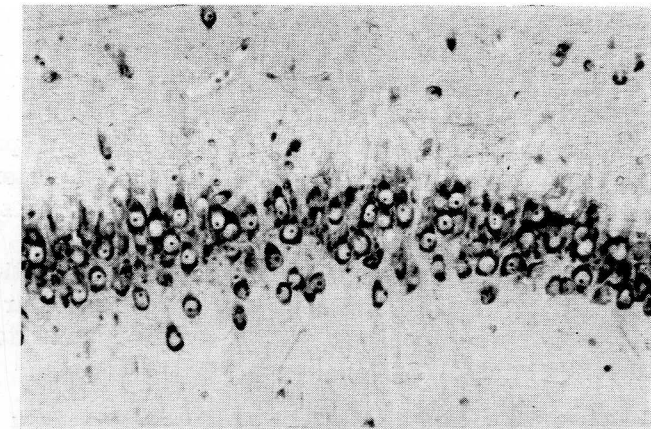


FIG. 3

FIG. 2. — Detalle de la zona h_3 del asta de Ammon control mostrando el estrato de células piramidales. Obsérvese la uniformidad de coloración con el violeta de cresilo, de sus protoplasmas y nucléolo, mientras el núcleo destaca en claro. Klüver-Barrera. 125x.

FIG. 3. — Detalle de la zona h_3 de Ammon en un animal sometido a hambre y sed 7 días. Obsérvese cómo las células hiper Cromáticas teñidas por el luxol-fast-blue se ven en número creciente como signo de una profunda alteración allocortical. Compárese este aspecto con el de la fig. 2. Klüver-Barrera. 125x.

masivos de células arrugadas e hiper Cromáticas, impregnadas por el luxol-fast-blue.

Nunca llega a ser completa la desaparición de los elementos normales, aun en las fases premortales pueden observarse elementos neuronales intactos y puede asegurarse con carácter de constancia que esa hiper coloración de las células no afecta uniformemente a todas las áreas allocorticales, sino que se distribuye topográficamente por

algunas zonas de h_3 de Ammon y fascia dentada, donde las células hiper cromáticas son casi la totalidad.

Estas alteraciones celulares observadas a nivel de los allocortex se dan en otros territorios del sistema nervioso central, aunque no con la intensidad que aquí las hemos descrito.

Hemos revisado en nuestro material algunos núcleos hipotalámicos, tanto en hipotálamo anterior como en hipotálamo posterior, observando en los animales experimentales trastornos celulares de este tipo.

Quizá el mayor contingente de estas células hiper cromáticas pueda concretarse en los núcleos supraóptico y paraventricular del sistema hipotalámico-neurohipofisario y en los núcleos arcuato y ventromedial del hipotálamo (fig. 4).

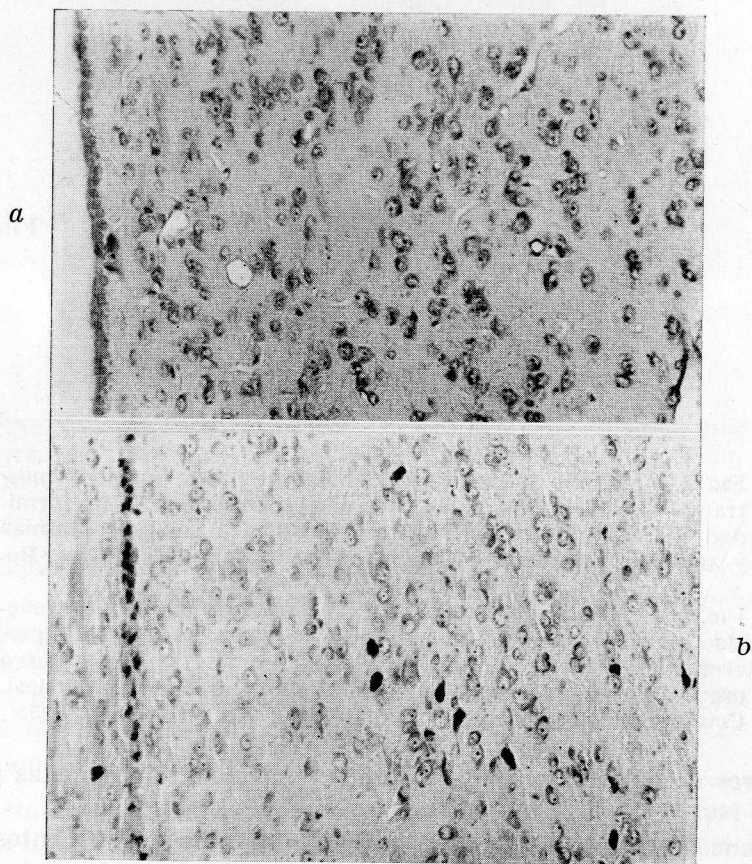


FIG. 4. — Hipotálamo de rata: a) control, b) animal experimental, sometido una semana a hambre y sed. Obsérvense células hiper cromáticas teñidas intensamente con el luxol-fast-blue a nivel del núcleo ventromedial. Klüver-Barrera, 125 \times .

Es curioso que las alteraciones celulares hiper cromáticas observadas en estos núcleos no solamente se ciñan a las neuronas, sino también a la glía ependimaria del III ventrículo (fig. 4), en cuyas paredes se aprecian imágenes semejantes a las descritas en los núcleos, o anteriormente en el asta de Ammon.

Las imágenes obtenidas de las zonas allocorticales mediante la técnica de Timm (fig. 5) para detectar metales pesados responden sólo parcialmente a las alteraciones celulares encontradas con el método de Klüver-Barrera.

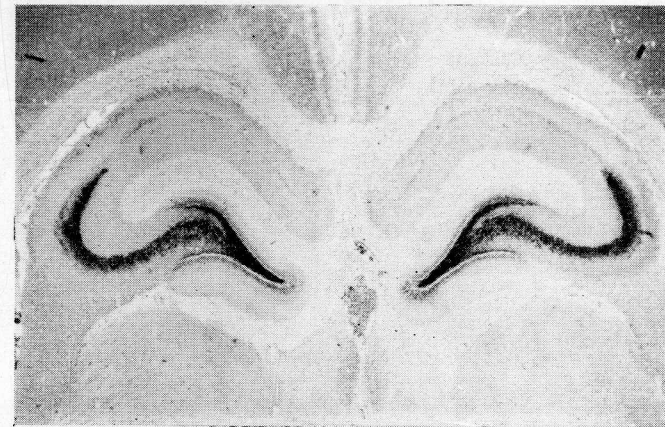


FIG. 5. — Corte transversal del encéfalo. Rata control. Determinación de metales pesados. Técnica de Timm. Obsérvense el contraste selectivo del asta de Ammon y fascia dentada, 25 \times .

En los animales de dieta glucídica encontramos solamente una disminución del precipitado de sulfuro de zinc en asta de Ammon y fascia dentada con arreglo a los animales controles, disminución que es uniforme en todo el territorio y que en nada recuerda las alteraciones celulares de carácter parcelario descritas más arriba.

El hambre y la sed, sin embargo, dan una gran variación en el contenido en metales pesados, y aunque la imagen macroscópica en poco se diferencia de los animales controles (fig. 6 b), pues el contenido en zinc en las zonas fibrilares es semejante, como muestran las figuras 7 a, b, al detenerse en la observación de las células piramidales a mayores aumentos (fig. 8 a, b) observamos cómo el fino puntado de sulfuro de zinc disperso uniformemente en el citoplasma de las neuronas normales (fig. 8 a) ha desaparecido por completo en el caso de los animales sometidos a hambre y sed (fig. 8 b). Esta diferencia es igualmente expresiva en las zonas h_1 , h_2 , h_3 del asta de Ammon.

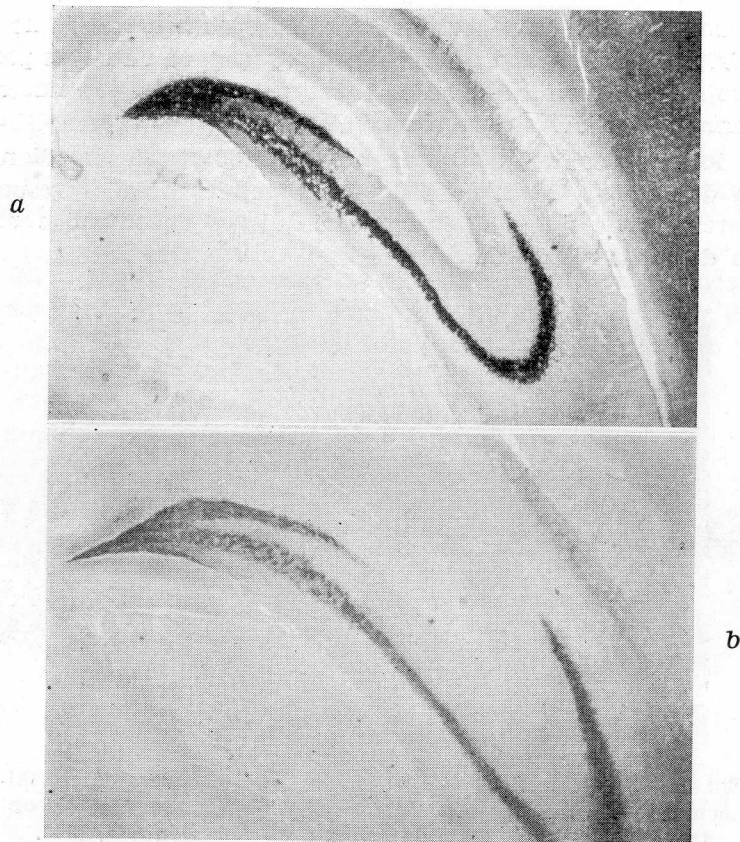


FIG. 6. — Detalle del hipocampo. Técnica de Timm. a) Normal. b) Experimental de hambre y sed (7 días). Obsérvese la manifiesta disminución en este último del precipitado de sulfuro de zinc. 125 \times .

El resto de la corteza, tanto antigua como nueva, así como los núcleos hipotalámicos a que antes hicimos alusión, no muestra en los animales experimentales con la técnica de Timm ninguna variación expresiva.

Páncreas

La relación existente entre el alto contenido en zinc de los allocortex y algunas partes del sistema endocrino, y concretamente con los islotes pancreáticos, queda de manifiesto en nuestro material, donde con la técnica de Timm se observan variaciones fundamentales en el contenido y reparto de los metales pesados en el páncreas endocrino.

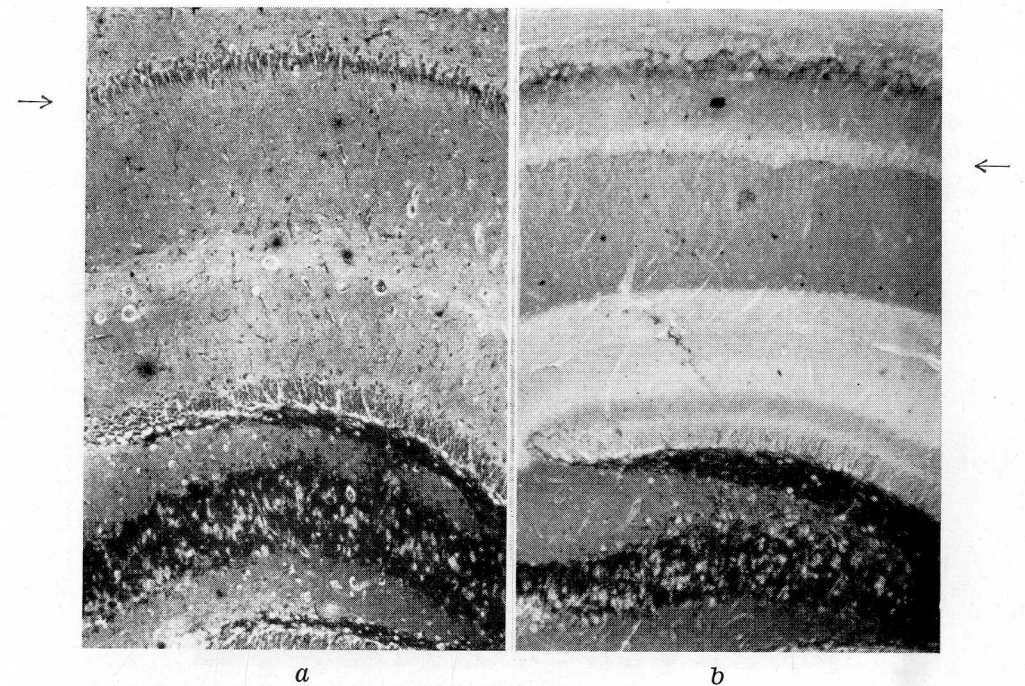


FIG. 7. — Detalle del hipocampo. Técnica de Timm. a) Rata normal. b) Experimental sometida 7 días a hambre y sed. Obsérvese (flecha) el distinto contenido en zinc en la zona h_1 del asta de Ammon, y de la fascia dentada. 125 \times .

En los animales controles encontramos irregularmente dispersos, y en material de rata algo más concentrados en la cola del páncreas, islotes de Langerhans que presentan una coloración intensa y uniforme debida al precipitado de sulfuro de zinc (fig. 9 a, b). No observamos en la mayor parte de estos animales diferencias expresivas entre las células alfa y beta, aunque en algunos islotes las células alfa reaccionen con algo más fuerza.

En los preparados histológicos de los animales carenciales se observan alteraciones de las células beta, dando disminución de su aptitud tintorial, vacuolización citoplasmática y abundantes núcleos picnóticos. En estos mismos animales la reacción de Timm muestra una marcada diferencia en el contenido en metales pesados entre ambos tipos celulares: mientras las células beta han perdido prácticamente su positividad a la reacción, las células alfa, formando una corona alrededor de las beta, enmarcan el islote fuertemente impregnadas (fig. 9 a', b'). Es difícil dar una norma de constancia en el comportamiento del páncreas endocrino, en lo que se refiere a variaciones

de tamaño, pues a pesar de haber visto diferencias volumétricas en algunos islotes, los resultados no son estadísticamente significativos. Esta misma dificultad resta valor a algunos de los hallazgos en relación con el reparto y coloración de las células alfa y beta sobre las que difícilmente puede hablarse de verdaderas modificaciones con carácter de constancia.

Solamente la técnica de Timm permite visualizar diferencias en el páncreas endocrino de los animales experimentales en el sentido

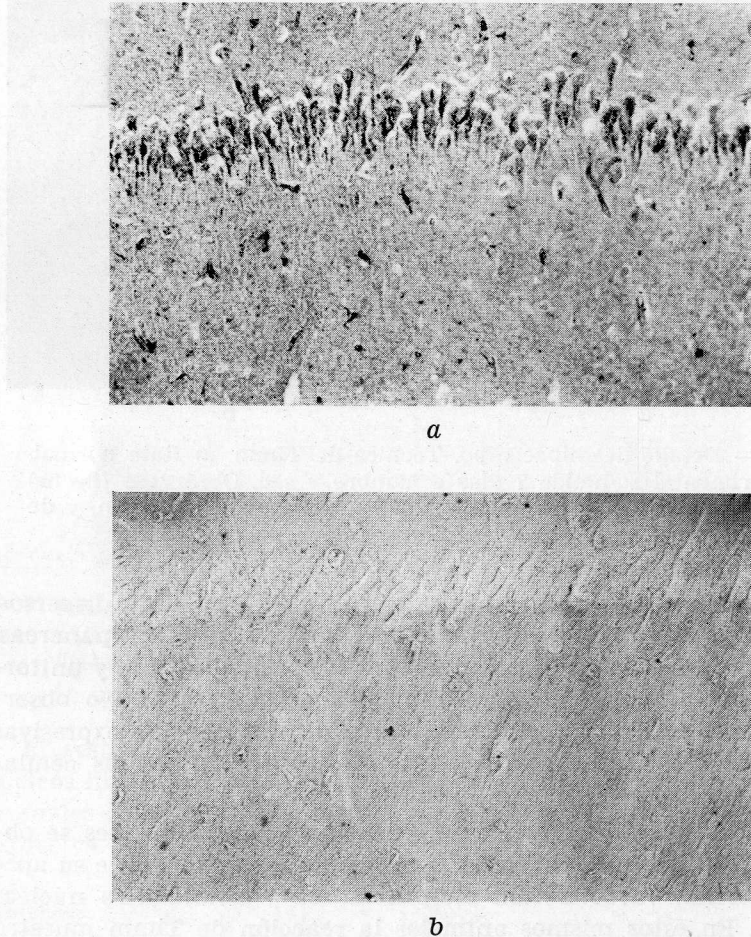


FIG. 8. — Detalle de la figura 7, mostrando el estrato piramidal de la zona h_1 del Ammon. a) Normal. b) Animal sometido a hambre y sed 7 días. Obsérvese en el animal control cómo el precipitado de sulfuro de zinc rellena materialmente los cuerpos de las células piramidales. Nótese la diferencia con el animal experimental, donde la granulación de la reacción de Timm ha desaparecido por completo. 320 \times .

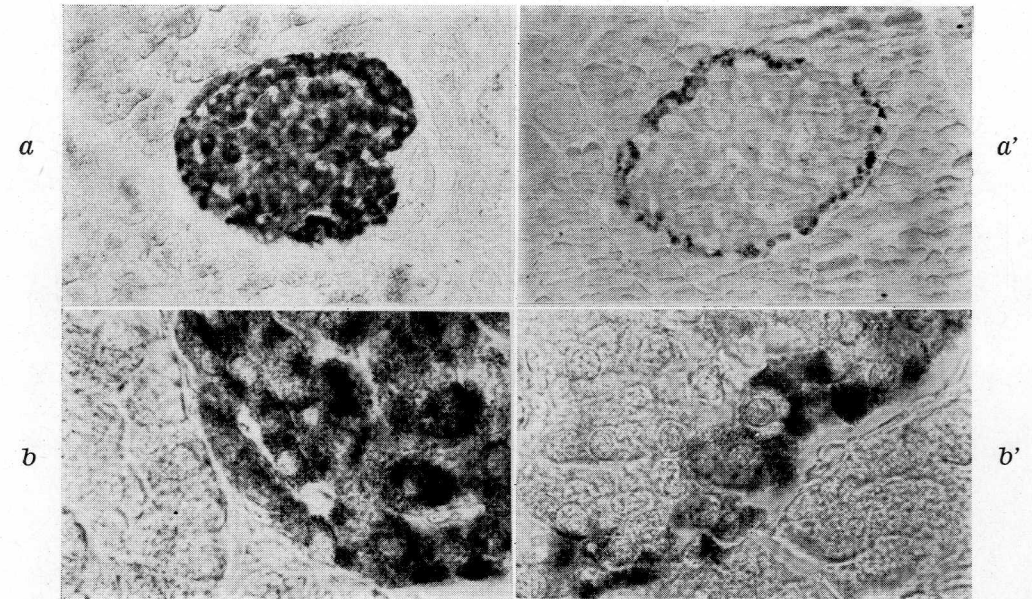


FIG. 9. — Páncreas de rata. Reacción de Timm. a) y b) Animal control en diversos aumentos. Obsérvese la uniformidad de la reacción en el islote de Langerhans. Compárese la diferencia con a') y b') correspondientes a un animal sometido a hambre y sed por espacio de 10 días, observando en éste la actividad selectiva de las células alfa. 125 y 1.250 \times , respectivamente.

de una mayor actividad funcional en las células alfa dispuestas periféricamente (fig. 9 a', b').

La dieta exclusivamente glucídica produce modificaciones en el islote en el sentido de conservar la actividad de las células beta elevándose ligeramente el contenido metálico de las células alfa, aunque nunca sin presentar éstas una impregnación tan intensa como en los animales de hambre y sed.

Hipófisis

En el material de rata hemos comprobado en *lóbulo anterior* un aumento de células acidófilas, de preferencia en la parte central de este lóbulo, así como un aumento de la vascularización.

Hemos observado en los animales experimentales (fig. 14 b, c) un aumento del coloide existente en la caverna hipofisaria, así como una disminución en el volumen de la *pars intermedia* a costa de haber decrecido el tamaño de sus células y núcleos, algunos de los cuales se encuentran en estado de picnosis. Observamos asimismo

cómo existen zonas en las que la *membrana basal y el epitelio germinativo son poco aparentes*, quedando algunas zonas de la pars intermedia vacías prácticamente de elementos celulares. Existe todavía una causa más que motiva la reducción de pars intermedia, y son las frecuentes "emigraciones basófilas" que abandonando la pars intermedia penetran en forma de trayectos infundibuliformes en el interior del lóbulo posterior. Estas emigraciones pueden a veces producirse "en banda" en aquellas áreas donde se observan soluciones de continuidad de la membrana basal.

En contraste con estas emigraciones basófilas podemos decir que en los animales carenciales la ligera basofilia que presentan las células normales de la pars intermedia se va trocando paulatinamente en acidofilia, y que ésta llega a ser intensa en los estadios premortales.

El *lóbulo posterior* de la hipófisis sufre un cuadro de transformación progresiva, produciéndose un aumento gradual de su volumen a expensas de varias circunstancias:

- a) Aumento del número de vasos.
- b) Aumento de su contenido celular a expensas de las citadas "emigraciones basófilas" del lóbulo intermedio y fundamentalmente a expensas de la proliferación glial, ya que a medida que avanza el trastorno carencial se aprecian cada vez más "mitosis" en los pituicitos".

En contraste, y como consecuencia de este estado progresivo del lóbulo posterior, se aprecia en los preparados de Gomori y Gabe una disminución de la neurosecreción, desapareciendo en una primera fase la neuronosecreción en pequeñas gotas, para, en una fase final, palidecer las grandes gotas de neuronosecreción, acabando en los estadios finales (dos semanas de hambre y sed) por no poder observarse apenas material neurosecretor en dicho lóbulo.

Estas transformaciones son, si cabe, más expresivas en *material de gato*, donde asistimos a las mismas alteraciones que hemos descrito para la rata, pero donde la superficie de contacto juega un papel mayor, ya que la representación de la pars intermedia en este animal tiene una marcada categoría (fig. 10).

Junto a la disminución de la neuronosecreción en el tallo hipofisario y lóbulo posterior de la hipófisis, en los animales carenciales observamos una reducción de la pars intermedia, en la que además de notarse una falta de actividad de la capa germinal, y una disminución del volumen citoplasmático y nuclear de sus células, se aprecia la casi total desaparición de los quistes, en toda la superficie más ventral de la pars intermedia.

Hemos observado igualmente que en el caso de la rata, emigracio-

nes basófilas hacia el interior del lóbulo posterior, y como aumenta en el caso del gato, el contenido celular de la hipófisis nerviosa por esas emigraciones basófilas, ya que aquí el mecanismo de aumento celular por proliferación de los pituicitos resulta excepcional, pues aunque hemos observado en nuestro material imágenes sospechosas de mitosis, nunca han sido tan expresivas y numerosas como en el caso de la rata. Asimismo la congestión del lóbulo posterior en la rata alcanza mayor intensidad que en el gato.

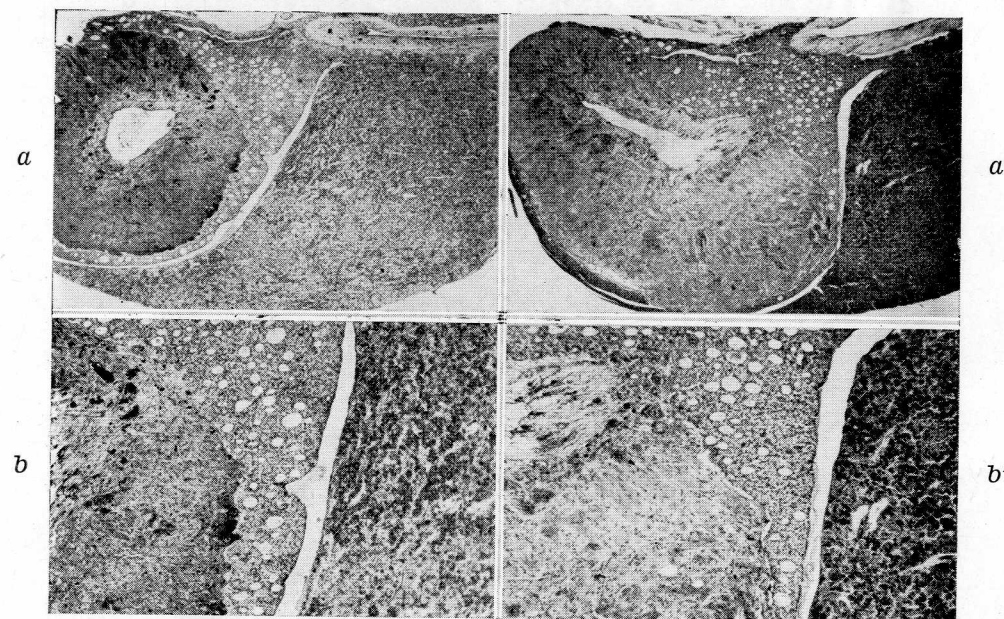


FIG. 10. — Aspecto panorámico y detalles de la hipófisis del gato en condiciones normales. (a, b) y experimentales (a', b'). Obsérvese el aumento del tamaño del lóbulo posterior en los animales carenciales, la disminución de la pars intermedia y la desaparición del material neurosecretor. Gomori. 25 y 50 \times , respectivamente.

Epitálamo y órganos circunventriculares

Modificaciones expresivas las encontramos en el núcleo de la habénula, donde en las coloraciones por el método de Klüver-Barrera aparecían células arrugadas, hiper cromáticas y de núcleos picnóticos, que aumentan a medida que el trastorno carencial se acentúa.

En la habénula de la rata, a partir del décimo día de hambre y sed (fig. 11 b) se aprecian claramente dos zonas en su estructura celular:

- a) Una zona medial, yuxtaependimaria con células alteradas te-

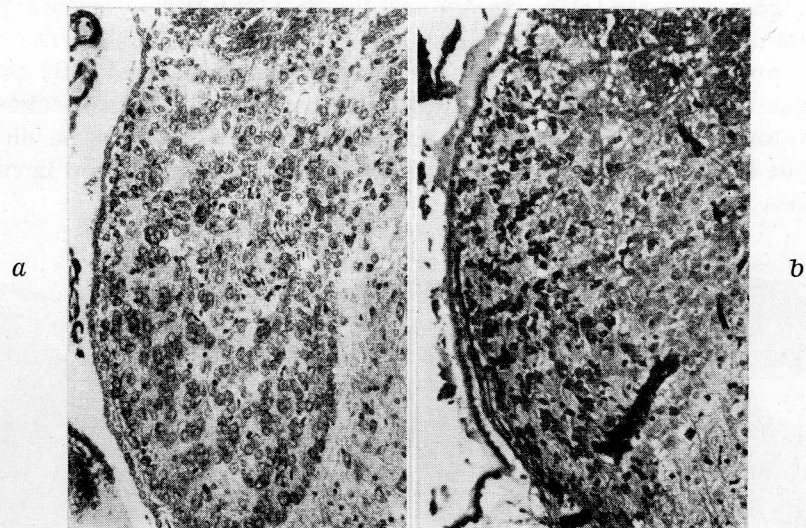


FIG. 11. — Ganglio de la habénula. a) Animal control, b) Animal sometido a hambre y sed 10 días. Klüver-Barrera. Nótese cómo las neuronas luxol-fast-blue positivas en el animal experimental están ocupando masivamente la mitad medial de dicho núcleo. 50 y 125 \times , respectivamente.

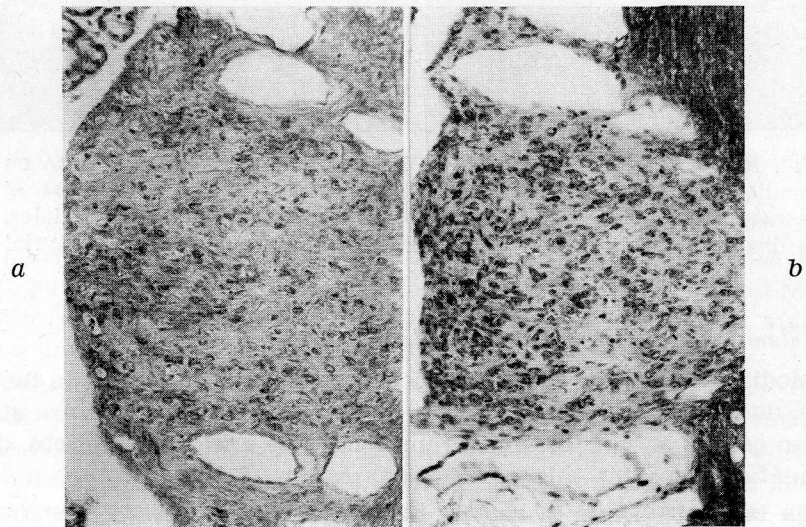


FIG. 12. — Órgano subformical. Rata: a) animal control; b), animal sometido 7 días a hambre y sed. Nótese el aumento de las células en este último. Klüver-Barrera. 125 \times .

ñidas intensamente por el luxol-fast-blue, alteración que comparte el epitelio endimario.

- b) Una zona lateral o externa, que aunque sus elementos no conserven absoluta integridad, siguen tiñéndose por el violeta de cresilo, como ocurre en todas las zonas de habénula de los animales controles.

También el órgano subformical (fig. 12) se modifica en los animales carenciales, aumentando su contenido celular y sobre todo su actividad enzimática (deshidrogenasas). El órgano subcomisural manifiesta escasas variaciones en circunstancias carenciales.

Suprarrenal

La suprarrenal (fig. 13 a, b), órgano en el cual las transformaciones progresivo-regresivas son ya clásicas, manifiesta en los animales

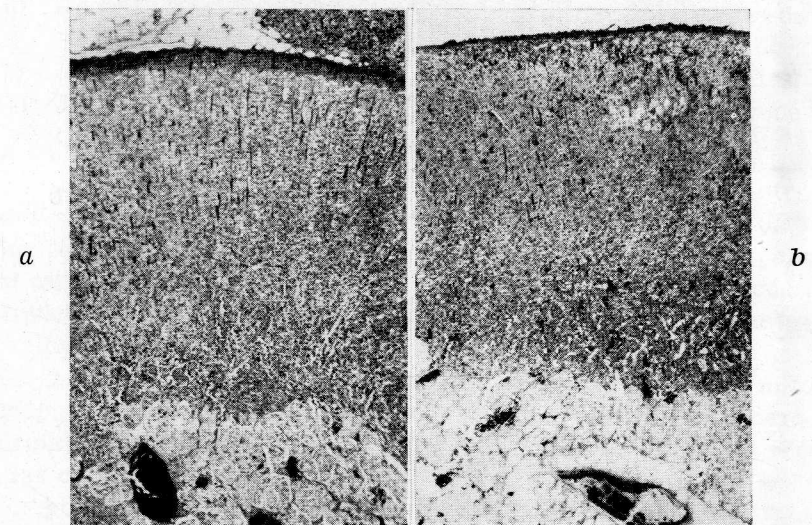
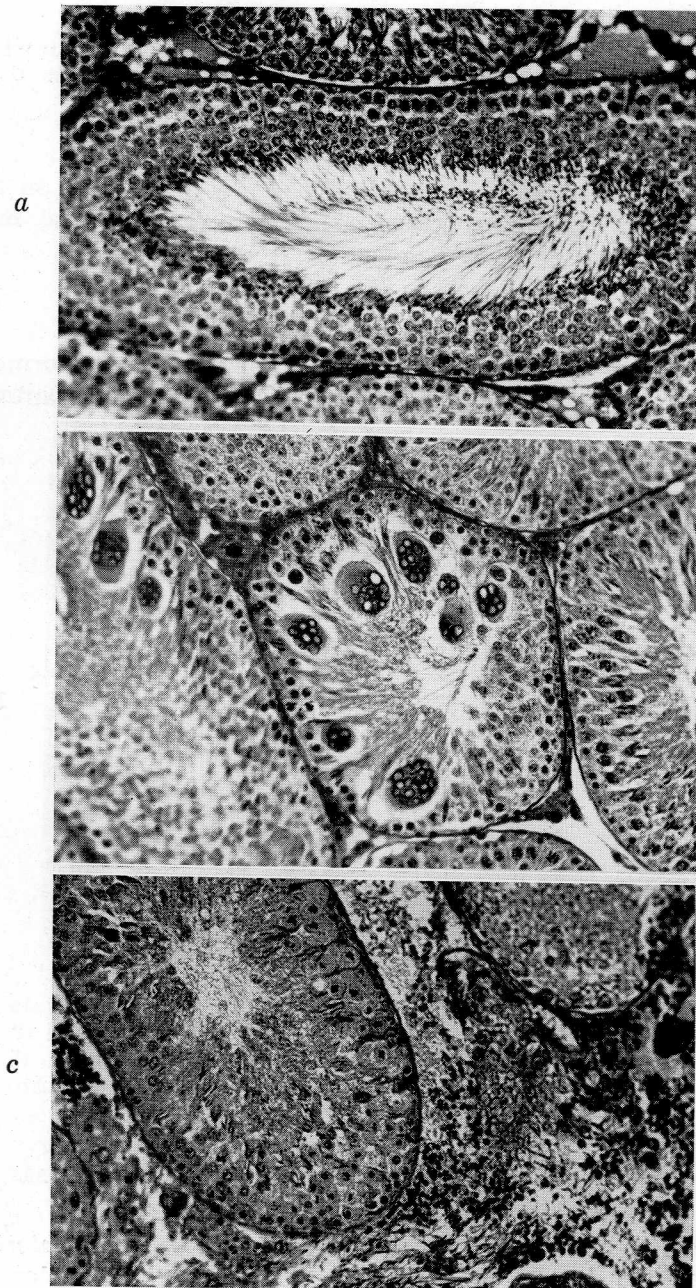


FIG. 13. — Visión panorámica de la glándula suprarrenal. a) Rata control. b) Rata sometida a hambre y sed 7 días. Obsérvese en esta última la desaparición de la capa glomerular, así como el aumento de vascularización, tomando la glándula un aspecto progresivo. Método de Martins. 125 \times .

carenciales su máxima fuerza expresiva, apreciándose diversas alteraciones que reseñaremos por el siguiente orden:

- a) *Disminución de los cristales birrefringentes de colesteroína a la luz polarizada, concentrándose los últimos acúmulos en el centro de la capa fascicular.*
- b) *Diferente aspecto tintorial de la glomerular.*



b

c

- c) *Aumento del tamaño de la capa fascicular*, donde se aprecian células con protoplasmas esponjosos y núcleos aumentados de tamaño.
- d) *Aumento de la vascularización* a nivel de la corteza suprarrenal en todos sus estratos y principalmente a nivel de la fascicular, donde se aprecian congestiones intensas e incluso pequeñas hemorragias.

Testículo

La gonada de los animales carenciales presenta siempre una imagen regresiva expresada en las siguientes transformaciones:

- a) *Disminución macroscópica del tamaño y peso glandular.*
- b) *Marcada disminución de su vascularización.*
- c) *Detención de la espermatogénesis* a nivel de los tubos seminíferos.
- d) *Degeneración* bajo distintas formas anatomopatológicas de los tubos seminíferos.
- e) *Hipotrofia de los islotes intersticiales* y sus vasos satélites.
- f) *Sustitución conjuntiva* de los espacios intersticiales y de los tubos degenerados.

El corte de testículo del animal testigo (fig. 14) nos muestra la clásica disposición de los tubos seminíferos; se aprecia en cada uno de los túbulos las sucesivas mitosis de la cadena celular que conduce al espermatozoide, y en la luz del tubo, en mayor o menor cuantía (casi siempre abundantes), el remolino de colas de los espermatozoides rellenando prácticamente la cavidad.

En los animales carenciales se observa disminución en las mitosis de la pared tubular, con la consiguiente disminución del número de espermatozoides maduros, pero lo que más intensamente se afecta son las *células de Sertoli*, que presentan una rápida degeneración ya en los primeros tiempos del trastorno carencial. Es lógico que tras la destrucción de la célula nodriza o de sostén se desencadene una espermatogénesis alterada estructural y funcionalmente, e incluso que ésta tienda a desaparecer.

←

FIG. 14. — Corte de testículo. a) Rata control. Obsérvese la regular disposición de las espermatogonias distribuidas en hileras y los numerosos espermatozoides contenidos en el interior del túbulo. b) Rata sometida a hambre y sed por espacio de 10 días. Obsérvese el aspecto degenerativo de los túbulos en forma de agregados multivesiculares. c) Rata sometida 14 días a hambre y sed, donde se observan zonas destruidas rellenas de conjuntivo proliferante, así como la detención completa de la espermatogénesis. Método de Martins. 320×.

En los estadios finales se observan zonas en el testículo, en que la estructura tubular sufre una degeneración, a base de grumos hialinos con un gran material de células descamadas que obtura las luces de los tubos. Algunos de éstos han perdido completamente su estructura e incluso la basal que los contenía ha perdido continuidad, dejando huecos por haber sido removido el material, al que sustituye una intensa proliferación conjuntiva (fig. 14 c).

En estadios avanzados hemos observado una especie de degeneración tubular con producción de cuerpos multivesiculares aglutinados por una sustancia hialina homogénea (fig. 14 b).

Estos cuerpos se encuentran en número de cinco a diez por plano de corte en muchos de los túbulos seccionados, y aunque no le podemos dar carácter de constancia, representa en algunos casos la forma de degenerar las gonadas. Lo corriente, sin embargo, es la producción de grumos hialinos tras la degeneración de las células de Sertoli, desapareciendo lentamente el dispositivo regular espermatogénico, la organización del tubo en general, pasando luego a la eliminación de los restos celulares, y a la proliferación conectiva, con el fin de sustituir el tejido noble destruido (fig. 14 c').

Tiroides

El tiroides en el trastorno carencial (fig. 15 b) sufre desde las primeras fases una transformación progresiva, determinada por los datos observados por KRACHT y que se resumen en nuestro material:

- Aumento del volumen de las vesículas coloides* en toda la extensión del parénquima tiroideo, pero fundamentalmente en la periferia de la glándula.
- Aumento del contenido coloide* en el interior de las vesículas; el coloide se hace más denso y se tiñe más fuertemente por la parte básica de los tricrómicos.
- Aplanamiento de las células del epitelio folicular*, desapareciendo las mitosis y en algunos casos haciéndose el protoplasma tan escaso que éste se reduce a la altura de sus núcleos.
- Presencia en el interior de los folículos de elementos descamados* con escaso citoplasma, arrugados, con núcleos en fase degenerativa o incluso sin ellas.
- Disminución constante de la vascularización* de la glándula, sobre todo en las fases finales.

En material de gato se observa en un tanto por ciento bastante elevado, de los casos carenciales, que el interior de algunos folículos se halla ocupado por células cuyas características no parecen incluir las dentro de las células descamadas que antes citábamos.

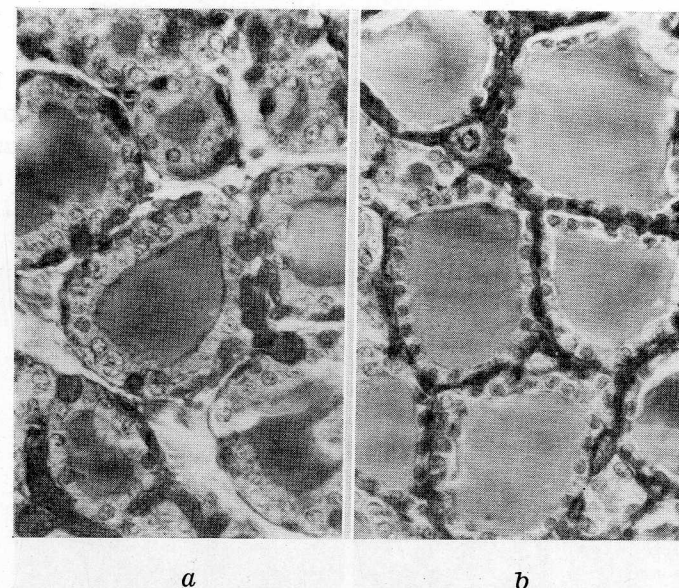


FIG. 15. — Aspecto del tiroides de rata. a) Animal control. b) Rata sometida 10 días a hambre y sed. Obsérvese en el animal experimental el aspecto regresivo del tiroides. Método de Martins. 320x.

Riñón

En el riñón de los animales carenciales, a diferencia de los controles, que muestran una uniforme actividad fosfatásica en toda la corteza (fig. 16 a), se observan dos zonas corticales claramente delimitadas: mientras la cortical superficial conserva íntegramente su actividad fosfomonoesterásica, la yuxtamedular carece prácticamente de actividad (fig. 16 b); quedan en ésta solamente algunos túbulos ligeramente positivos.

Queremos expresar las diferencias existentes entre las dos especies que hemos manejado, pues mientras en el material de gato el glomérulo es claramente positivo a la reacción, en el material de rata esta parte de la nefrona no muestra actividad enzimática de ningún tipo.

Osificación

El trastorno carencial, además de producir transformaciones en distintos estratos de la esfera endocrina, produce alteraciones en funciones de carácter general, máxime cuando se trata de animales en periodo de crecimiento. El análisis de preparados correspondientes a columna vertebral de ratas sometidas a dieta carencial completa

muestra alteraciones fundamentales en osificación, no solamente histológicas, sino también histoquímicas, en lo que se refiere a las variaciones de contenido en fosfatasa alcalina.

En los preparados teñidos por el método de Martins (fig. 17 a, b), aparte de observarse una disminución global del tamaño de los cuerpos vertebrales se observa un *retraso en la proliferación cartilaginosa*, que hace que *desaparezca la ordenación de las células columnares*, *deteniéndose asimismo el proceso de invasión mesenquimatos* y *reduciéndose la producción de trabéculas*. Se observa entre las la-

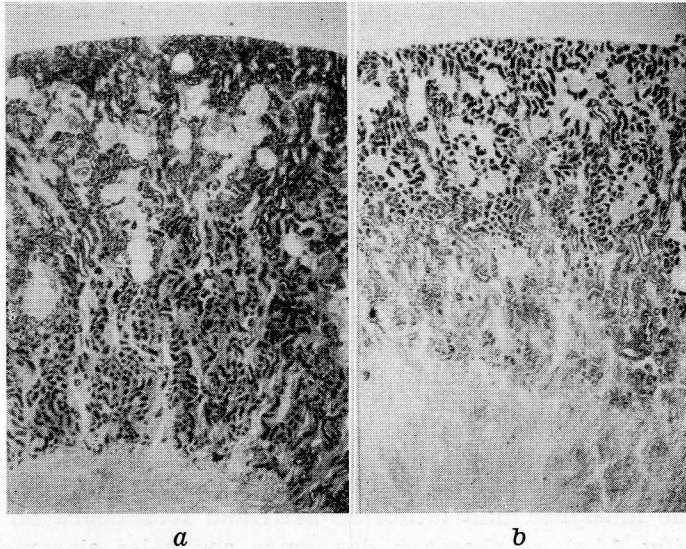


FIG. 16. — Corteza renal de rata adulta. Fosfatasa alcalina. Método del Ca-Co de Gomori. a) Animal normal. b) Animal sometido una semana a hambre y sed. Obsérvese en este último la distribución de la actividad fosfatásica en dos zonas: la cortical superficial con gran actividad y la yuxtamedular inactiva.

gunas medulares y las células en columna una especie de barrera donde las células situadas transversalmente muestran citoplasmas arrugados y núcleos picnóticos antes de que sean englobados por el proceso mesenquimatoso (fig. 17 a').

El centro del cuerpo no muestra espacios, sino que corresponde a un mazacote celular sin ordenación trabecular alguna conteniendo escasos vasos.

En los preparados teñidos por la aldehído-fuchsina (fig. 17 b, b') se observa cómo en los animales controles (b) existe un límite neto marcado por la diferencia de coloración entre la zona proliferativa del cartilago y la zona de invasión vascular, a diferencia de lo que

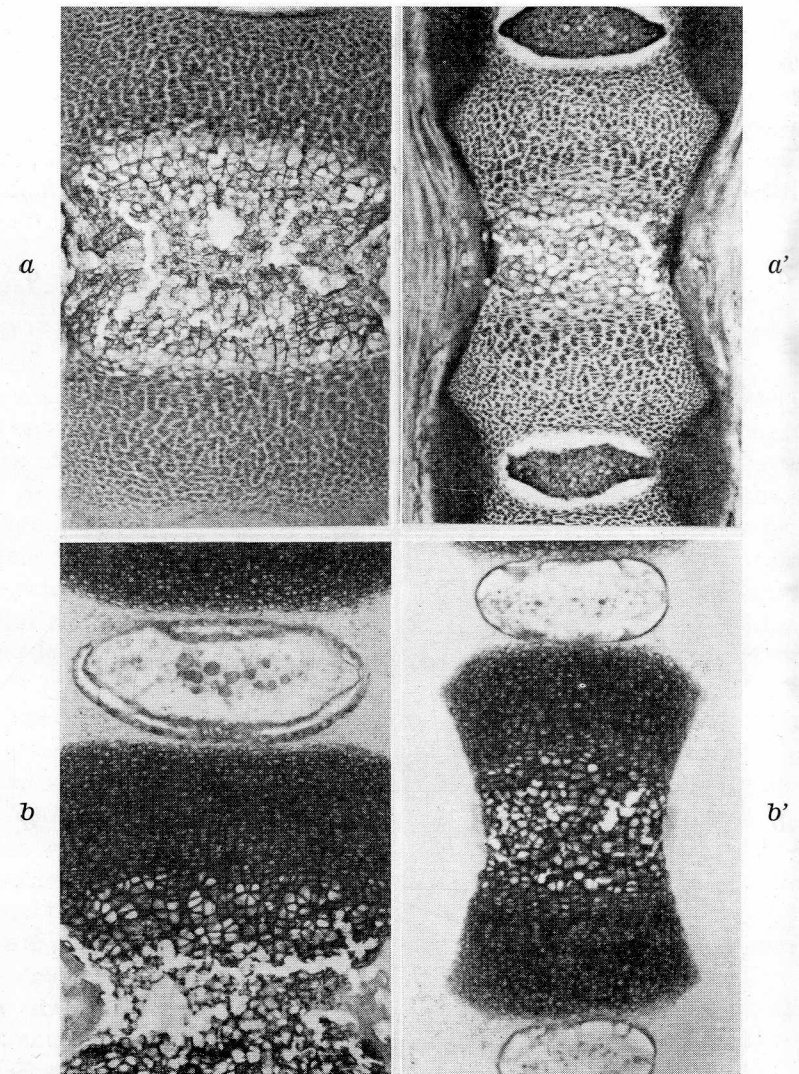


FIG. 17. — Osificación en cola de rata, segmento proximal. a y b) Rata de 10 días. a' y b') Rata de 10 días sometida 3 a hambre y sed. Método de Martins y aldehído fuchsina de Gabe (b y b').

ocurre en los animales experimentales (b'), donde la coloración es prácticamente uniforme en todo el cuerpo vertebral.

Una diferencia fundamental se observa en la constitución del disco intervertebral, sobre todo en lo que a su parte pulposa se refiere. En los preparados teñidos por aldehído-fuchsina (b) el núcleo pulpososo muestra en los animales controles células positivas tanto en la

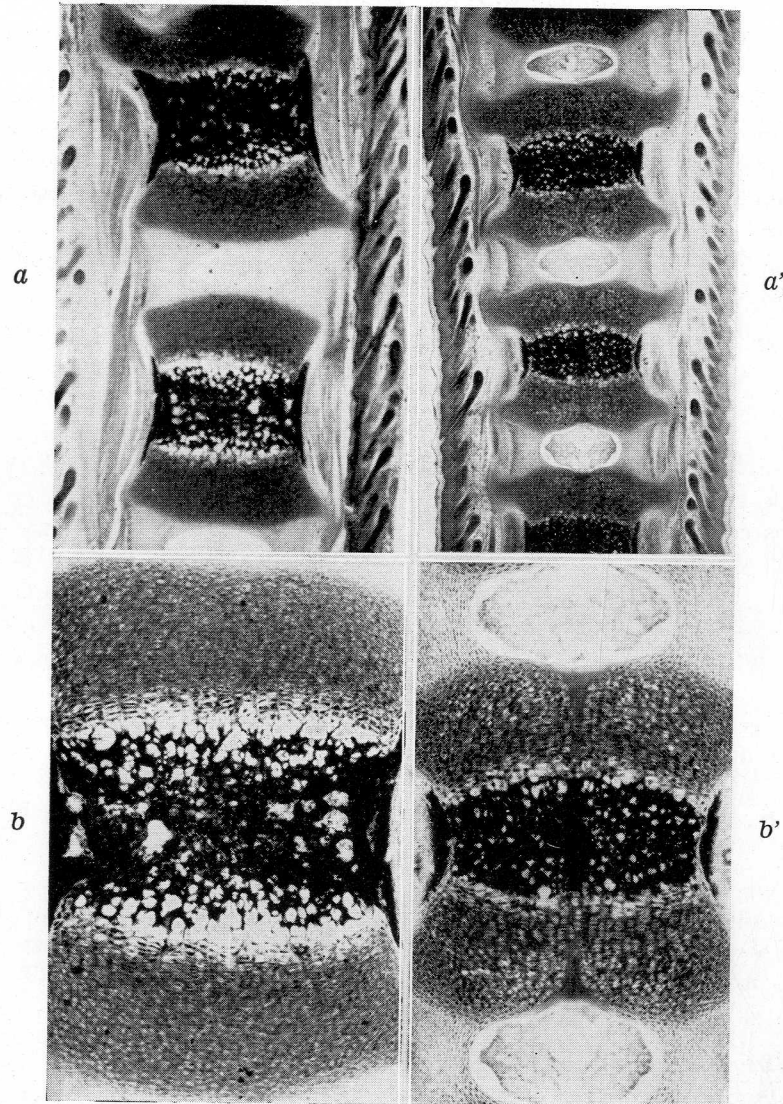


FIG. 18. — Segmento proximal de cola de rata de 10 días. a y b) Animales controles. a' y b') Rata de 10 días sometida 3 a hambre y sed. Nótese la distinta distribución de la actividad fosfatásica. 50 y 125 x.

periferia formando una especie de hilera matriz, como en el centro, donde se observan una serie de elementos flotando en pleno núcleo pulposo. En el animal carencial no se observan apenas elementos aldehído-fuchsina positivos.

Con la técnica de la fosfatasa alcalina del calcio-cobalto de Gomori-Takamatsu se observan variaciones en la actividad fosfatásica alcalina en los cuerpos vertebrales (fig. 18). Así, en los animales controles (a y b) se observa cómo la marcada actividad existente en la zona que se está osificando se detiene bruscamente en el límite profundo de las células en columna, mientras que en los animales experimentales (a' y b') hay un tránsito casi insensible entre cartilago y hueso.

Aparato de la visión

El globo ocular sufre transformaciones a lo largo del proceso carencial, que se manifiestan de una forma crónica a nivel de todos sus componentes, pero que adquieren mayor expresividad a nivel de la córnea. La córnea, que en las preparaciones teñidas por hematoxilina-eosina presentan en animales carenciales una creciente alteración de su epitelio anterior, expresada por arrugamiento de sus elementos celulares, pérdida de su estructura compacta, picnosis de sus núcleos y finalmente multitud de huecos en su estructura, recordando elementos celulares desaparecidos; este tejido muestra alteraciones mucho más notables en las preparaciones teñidas por la técnica de PAS (fig. 19), donde además de manifestarse las lesiones indicadas, se observa una creciente PAS positividad de la membrana de Bowman que contrasta con una degeneración gradual de las células pedales y un aumento creciente de la positividad en el tejido propio de la córnea, que pierde su ordenación reticular característica, para hacerse más compacta e irregular.

Las clásicas lesiones corneales por avitaminosis no han sido observadas en las córneas de los animales sometidos a nuestras dietas carenciales, ya que posiblemente el periodo de alrededor de un mes que dura el experimento es tiempo insuficiente para la aparición de una lesión anatomopatológica de esta categoría.

A nivel del ángulo iridocorneal y en el espesor del iris se aprecian acúmulos melánicos que varían del animal normal al animal experimental, observándose en éste disminuciones de la cantidad de pigmento, tanto en el ángulo como en el revestimiento posterior del iris.

En los preparados determinando fosfatasas alcalinas, se observa en el animal control una actividad que se confunde con la zona pigmentada del iris, mientras que en el animal experimental la reacción difunde a través del estroma, concretándose alrededor de los numerosos vasos de esta estructura.

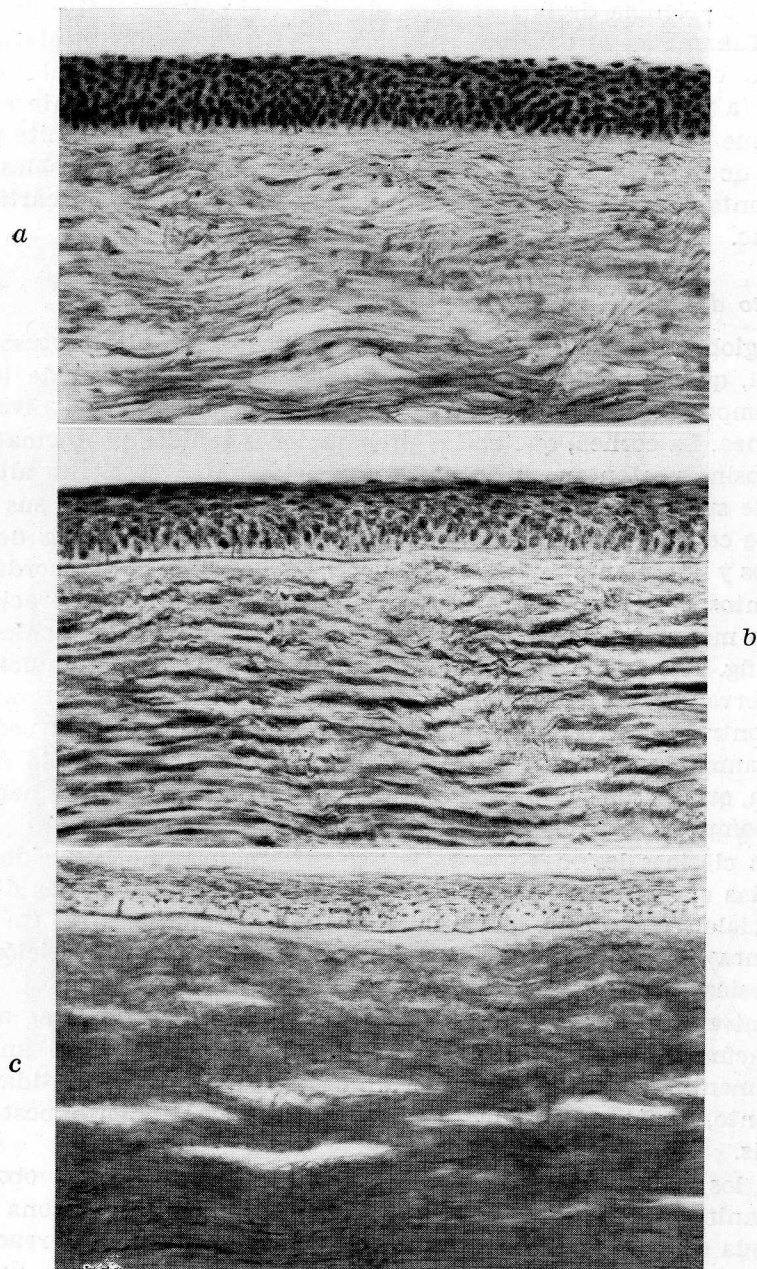


FIG. 19. — Detalle de la córnea mostrando su epitelio anterior. Membrana basal y tejido propio. a) Gato adulto, control. b) Animal sometido a dieta glucídica. c) Animal sometido a hambre y sed. Obsérvese la degeneración del epitelio, los cambios en la basal anterior y el aumento de reacción del tejido propio. Método de PAS. 320x.

Discusión

Al contrastar los resultados del presente trabajo con las observaciones existentes en la bibliografía, pretendemos hacerlo en el orden en que han sido expuestos en el capítulo anterior, haciendo notar que en cada uno de los apartados existen hechos que *concuerdan o difieren con los resultados de otros autores* y a la vez aportaciones de carácter personal que consideramos *originales*, en tanto que no figuran en la bibliografía consultada por nosotros.

De esta manera concordamos con OTSUKA y col. (1962-65), OTSUKA e IBATA (1968), en el *reparto topográfico de los metales pesados en el hipocampo*, como se deduce parcialmente ya de los trabajos de MASKE (1955), FLEISCHHAUER y HORSTMANN (1957) y TIMM (1958 a, b). Relacionamos nuestros resultados con los de SARRAT (1968-69-70), donde se habla de las variaciones de estos iones metálicos en animales carenciales y puntualizamos en sentido original, que son áreas de la fascia dentada y concretamente el campo h_3 del asta de Ammon, donde estas variaciones son más significativas. Resulta curioso cómo en la arborización dendrítica de la capa piramidal, el contenido en zinc detectado por la técnica de Timm, no demuestra prácticamente variaciones en los animales experimentales y sin embargo, a grandes aumentos, se observa una absoluta degranulación metálica de las pirámides en estos animales. Quizás pudiera interpretarse este hecho como que la capa piramidal, que por tener un metabolismo más activo, es la que primero responde a la exigencia metabólica, decreciendo su contenido metálico antes de que reaccionan, al menos visiblemente, el resto de las capas blancas. Es conocida la incorporación del ion zinc a diversos sistemas enzimáticos y, por lo tanto, no es de extrañar que varíe en relación con la mayor o menor actividad de éstos.

De otra parte, resulta muy interesante la correlación existente entre el *asta de Ammon y el páncreas endocrino* en lo que a contenido en zinc se refiere y que es simplemente una expresión más de la capacidad de correlación del sistema endocrino. El comportamiento del páncreas insular pudiera interpretarse en el sentido que al ir entrando el animal en el proceso carencial, va haciendo cada vez una hipoglucemia más marcada, que obliga a poner a disposición la reserva glucogénica del hígado. Para lograr esto es preciso una secreción de glucagón. Cuando el animal en fases premortales ha agotado toda su reserva hepática se produciría un sobreestimulo de las células alfa para intentar mantener la glucemia, determinando en ellas una actividad enzimática extraordinaria que traería en consecuencia su alto contenido de zinc, que nosotros observamos con

carácter de constancia. Si bien es verdad que en algunos animales también las células alfa presentan un mayor contenido en zinc que las beta, no lo es menos que nunca son las diferencias tan acusadas como en los animales experimentales.

Este sentido de correlación que nos da la técnica de Timm entre *allocortex* y *páncreas endocrino*, en lo que a contenido de metales pesados se refiere, es avalado por las técnicas histológicas corrientes, pues SARRAT (1968) expone alteraciones celulares en el hipocampo relacionables con falta de apetencia tintorial a la fuchsina ácida en el método de Martins, por parte de las células alfa del páncreas, en animales sometidos a hambre y sed. En este sentido queremos llamar la atención sobre la utilidad del método de Klüver-Barrera en tanto que las células de los substratos estudiados por nosotros son capaces de variar su apetencia tintorial. Así, en los resultados descritos en el asta de Ammon de los animales carenciales, células hipercrónicas, que han tomado masivamente el luxol-fast-blue, cuando las neuronas piramidales normales se colorean exclusivamente por el violeta de cresilo. Este hecho, señalado por SARRAT (1968), lo relacionamos con posibles estados funcionales o disfunciones de las neuronas, máxime cuando SMITH-AGREDA, J., y FERNÁNDEZ-ORTEGA (1969-70), han visto, al estudiar la maduración de los centros nerviosos, cómo sus neuronas en desarrollo pasan por distintos estadios de apetencia tintorial, relacionables posiblemente con su grado de funcionalismo.

A nosotros este dato de la "apetencia tintorial cambiante" nos ha servido para hallar nuevas correlaciones del *allocortex* en situaciones metabólicas carenciales, y así, el haber observado neuronas arrugadas e hiperromáticas luxol-fast-blue positivas a nivel del núcleo de la habénula, núcleos neurosecretorios supraóptico y paraventricular y sobre todo *núcleo ventromedial del hipotálamo* y en las células endimarias del tercer ventrículo a la altura de este núcleo; hace suponer que todas estas zonas están relacionadas funcionalmente, pues su respuesta es específica y simultánea ante el trastorno de metabolismo. De hecho, abundante bibliografía apoya la función reguladora de la ingesta del citado núcleo hipotalámico.

El tratar de las *colonias basófilas en pleno lóbulo posterior* hipofisario de los animales carenciales nos obliga a relacionar este dato con aquellas bibliografías clínicas que demostraban esa invasión del lóbulo posterior en pacientes fallecidos con graves trastornos metabólicos (eclampsia, uremia, intoxicaciones, comas, etc.), como describieron en su día ANSELMINO, HOFFMANN (1931), BUTNERR (1935), PHILIPP (1935), LEARY y ZIMMERMANN (1937).

Otro punto a tener en cuenta son las transformaciones de los *organos circunventriculares* y en concreto del órgano subfornical, en el que ya PALKOVITS (1966) había demostrado un aumento significativo

del volumen nuclear de sus células en animales sometidos a dietas salinas (ClNa al 2% como agua de bebida). En este mismo sentido, SARRAT (1968) comprobó histoquímicamente el papel osmorreceptor del órgano subfornical al demostrar una franca elevación de su contenido en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en las neuronas cuando los animales eran sometidos a hambre y sed. Nosotros observamos cómo también histológicamente se puede comprobar el aumento de células y el aumento, asimismo, del volumen nuclear y citoplasmático en estas condiciones de trastornos metabólicos.

En los datos regresivos de la *gonada* nos ha llamado la atención en los últimos estadios de hambre y sed cómo se destruye la organización tisular seguida de una sustitución conectiva, y queremos hacer notar cómo el proceso carencial afecta lo primero de todo a las células de Sertoli y solamente a posteriori se desorganiza la espermatogénesis. En último lugar afecta la parte endocrina del testículo.

Los resultados referentes a *osificación* nos expresan fundamentalmente que el trastorno carencial, además de tener una serie de puntos primarios específicos de actuación, tiene acciones inespecíficas de detención de crecimiento, de disminución del contenido en fosfatasa alcalina, etc., con las que se llega a influir sobre la totalidad del organismo.

Al revisar el material del *aparato visual* hemos comprobado cómo experimentalmente se puede llegar a reproducir en cierto modo las lesiones de la clínica a nivel de córnea, y aunque no hemos conseguido típicas ulceraciones corneales, sí se aprecia la destrucción gradual del epitelio en los animales carenciales, y pensamos que el tiempo relativamente corto de la experiencia es la causa de que no se llegue por completo a las lesiones típicas de la clínica humana (MOORE, 1957; BRUCE, 1960; DENNING y SPALTER, 1960; Mc. LAREN, 1963).

Conclusiones

1.^a Las alteraciones metabólicas experimentales producidas por carencia determinan transformaciones de los *allocortex* (asta de Ammon y fascia dentada) expresadas en las variaciones tintoriales de sus neuronas y en una disminución de su contenido en metales pesados. El método de Klüver-Barrera detecta estas transformaciones al tomar las neuronas el luxol-fast-blue en lugar del violeta de cresilo. Este fenómeno de la "apetencia tintorial cambiante" es el índice que señala la capacidad y el grado de reacción de cada zona, resultando ser las de más alta capacidad reactiva el h₃ del asta de Ammon y la parte alta de la fascia dentada.

2.^a El asta de Ammon y fascia dentada presentan, entre otras, estrechas relaciones funcionales con *epitálamo*, *organos circunven-*

triculares e hipotálamo, afectándose simultáneamente ante el proceso carencial, el ganglio de la habénula, sobre todo en su parte alta yuxtependimaria, los plexos coroideos, el OSF y el núcleo ventromedial, a nivel de cuyas estructuras se observan neuronas luxol-fast-blue positivas de carácter reactivo.

3.^a El trastorno carencial determina en *hipocampo y páncreas endocrino*, en lo que a contenido en zinc se refiere, transformaciones paralelas reveladas por la técnica de Timm, pues desaparece este ion metálico simultáneamente del protoplasma de las células piramidales del Ammon y de las células beta del páncreas, incrementándose el contenido de las alfa, haciendo pensar en una posible relación de ambas estructuras como reguladores metabólicos.

4.^a Las transformaciones concomitantes del asta de Ammon e hipotálamo en los animales experimentales pone de relieve su papel conjunto en el control de funciones metabólicas alteradas en la *clínica humana*, cuando se lesionan estos substratos (rabia, eclampsia, lesiones traumáticas accidentales o quirúrgicas del diencefalo).

5.^a La reacción general de todo el sistema endocrino a lo largo de nuestra experiencia carencial avala una vez más la existencia de interacciones recíprocas entre todos los substratos analizados.

Resumen

Se realiza un estudio sistemático de las transformaciones progresivo-regresivas de diversos substratos neuroendocrinos y viscerales bajo el influjo de trastornos metabólicos experimentales producidos por dietas de tipo carencial, parciales o completas.

Llama la atención bajo estas circunstancias las alteraciones de los allocortex (hipocampo) a base de modificaciones en la capacidad tintorial de sus células, y variaciones del contenido en metales pesados de estas cortezas antiguas. Algunas áreas de la fascia dentada, y en especial la zona h_3 del asta de Ammon, se manifiesta como las áreas allocorticales de máxima capacidad reactiva ante el trastorno carencial. Se aprecia una estrecha relación entre estas alteraciones allocorticales y las observadas a nivel de los núcleos neurosecretorios y ventromediales del hipotálamo, de tanto valor éstos en la regulación de la ingesta. Es significativa la variación en el contenido en iones de metales pesados (Zn, Cu, Fe) en los allocortex carenciales, en relación con transformaciones del páncreas endocrino de alto contenido en zinc como es sabido.

Es notable la reacción del epítalamo y órganos circunventriculares al proceso carencial y sobre todo a la deshidratación, que hace adoptar al órgano subfornical un aspecto de transformación progresiva proporcionada al grado de aumento de presión osmótica del medio interno.

El resto de la esfera endocrina reacciona como es clásico al alarmígeno carencial, de la forma como se describió en su día la dinámica de la suprarrenal, tiroides, gonadas (SELYE, TONUTTI, KRACHT, MUSCHKE), aunque se precisan en el trabajo a nivel del tiroides y gonadas particularidades originales que matizan la dinámica de estos órganos.

Queremos resaltar que la mayor parte de las transformaciones descritas son reversibles y tanto más rápidamente cuanto menos avanzado se encuentra el trastorno metabólico.

Summary

The experimental metabolic alterations produced because of a carencial motif, determine transformations of the allocortex, archicortex and also of the circunventricular organs including the epithalamus and hypothalamus. These alterations have some relations with the ones in pancreas, adrenal-Glands, thiroids and genitals, this shows us the relations between the studied subjets.

Zusammenfassung

Die durch Stress zur Experimentation erzeugten Stoffwechselstörungen, bestimmen Veränderungen der Allokortex und Archikortex sowie der umgebenden ventrikulären Organe einschliesslich des Epithalamus und Hypothalamus. Zwischen diesen Veränderungen besteht eine gewisse Relation, sowie, mit denen des Pankreas, Nebenniere, Schilddrüsen und Genitalien, was zur besseren Kenntnis der Interrelation des studierten Substrats beiträgt.

Resumé

Les troubles métaboliques expérimentaux produits par carence, déterminent des transformations des allocortex et archicortex, ainsi que des organes circunventriculaires y compris l'épithalamus et l'hypothalamus. Ces altérations gardent entr'elles un certain rapport, de même qui avec celles du pancréas, surrénal, thyroïdes et génitaux, ce qui nous apporte une meilleure connaissance des rapports du substrat étudié.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1954): Fases experimentales de transformaciones progresivo-regresivas de las suprarrenales en el gato. «An. Anat.», **3**, 297.
- (1955): Aspectos de la actividad genital en relación con la suprarrenal e hipofisis. «An. Anat.», **4**, 279.
- ANSELMINO, K. J., und F. HOFMANN (1931): Antidiuretische Komponente des Hypophysenhinterlappenhormons bei Nephropathie und Eklampsie der Schwangeren. «Klin. Wschr.», **2**, 1438.
- ATWELL, W. J. (1918): The development of the hypophysis of the Anura. «Anat. Rec.», **15**, 73.
- BUTNER (1935): Die Hypophyse bei Eklampsie. «Zbl. Gynäk.», **59**, 2445.
- BAILLIF, R. M. (1938): Microscopic changes in the hypophysis of the albino rat following exposure to cold, and their relationship to the physiology of secretion. «Amer. J. Anat.», **62**, 475.
- BAUMANN, G. U. (1964): Histochemische Untersuchungen an Nierenphosphatase erwachsener Ratten. «Histochemie», **4**, 150.

- BENSLEY, J. (1916): The influence of diet and iodides on the hyperplasia of the thyroid gland of opossum in captivity. «*Amer. J. Anat.*», **19**, 57.
- BEVACQUA, A. (1911): Sulla presenza di vere formazioni glandolari nel lobo posteriore dell'ipofisi cerebrali di un bambino. «*Anat. Anz.*», **38**, 445.
- BENOIT, J., et I. ASENMACHER (1955): Le controle hypothalamique de l'activité préhypophysaire gonadotrope. «*J. Physiol.*», **47**, 427.
- CUSHING, H. (1934): Hyperactivation of the neurohypophysis as the pathological basis of eclampsia and other hypertensive states. «*Amer. J. Path.*», **10**, 145.
- CHOWDHURY, A. K., and E. STEMBERG (1964): A quantitative study of the effect of heat germinal epithelium of rat testes. «*Amer. J. Anat.*», **115**, 509.
- DUNCAN, D. (1955): Electron microscopy of the hypophysis, pars neuralis. «*Anat. Rec.*», **121**, 430.
- (1956): An electron microscopic study of the neurohypophysis of a bird *Gallus domesticus*. «*Anat. Rec.*», **125**, 457.
- DEIMLING, O., and H. NOLTENIUS (1964): Histochemische Untersuchungen über die Geschlechtsunterscheide der alkalischen Nieren-phosphatase bei erwachsenen Ratten. «*Z. Zellforsch.*», **3**, 500.
- DANIELLI, J. F. (1945): A critical study of techniques for determining the cytological position of alkaline phosphatase. «*J. Exp. Biol.*», **22**, 110.
- EWERS, K. H. (1936): Über die Epiteldesquamation in der Schilddrüse. «*Beitr. path. Anat.*», **97**, 350.
- ESCOLAR y col. (1957): Aportaciones a la dinámica neuroendocrina expresada en transformaciones del substrato anatómico. «*An. Anat.*», **11**, 5.
- ELFTMAN, H. (1936): Sertoli cells and testis structure. «*Amer. J. Anat.*», **113**, 25.
- EULER, V. C. (1961): On the significance of the high zinc content in the hippocampal formation. «*Physiologie de l'hippocampe*». Montpellier.
- FRANSEN y col. (1954): The effects of various levels of dietary protein on skeletal growth and endochondral ossification in young rats. «*Anat. Rec.*», **119**, 247.
- FARNER, D. S., and A. OKSCHE (1962): Neurosecretion in birds. «*Gen. Comp. Endocr.*», **2**, 113.
- FRIEDMAN, H., and L. LOES (1934): The mitotic index on the thyroid gland in guinea pig and rat. «*Anat. Rec.*», **59**, 5.
- FLEISCHHAUER, K., and E. HORSTMANN (1957): Intravitale Dithizonfärbung homologer Felder der Ammonsformation von Säugern. «*Z. Zellforsch.*», **46**, 598.
- GIGHI, C. (1938): Contributo allo studio della ghiandola tiroide in condizioni sperimentali. «*Arch. Ital. Anat.*», **40**, 268.
- GOMORI, G. (1955): Histochemistry of human sterases. «*J. His. Cyt.*», **3**, 479.
- ITO, T., H. KOBAYASHI and K. TAKAHASHI (1964): The parafollicular cells in the thyroid gland of the Badger. «*Arch. Jap.*», **24**, 113.
- JACKSON, C. M. (1916): Effects of inanition upon the structure of the thyroid and parathyroid gland of the albino rat. «*Amer. J. Anat.*», **19**, 305.
- (1917): Effects of inanition and refeeding upon growth and structure of the hypophysis in the albino rat. «*Amer. J. Anat.*», **21**, 321.

- KAWASHIMA, S., y col. (1964): The effect of dehydration on acid-phosphatase activity, catheptic proteinase activity, and neurosecretion in the hypothalamo-hypophysial system of the white-crowned sparrow, *Zonotrichia Leucopteryx Gambelii*. «*Z. Zellforsch.*», **62**, 149.
- KLÜVER, H., and E. BARRERA (1953): A method for combined staining of cells and fibers in the nervous system. «*J. Neuropath. exp. Neurol.*», **12**, 400.
- KRACHT, J. (1953): Über Wechselbeziehungen zwischen Nebennierenrinden und Schilddrüse in Tierexperiment. «*Deutsch. Ges. Path. Freiburg*».
- LATALSKI, M. (1962): Histochemical investigations on the sulfhydryl (SH) groups in the cells of the thyroid vesicle. «*Ann. Univ. M. Curie.*», **17**, 297.
- LAWZEWITSCH, I. (1969): Development of the neurosecretory hypothalamic-hypophysial system of the chick embryo as evidenced in total preparation. «*Acta anat.*», **72**, 83.
- LEGAT, H. (1959): Contribution a l'étude morphologique et expérimentale du système hypothalamo-énohypophysaire de la poule Rhode-Island. These, Lausanne. Nancy.
- LEARDY, D. C., and H. M. ZIMMERMANN (1937): Basophil infiltration in the neurohypophysis. «*Amer. J. Pathol.*», **13**, 213.
- LOWRY, O. H., y col. (1954): The quantitative histochemistry of brain. III Ammonshorn. «*J. biol. Chem.*», **207**, 39.
- LUDWIG, K. S. (1954): Beiträge zur Schilddrüsenstruktur. «*Act. Anat.*», **11**, 19.
- MASKE, H. (1955): Über den topochemischen Nachweis von Zink in Ammonshorn verschiedener Säugetiere. «*Naturwiss.*», **42**, 424.
- MENOZZI, P. G. (1961): Endocrine gland and bone. «*Arch. Path.*», **17**, 1125.
- MUSCKE, E. (1955): Histometrische Untersuchungen an Rattenhoden nach Hypophysektomie und nach Choriogonadotropinzufuhr. «*Endokrinologie*», **30**, 25.
- NEUMANN (1963): Die Morphokinetik der Schilddrüse. Verlag. Stuttgart.
- ORTMANN, R. (1951): Über experimentelle Veränderungen der Morphologie des Hypophysenzwischenhirnsystems und die Beziehung der sog. Gomerisubstanz zum Adiuretin. «*Z. Zellforsch.*», **36**, 92.
- (1954): Cytochemical Study of the physiological activation in the pars intermedia of *Rana pipiens*. «*Anat. Rec.*», **119**, 1.
- (1954): Veränderungen des Hypophysenzwischenlappens der Ratte in Durstversuch. «*Anat. Anz.*», **101**, 117.
- OTSUKA, N., y col. (1965): Über den histochemischen Nachweis von Zink in der Hippocampus formation verschiedener Säugetiere. «*Acta anat. Nippon*», **40**, 267.
- , and Y. IBATA (1968): Über die Veränderungen des Zinkgehaltes in der Hippocampusformation der Ratte nach Dithizon-Alloxan und Oxinzufuhr. «*Histochemie*», **12**, 357.
- OOTA, and H. KOBAYASHI (1962): Fine structures of the median eminence and pars nervosa of the pigeon. «*Annot. Zool. Japon*», **35**, 128.
- PALKOVITS, M. (1968): Karyometrische Untersuchungen zur Klärung der osmo- bzw. volumenregulatorischen Rolle des Subcommissuralorganes und seiner funktionellen Verbindung mit der Nebennierenrinde. «*Z. Zellforsch.*», **84**, 59.

- PHILIPP, E. (1935): Diskussion zum Vortrag Büttner in Zbl. «Gynäk. Zbl. Gynäk.», **60**, 244.
- ROBERTIS, E. DE, y L. PRIMAVESI (1942): Citología de la neurohipófisis de la rata después de la privación de agua y la inyección de pitresina. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **18**, 363.
- RODECK, H. (1962): Untersuchungen über den Einfluss der Dehydratation auf die postnatale Entwicklung der Regulationszentren des Wasserhaushaltes. «Annal. Nestle». Frankfurt.
- ROSE, M. (1927): Der Allocortex bei Tier und Mensch. «J. Physiol. u. Neurol.», **36**, 242.
- RIENHOFF, W. F. Jr. (1930): Gros and microscopic structure of thyroid gland in man. «Contrib. Embryol.», **123**, 99.
- SABATINI, D., and DE ROBERTIS, E. (1961): Ultrastructural zonation of adrenocortex in the rat. «J. Biophys. Cytol.», **9**, 105.
- SARRAT, R. (1966): Modificaciones del substrato adrenal, tiroideo y gonadal Producidas por alteraciones metabólicas. «An. Anat.», **35**, 213.
- (1960): Variaciones del substrato anatómico tiroideo bajo el influjo del hambre y la sed. «An. Anat.», **34**, 23.
- (1967): Modificaciones de la pars intermedia y posterior de la hipófisis producidas por el hambre y la sed. «An. Anat.», **16**, 59.
- (1967): Sobre el contenido celular del folículo tiroideo en condiciones experimentales. «An. Anat.», **38**, 57.
- (1968): Veränderungen der Allocortex nach experimentellen Stoffwechselfstörungen. «Anat. Anz.», **121**, 383.
- (1968): Actividad fosfatasa alcalina en la corteza renal de la rata blanca a lo largo del desarrollo postnatal. «An. Anat.», **41**, 275.
- SCHARRER, E. (1940): Vascolaritation and vulnerability of the cornu ammonis in the opossum. «Arch. of Neur.», **44**, 483.
- SELYE, H., et S. HALL (1943): Further studies concerning the action of sodium chloride on the pituitary. «Anat. Rec.», **86**, 579.
- (1949): Textbook of Endocrinology. Eit. Acta Endocrinol, 261, Montreal, Canadá.
- SMITH-AGREDA, J., e I. FERNÁNDEZ-ORTEGA (1969): Beitrag über die Reifung der grauen Substanz des Zentral, nervesystems nach der Klüver-Barrera-Methode. «Verh. Anat. Ges.», **63**, 50-505.
- STENDELL, W. (1913): Zur vergleichenden Anatomie und Histologie der Hypophysis cerebri. «Arch. Mikros. Anat.», **82**, 289.
- TICE, L. W., and R. J. BARNETT (1963): The fine structural localization of some testicular phosphatases. «Anat. Rec.», **147**, 43.
- TIMM, F. (1958 a): Zur Histochemie der Schwermetalle. Das sulfid-silberverfahren. «Dtsch. Z. ger. Med.», **46**, 706.
- (1958 b): Zur Histochemie des Ammonshorngebietes. «Z. Zellforsch.», **48**, 548.
- TONUTTI, E. (1953): Experimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierinde. «Verhandlungen der Deutschen Gesellsch. f. Pathologie», **36**, 202 .
- UCHIMURA, Y. (1928): Über die Gefassversorgung des Ammonshorns. «Z. Neur.», **112**, 1.

- (1928): Zur Patogenese der örtlich elektiven Ammonshornerkrankung. «Z. Neurol.», **114**, 567.
- WINGSTRAND, K. G. (1950): The structures in the avian pituitary responsible for the transfer of impulses from the nervous to the hormonal system. Proc. of the Xth. Intern. Ornithol. Congress.
- (1951): The structure an development of the avian pituitary. C. W. R. Gleerup. Lung. Suede.
- (1953 a): On the existence in vivo of «Herring bodies» and granules in the interstitial colloid of the neurohypophysis. «Z. Zellforsch.», **38**, 421.
- (1953): Neurosecretion an antidiuretic activity in the chick embryo with remaks on the subcommisural organ. «Ark. F. Zool.», **2**, 6.
- WOLLMAN, S., and col. (1964): Localization of esterase and acid phosphatase in granules and colloid doplets in rat thyroid epithelium. «J. Cell. Biol.», **21**, 191.

Dr. A. FACI

Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)



APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DE LA ULTRA- ESTRUCTURA DEL ALLOCORTEZ AMMÓNICO*

POR

E. FERRES-TORRES

EL allocortex amónico viene siendo una zona que cada vez adquiere mayor importancia en el estudio del comportamiento del individuo, debido a encontrarse en una zona de encrucijada con los elementos que integran la esfera del instinto. Su substrato anatómico muestra una extraordinaria positividad a los procederes colinesterásicos, como demostraron GEREBTZOFF (1959), ORTMANN (1961), SHUTE y LEWIS (1961), e incluso los recientes trabajos de BLACKSTAD y col. (1956, 1958, 1962, 1963, 1964) han abundado en este sentido, llegando a establecer la distribución de la colinesterasa en los sistemas hipocámpales de la rata, así como la relación de esta distribución con los sistemas aferentes a ellos, demostrando cómo si bien es difuso en todos ellos, guarda una mayor concentración en el allocortex amónico, y aparece más difusamente en las regiones vecinas. Aparte de estas distribuciones de las tasas de colesteroína, las células de los diferentes niveles del allocortex amónico han tenido respuestas de tipo histoquímico a procederes clásicos, como demuestran ORTMANN (1964) y nosotros al PAS, C-H-P y al permanganato azul alcian (PBA), (FERRES-TORRES, E., y V. SMITH-AGREDA, 1967, 1968). Estos trabajos nuestros nos indicaron que estas respuestas positivas no interesaban de una manera homogénea a todos los niveles o campos del allocortex amónico, sino que en unas zonas eran más positivas que en otras, llegando incluso a ser algunas de ellas completamente negativas. Por lo que respecta a esta positividad, se apreció que las zonas más positivas eran las correspondientes a los "campos CA₄, CA₃" y CA₁ de

* Cátedra de Anatomía "A" de la Facultad de Medicina de Valencia. Director: Prof. V. Smith-Agreda.

LORENTE DE NO; campos que por otra parte en lo que se refiere a la constitución del stratum oriens, sabemos ya desde los trabajos de CAJAL (1911) que se hallan relacionados entre sí, por las dicotomizaciones de los cilindroejes de sus células piramidales, que en su ramificación recurrente llegan a comunicar estas dos zonas tan distantes entre sí.

Por otra parte, los citados trabajos anteriores nos hablan ya de la extraordinaria complejidad de los diferentes tipos celulares de las distintas zonas que integran el allocortex amónico en estos niveles; complejidad que dista mucho de esa sistemática en tres zonas en que han querido resumirla los autores modernos.

A la vista de estos hechos hemos deseado realizar un estudio seriado de la corteza allocortical, apoyándonos en los estudios precedentes, morfológicos e histoquímicos, pero sobre todo deteniendo nuestra atención en la ultraestructura, y concretamente en este trabajo en lo que respecta al stratum oriens.

Material y métodos

Para el presente trabajo hemos utilizado como animal el gato, debido a su desarrollo del allocortex amónico y a que sobre él hemos realizado prácticamente casi todas nuestras investigaciones sobre esta región, y el acoplamiento de estos estudios nos centra en la unidad de resultados.

Los animales utilizados han sido diez machos adultos. Sus pesos han oscilado de 2.500 a 3.250 gr.

El sacrificio se ha realizado previa anestesia con nembutal, procediendo a continuación a la fijación con glutaraldehído, siguiendo las pautas clásicas de pH y tampones.

Una vez perfundidos los animales, se procedió a la extracción de la masa encefálica, disecando de ella la porción correspondiente al allocortex amónico, del cual se tallaron los bloques correspondientes al stratum oriens. Queremos indicar aquí que dada la dificultad que ofrecía la localización de la zona, recurrimos a realizar la perfusión del glutaraldehído añadiendo a ésta azul de toluidina al 1 por 1.000, que nos permitió identificar a la lupa las estructuras con mayor facilidad.

Obtenidos los bloquitos de uno a uno y medio milímetro cúbico, se continuó la fijación por el proceder clásico del ácido ósmico. Los bloques se incluyeron en durcopan, se seccionaron en ultramicrotomía. Fueron sombreados o contrastados al plomo y nitrato de uranilo y dispuestos para su estudio.

Resultados obtenidos

Al realizar el estudio hemos podido apreciar la presencia de varios tipos celulares:

En primer lugar nos ha llamado la atención la presencia de unas células (fig. 1), de núcleo (N) voluminoso, con abundante cromatina

(CR) distribuida fundamentalmente por la periferia, originando una serie de acúmulos irregulares que quedan en la hoja interna de la membrana nuclear. En el resto del núcleo aparecen también acúmulos de cromatina de aspecto más o menos estrellado, que se conglomeran en las proximidades del nucleolo (Nu). Este nucleolo es de aspecto irregular y ocupa el centro del núcleo.

La membrana nuclear (Mn) es doble, quedando una neta separación entre las dos hojas de ella. La hoja externa presenta irregularidades correspondientes a ribosomas anclados sobre ella. No se aprecia en el protoplasma la presencia de un retículo protoplásmico organizado en forma laminar. Los ribosomas aparecen independientemente, en escaso número, y se aprecian espacios vacíos. Las mitocondrias (M) se muestran de aspecto esférico al corte.

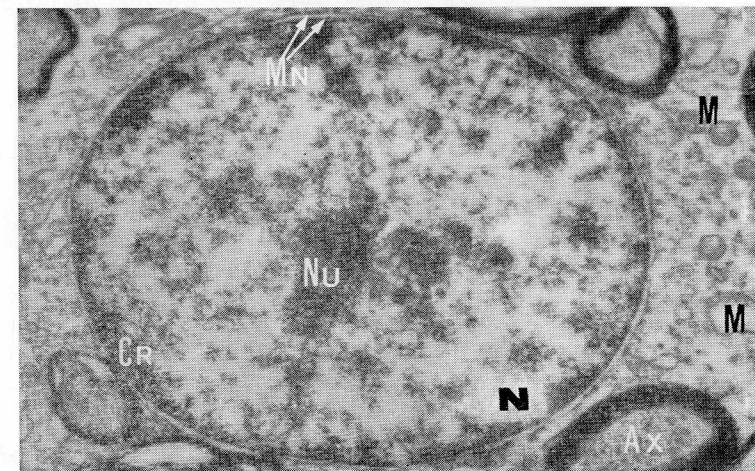


FIG. 1. — Corresponde a una célula de núcleo claro y de escaso protoplasma; obsérvese cómo la célula se encuentra rodeada de fibras mielínicas.

Un detalle digno de hacerse notar es el escaso desarrollo del protoplasma, de tal forma que en muchos lugares de las células el núcleo está prácticamente casi en contacto con la membrana celular.

Un hecho que llama la atención es que rodeando a este elemento celular se aprecian fundamentalmente fibras de tipo mielínico (Ax). Estas fibras se insinúan entre las células de este tipo, quedando únicamente separados estos elementos por este tipo de fibras y por las secciones astrocíticas del neuropilo.

Otro tipo celular que llama la atención es el correspondiente a la figura 2.^a, en el cual podemos apreciar la presencia de una célula que a grandes rasgos recuerda a la precedente por lo que respecta

al núcleo (N) de gran desarrollo de aspecto redondeado, sin accidentes, aunque con una cromatina (Cr) más densa en su distribución periférica, acumulada contra la membrana interna nuclear, y no de una manera homogénea, sino tendente más a un polo del núcleo.

La membrana nuclear (MN) es doble y también se aprecia claramente la separación entre las hojas que la constituyen.

El protoplasma se halla repartido de una manera irregular, de tal forma que el núcleo aparece excéntrico en su localización; estando en una de las caras casi inmediatamente en contacto con la membrana nuclear la membrana celular (Mc), quedando entre ambas una ligera cantidad de protoplasma.

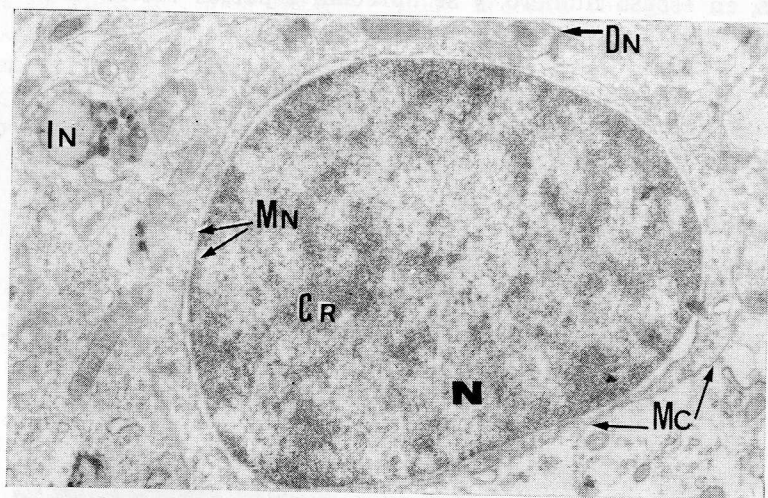


FIG. 2. — Corresponde a una célula de las de núcleo de variedad oscura. Obsérvese el escaso desarrollo del protoplasma. Es interesante el destacar la situación excéntrica del núcleo.

En el protoplasma tampoco se aprecia la constitución de un ergastoplasma laminar, sino que los ribosomas aparecen sueltos. Las membranas celulares llegan a ponerse en contacto con las membranas de otras células de este tipo. No es extraño encontrar en estas células la presencia en el interior de sus protoplasmas de inclusiones (In). Estas inclusiones son entre sí de distinta densidad a los electrones, e incluso una misma inclusión puede presentar zonas de diferente densidad a los electrones.

Otro detalle de tenerse en cuenta es el hecho de que al rededor de las anfractuosidades de estas células se aprecian formaciones del neuropilo, que al ponerse en contacto con la membrana celular presentan una densificación (Dn), dejando una claridad entre la membrana celular y la del elemento que llega a ponerse en contacto. Este

tipo de conexión de proximidad que no se apreciaba en las células primeramente descritas, resalta así mismo el hecho de que en la proximidad de las células, que ahora nos ocupa, no existen las presencias de elementos mielínicos. Por otra parte, aun teniendo un núcleo circular y sin anfractuosidades, la distribución de la cromatina, y la densidad del núcleo es diferente. Esta diferencia estriba fundamentalmente en que la cromatina no se distribuye de una manera homogénea, sino que tiene una cierta tendencia a acumularse fundamentalmente hacia un extremo de la célula (siempre dentro de la membrana nuclear). Por otra parte, la densidad del núcleo de este segundo tipo de células es muy superior a las primeras.

A parte de estos tipos celulares que hemos descrito, tenemos las células piramidales (fig. 3), caracterizadas por presentar una forma piramidal, con un núcleo (N) de aspecto piramidal con un predomi-

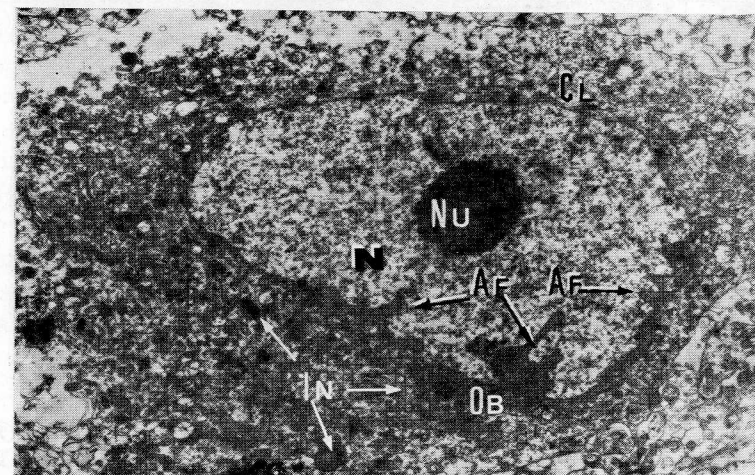


FIG. 3. — Corresponde al recuadro de la figura precedente. Obsérvese la separación correspondiente a la membrana externa e interna nuclear. Es interesante destacar ciertos aumentos de densidad entre la membrana celular y los elementos circundantes.

nio de un eje sobre el otro. Otra de las características de este núcleo es la serie de anfractuosidades (AF) que presenta, de tal manera que su contorno no es regular, sino que en gran parte de su superficie se aprecian un enorme número de accidentes, plasmados fundamentalmente en una serie de entrantes y salientes. Por otra parte, esta serie de anfractuosidades no están repartidas de una manera homogénea en toda la superficie nuclear, sino que existen zonas del núcleo en donde más abundan los accidentes (ya veremos que estas variaciones contrastan con la densidad protoplásmica).

Por lo que respecta a los caracteres del contenido nuclear, nos llama poderosamente la atención el hecho de que no existan acúmulos de cromatina; más bien podríamos hablar de unos núcleos pobres en cromatina. Así mismo, la cromatina que existe está distribuida de una manera muy homogénea, tanto en la periferia como en el centro del núcleo, quedando limitada a un punteado homogéneo.

Lo que si llama la atención es el extraordinario contraste del nucleolo (Nu) que ocupa el centro del núcleo, que presenta un aspecto redondeado de contorno bastante uniforme, y cuya densidad destaca netamente contra la claridad del núcleo.

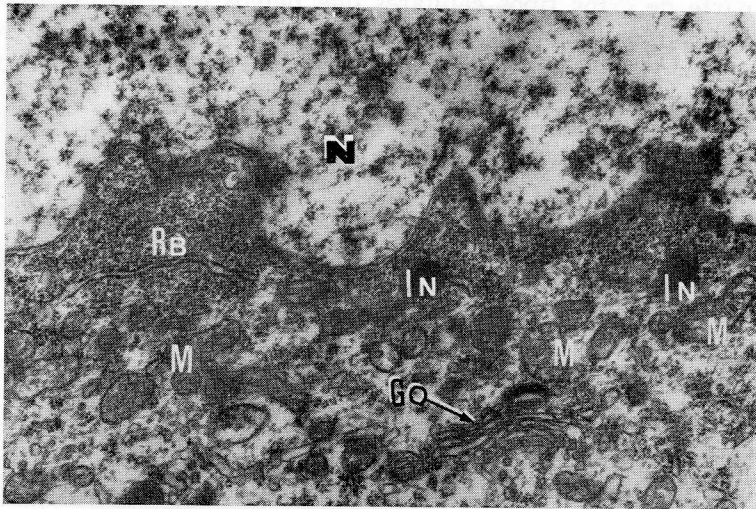


FIG. 4. — Corresponde a una célula piramidal del estratum oriens. Obsérvese la regular distribución de la escasa cromatina nuclear. Es interesante observar la irregularidad de contornos que presenta el núcleo, así como la diferente densidad del protoplasma.

Por lo que representa al protoplasma, ya a estos aumentos nos llama la atención la diferencia de densidad que ofrece a los electrones; existen prácticamente dos zonas, una densa (Ob) que está yuxtannuclearmente, pero fundamentalmente situada en las proximidades de la zona anfractuosa del núcleo. Mientras que el protoplasma se muestra más claro (CL) en la zona en donde la superficie del núcleo ofrece menores irregularidades. También se aprecian en el espesor del protoplasma la presencia de inclusiones (IN) de gran densidad y de mayor tamaño que los ribosomas. La localización de estos elementos suele realizarse hacia la parte del núcleo próxima a la zona más clara del protoplasma, es decir, allí donde la concentración de ribosomas es menor.

La membrana nuclear a estos aumentos no es fácil de diferenciar en sus dos membranas.

Al realizar el estudio de una de estas células piramidales a mayores aumentos (fig. 4), podemos apreciar que la densidad mayor protoplasmática yuxtannuclear en las zonas anfractuosas de las superficies nucleares son debidas a un mayor acúmulo de ribosomas (RB). Por otra parte, estos ribosomas se encuentran sueltos o libres y no adheridos al retículo ergastoplásmico. Además, este retículo ergastoplásmico está poco desarrollado, apareciendo solamente de cuando en cuando algunas laminillas del mismo aisladas y con ribosomas adheridos a sus contornos.

Las mitocondrias (M) son muy abundantes, y en su mayor parte son de aspecto circular, mostrando crestas transversales. Estas mitocondrias se encuentran distribuidas por todo el contorno protoplasmático, pero más fundamentalmente constituyendo una zona perinuclear y en la proximidad del aparato de Golgi (Go).

Marginando a esta zona de mayor densidad ribosómica y de mayor acúmulo mitocondrial se encuentra la porción periférica del protoplasma más clara, y en la cual se ven granos de mayor tamaño y de mayor densidad. El contenido de estos granos no es homogéneo, sino que suelen presentar en el centro unos cuerpos de aspecto rectangular y (que al estudiar cortes seriados) presentan el aspecto de paralelepípedos, como si fuesen incrustaciones de elementos cristalinos. Estos cuerpos suelen encontrarse en número de uno o dos en cada inclusión protoplasmática, de los cuales uno es ligeramente mayor que el otro.

La membrana celular se distingue del neurópilo, por la diferente densidad que presenta el contenido protoplasmático de estas células que incluso en las regiones de poca densidad es siempre muy superior al del neurópilo.

Es interesante el destacar el enorme desarrollo que presenta el aparato de Golgi (Go) de estas células, mostrando una serie de cavidades de diferente luz que circundan una amplia zona del protoplasma. Por otra parte, este aparato de Golgi se encuentra próximo a las zonas anfractuosas nucleares, es decir, a las zonas de mayor densidad protoplásmica, o lo que es lo mismo a las zonas de mayor acúmulo de ribosomas sueltos. También nos llama la atención la presencia en las proximidades de las cavidades de este aparato de Golgi de elementos mitocondriales.

En las periferias de estas células piramidales se encuentran tanto fibras mielinizadas (fig. 5a) como formaciones desprovistas de mielina, siendo relativamente frecuente el poder sorprender sinapsis axodendríticas, como la que representa la figura 5b, en la cual se apre-

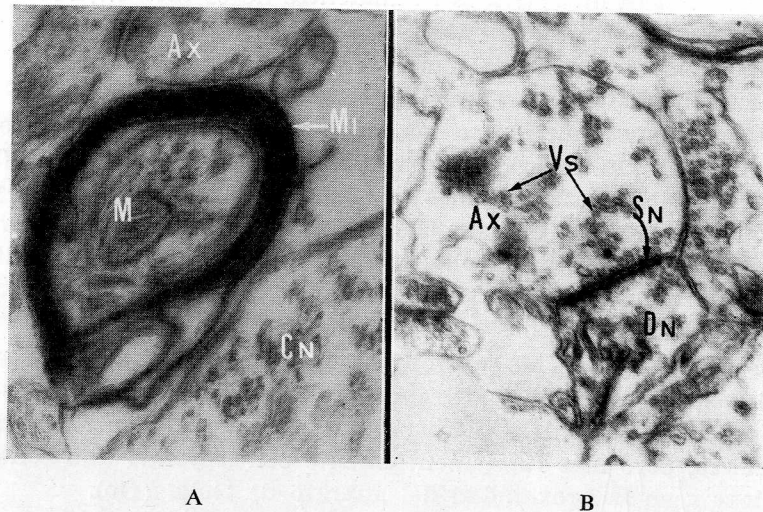


Fig. 5. — Corresponde a una visión en el escalón 2.º de aumento del electrónico. Puede apreciarse la claridad del núcleo y la homogeneidad de distribución de la sustancia nuclear. Se aprecia la membrana nuclear doble, así como la membrana celular, las inclusiones y el gran desarrollo del aparato de Golgi.

cia el aspecto aplanado de fondo de botellita de las dos zonas, con una mayor densidad de las superficies que se ponen en contacto, y la clara y definitiva presencia de las vesículas sinápticas.

Discusión

Hemos realizado un estudio a microscopía electrónica de los elementos integradores del stratum oriens, ciñéndose fundamentalmente a las porciones de este stratum oriens de los campos CA₁, CA₃ y CA₄, de LORENTE DE NO (1934), habiendo observado como existen diferentes tipos de células, que ya fueron descritas por CAJAL (1911).

Es interesante el observar que destacan de una manera neta las formaciones de las células piramidales, que aunque no son netamente del estrato oriens, como ya indica CAJAL (1911), en el sentido estricto de su constitución, sin embargo, este mismo autor las considera como emigradas del estrato piramidal, pero integrantes, con un criterio topográfico de la plexiforma externa del stratum oriens.

Merece destacarse la característica fundamental de la diferente densidad del protoplasma de estas células piramidales. Densidad que aumenta en las zonas correspondientes a las mayores anfractuosidades nucleares; este aumento de densidad corresponde a una mayor

densidad de ribosomas libres. Solamente se aprecia tal cual malla de ergastoplasma que presenta en sus contornos gránulos de Palade adheridos. Este halo de mayor densidad rodea a todo el núcleo, si bien ya hemos indicado que en las proximidades a las anfractuosidades nucleares todavía es mayor.

A parte de estos acúmulos densos el protoplasma se va aclarando conforme nos aproximamos hacia la periferia del mismo. Pudiendo destacarse claramente el contorno de la membrana celular por la claridad de los elementos del neurópilo.

Otro detalle interesante es la presencia de elementos de mayor densidad incluidos en el interior del protoplasma de estas células y que incluso presentan formas cristalinas. Estos detalles fueron ya vistos por nosotros en microscopía a luz (FERRES-TORRES y V. SMITH-AGREDA, 1967a, 1967b, 1968) y en el cual ya veíamos como existían radicales de tipo sulfonado.

También hemos encontrado cómo a parte de estas células de tipo piramidal existían otras con características morfológicas diferentes expresadas fundamentalmente por poseer unos núcleos voluminosos, en contraposición con el escaso desarrollo que proporcionalmente ofrece el protoplasma. Dentro de estos tipos de células, unas son más claras presentando una cierta homogeneidad en la distribución de la cromatina. Cromatina que es mucho más densa que la que se aprecia en los núcleos de las células piramidales que acabamos de considerar.

Por otra parte, estas células se encuentran rodeadas de fibras mielínicas, lo que hace que se identifiquen con las células más yuxtapendimarias situadas próximas a las prolongaciones axónicas que irán a constituir los elementos del Alveus.

A parte de estas células existen otras que si bien muestran una característica similar, en lo que respecta al tamaño nuclear y al contorno regular y sin anfractuosidades de estos elementos, existe, sin embargo, un desplazamiento nuclear que le hace aparecer excéntrico, y por otra parte el continente nuclear es más denso que el de los elementos últimamente descritos; tanto es así, que prácticamente podríamos considerar que existen células claras y células oscuras.

Por otra parte, los elementos fibilares que circundan a estas células, ya no son mielínicos, sino que no es extraño el encontrar formaciones que llegan a ponerse en contacto con el soma neuronal, y que si bien no podemos calificar de sinapsia, en el sentido amplio de la palabra, presentan, sin embargo, en las zonas de contacto unos engrosamientos de mayor densidad, pero que no son aplanados como corresponde a las superficies sinápticas. Por otra parte, en estos contactos no se aprecian las presencias de las clásicas vesículas sinápticas.

El tipo claro de sinapsis lo observamos fundamentalmente en las proximidades de las prolongaciones de las células piramidales que describimos en el principio de este capítulo.

Resumen

Se ha realizado un estudio a microscopía electrónica del allocortex amónico de gato, ceñido fundamentalmente al stratum oriens, y concretamente en los campos CA₁, CA₃ y CA₄.

Se observa la presencia de dos grandes grupos de células. Un primer grupo de células de escaso desarrollo protoplasmático, pero con un voluminoso núcleo, y las células piramidales, con gran desarrollo protoplasmático.

Dentro de las células de escaso desarrollo protoplasmático, todas presentan un núcleo redondeado, sin anfractuosidades, distinguiéndose dos tipos: las células de núcleo claro y las células de núcleo oscuro; en estas últimas el núcleo es siempre muy excéntrico.

Por lo que respecta a las células piramidales presentan un núcleo casi carente de acúmulos de cromatina. El contorno es excéntrico e irregular. Las zonas que presentan más anfractuosidades muestran en sus proximidades mayor densidad de ribosomas sueltos que las porciones de contorno homogéneo.

Summary

A study by electronic microscope was performed on the ammonico allocortex of the cat. Very close fundamentally to the stratum oriens and concretely in the fields CA₁, CA₃ and CA₄.

One observes the presence of two large groups of cells. A first group of cells of little protoplasmic development but with a voluminous nucleus and pyramid cells with great protoplasmic development.

In the cells of small protoplasmic development, all present a round nucleus, without undulations and distinguishing two types. The cells with clear nucleus and cells with obscure nucleus. In the latter the nucleus is always very excentric.

With respect to the pyramidal cells, they present a nucleus almost without accumulation of chromatin, the shape is excentric and irregular. The zones that present more undulations show in their proximities greater density of ribosomes free than in the parts of homogeneous shape.

Zusammenfassung

Es wurde am Elektronenmikroskop eine Studie an dem Ammonium-Allocortex der Katze durchgeführt und zwar grundlegend auf das Stratum oriens und insbesondere auf die Gebiete CA₁, CA₃ und CA₄ beschränkt.

Es wurde die Anwesenheit von zwei grossen Zellgruppen beobachtet. Eine erstere Zellgruppe geringer protoplasmischer Entwicklung aber mit einem umfangreichen Kern, und die Pyramidenzellen mit starker protoplasmischer Entwicklung.

Bei den Zellen geringer protoplasmischer Entwicklung zeigen alle einen

abgerundeten Kern ohne Krümmungen, wobei zwei Arten zu erkennen sind: Zellen mit hellem und Zellen mit dunklem Kern; bei diesen letzteren liegt der Kern stets sehr exzentrisch.

Was die Pyramidenzellen anbelangt, so zeigen sie einen Chromatinanhäufungen fast entbehrenden Kern. Die Kontur ist exzentrisch und ungleichmässig. Die die meisten Krümmungen aufweisenden Gebiete zeigen in ihrer Nähe eine grössere Dichtigkeit loser Ribosomen als die Teile einheitlicher Kontur.

Resumé

On a réalisé un étude à microscopie électronique du allocortex ammonique du chat; centré fondamentalement au stratum oriens, et concrètement aux champs CA₁, CA₃ y CA₄.

On a observé la présence de deux grands groupes de cellules. Un premier groupe de cellules de peu développement protoplasmatique avec un volumineux noyau et les cellules pyramidales avec grand développement protoplasmatique.

Les cellules de peu développement protoplasmatique, toutes présentent un noyau arrondi, sans irregulairetés, en se distinguent deux types: les cellules de noyau claire et les cellules de noyau obscure; à ces dernières le noyau est toujours très excentrique.

Au sujet des cellules pyramidales, elles présentent un noyau presque sans accumules de cromatine. Le contour est excentrique et irrégulier. Les zones que présentent plus irregulairetés, montrent à ses proximités majeur densité de ribosomes libres que les portions de contour homogéne.

LEYENDA GENERAL DE LAS FIGURAS

<i>Ax</i> : Axón miélinico	<i>Mn</i> : Membrana nuclear
<i>Cr</i> : Cromatina	<i>N</i> : Núcleo
<i>Er</i> : Ergatoplasma	<i>Nu</i> : Nucleolo
<i>Go</i> : Aparato de Golgi	<i>P</i> : Protoplasma
<i>In</i> : Inclusiones celulares	<i>SP</i> : Zona de sinapsis
<i>M</i> : Mitocondrias	<i>VS</i> : Vesículas sinápticas
<i>Mc</i> : Membrana celular	

BIBLIOGRAFÍA

- BLACKSTAD, T. W. (1956): Commisural connections of the hippocampal region in the rat with special reference to their mode of termination. «J. comp. Neurol», **105**, 417-538.
- (1958): On the termination of some efferentes to the hippocampus and fascia dentata. An experimental study in the rat. «Acta anat.», **35**, 202-214.
- H. A. DAHL (1962): Quantitative evaluation of structures in contact with neuronal somata. An electron microscopic study on the rat. «Acta morph. nserl.-scand.», **4**, 329-343.

- P. R. FLOOD (1963): Ultrastructure of hippocampal axo-somatic synapse. «Nature», Lon., **198**, 542-543.
- CAJAL, S. R. (1893): Über die feinere Struktur des Ammonshornes. «Z. wis. Zool», **56**, 619-663.
- (1911): Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Vol. 2. Maloine. Paris.
- FERRES-TORRES, E., y V. SMITH-AGREDA (1967a): Beitrag zur Histochemie des Allocortex ammonicus. «Anat. Anz.», **15**, 147-180.
- V. SMITH-AGREDA (1967b): Significado actual del allocortex ammonico «Farmaes», **12**, 479-505.
- — (1968): Aportaciones al estudio de las propiedades histoquímicas del allocortex amónico. «An. Anat.», **17**, 43-55.
- GERBTZOFF, M. A. (1959): Cholinesterases. A histochemical contribution to the solution of some functional problems. «Pergamon Press». London.
- LORENTE DE NO, R. (1934): Studies on the Structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the Study of the Ammonic System. «J. Psychol. Neurol», **46**, 113-177.
- ORTMANN, R. (1961): Die Chemoarchitektonik des Gehirns. «Dtsch. med. Wschr.», **26**, 2.063-2.068.
- SHUTE, C. C. D., y P. R. LEWIS (1960): The use of cholinesterase techniques com with operative procedures to follow nervous pathways in the brain; biochemistry of cholinesterase. Symposium Basel. «Bibl. Anat.», **2**, 34.

Prof. Adj. E. FERRES-TORRES
Cátedra de Anatomía «A»
Valencia (España)

LA ACTIVIDAD LIPÁSICA EN EL PÁNCREAS DE LA RATA A NIVELES ULTRAESTRUCTURALES

POR

R. FERRES-TORRES *

La localización de la actividad lipásica a nivel, fundamentalmente, de la fracción zimogénica en el páncreas de la rata (ARNESJÖ, FILIPEK-WENDER, 1968; ARNESJÖ, GRUBB, 1969) por el método de la ultracentrifugación y aislamiento por gradientes de densidad; y a nivel de ergastoplasma, aparato de Golgi y membrana de los gránulos de zimógeno (MURATA, YOKOTA, NAGATA, 1968), en el páncreas del ratón por el método de GOMORI (1949) modificado, nos ha servido de punto de partida en el presente trabajo.

Material y métodos

Páncreas de ratas albinas de un peso medio aproximado de 150 gramos. Los bloques de tejido eran extraídos «in vivo» de animales anestesiados mediante hidrato de cloral al 10 %, administrado por inyección intraperitoneal de 0'35 ml, por cada 100 gramos de peso. Las ratas eran retiradas del alimento, pero no del agua de bebida. *Fijación*: glutaraldehído al 5 % en solución puffer de cacodilato a pH = 7'2. *Substrato*: Tween 80, durando la incubación de 2 a 24 horas, siguiendo las pautas de MURATA, YOKOTA, NAGATA (1968). *Activador*: taurocolato sódico. *Inhibidor*: clorhidrato de quinina y fluoruro sódico. *Controles*: las soluciones con el activador y sin él, a las que no se añadían el substrato. Algunos bloques fueron postfijados inmediatamente en tetróxido de osmio al 1 % durante 2 horas, sin ser incubados. Parte de los trocitos incubados con el substrato también fueron postfijados en osmio. El resto de los bloques pasaron sucesivamente por E.D.T.A. y nitrato, intercalando lavados en cacodilato, para finalmente ser

* Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Laguna. Director: Prof. Dr. J. Smith-Agreda.

postfijados en tetróxido de osmio. *Deshidratación*: alcohol etílico, pasando por óxido de propileno antes de incluirlos en araldita (Durcupan A.C.M.).

Los cortes fueron realizados en un ultramicrotomo L.K.M.-Uutrome III y estudiados y electrografados en un microscopio «Zeiss EM 9 A».

Resultados

Los trozos de parénquima pancreático incubados en las soluciones con el activador, sin él, o con nitrato de plomo y sin el activador, postfijados inmediatamente en la solución de osmio no presentaron ningún tipo de depósito denso y nos sirvieron para el estudio simple de la ultraestructura.

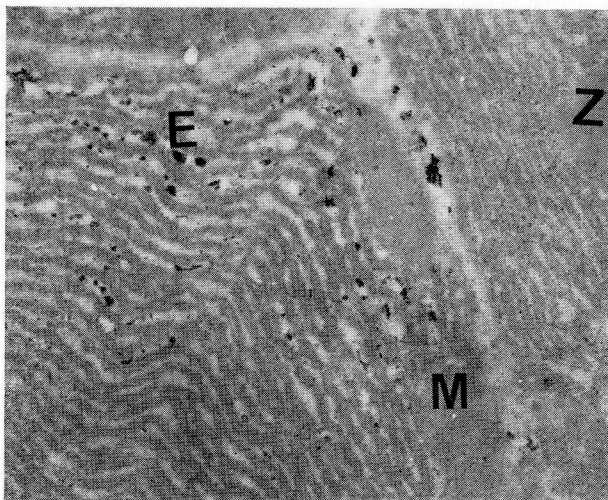


FIG. 1. — Actividad lipásica en las cisternas del ergastoplasma (E) de célula acinosa del páncreas. El gránulo de zimógeno (Z) no presenta reacción en esta célula. Tween 80 + taurocolato sin tinción de contraste. 7.300 aumentos en el negativo.

Los bloques incubados en la solución con el activador y tratados después con E.D.T.A. y nitrato de plomo, presentaron depósitos densos, que eran más delimitados y sin signos de metalización cuando la concentración del nitrato de plomo era de 0'25 % y el período de incubación estaba comprendido entre 6 y 10 horas. Los depósitos se localizaban fundamentalmente en el interior de las cisternas del ergastoplasma (fig. 1). Existían algunas células cuyo ergastoplasma no tenía depósitos de plomo. En otras células, las menos, también aparecían depósitos adheridos de forma aplanada a la membrana de los gránulos de zimógeno (fig. 2). La membrana citoplásmica estaba

reforzada y destacaba con especial claridad en las células que no tenían depósitos ergastoplásmicos. Este fenómeno era más marcado en la parte de membrana periluminal y por tanto en las microvellosidades de algunas células acinosas. No existían depósitos en la luz de los conductos o acinos, separados de la membrana citoplásmica. No hemos reconocido con claridad la presencia de depósitos en las cisternas del aparato de Golgi, debido al tamaño de aquellos que sobrepasan al de las cisternas cuando se superponían.

El fluoruro sódico a la concentración por nosotros empleada, 0'2 M, no inhibió la aparición de depósitos de plomo en los mismos lugares y con los mismos caracteres que el caso anterior, pero el citoplasma y el núcleo de las células presentaban depósitos difusos y signos de metalización, que afeaban notablemente la preparación.

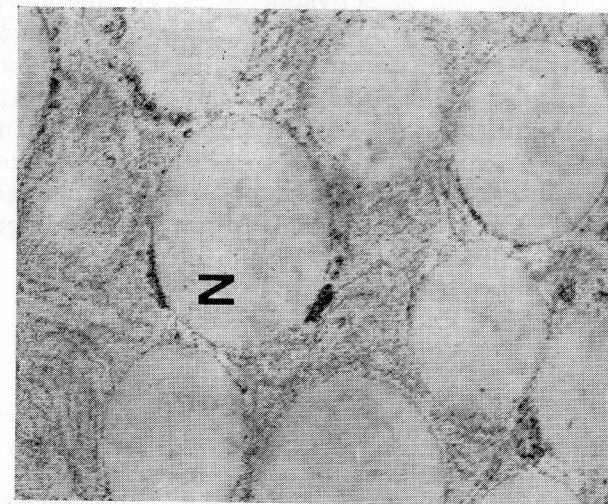


FIG. 2. — Actividad lipásica alrededor del gránulo de zimógeno (Z). Tween 80 + taurocolato sin tinción de contraste. 7.300 aumentos en el negativo.

El clorhidrato de quinina a la concentración de 10^{-2} M fue un excelente inhibidor de la actividad lipásica, no produciéndose los depósitos precipitados de ergastoplasma, membrana periluminal y membrana de los gránulos de zimógeno.

La solución sin el activador produce depósitos de idéntica localización que la que lo contenía, pero de menor tamaño y extendiéndose a menor número de cisternas.

Las piezas incubadas en las soluciones sin el sustrato, presentaron signos de metalización difusa del citoplasma y formaciones membranosas citoplásmicas, incluso en la membrana del gránulo de zimógeno. No presentó depósitos ergastoplásmicos.

Discusión

De acuerdo con MURATA, YOKOTA y NAGATA (1968) para el ratón, hemos podido comprobar en el páncreas de la rata, que la actividad lipásica se localiza en las cisternas ergastoplásmicas y en el gránulo de zimógeno en la membrana envolvente. No hemos podido confirmar los resultados de los anteriores autores en lo referente a distinguir una lipasa activa localizada en la membrana de los gránulos de zimógeno y canaliculos secretores, y una lipasa activa e inactiva de localización en ergastoplasma, aparato de Golgi, membrana citoplásmica, microvellosidades y luz de los acinos y conductos intercalares. En nuestro material, las diferencias entre los bloques incubados en las soluciones con el activador, y sin él, fueron fundamentalmente de tipo cuantitativo. No hubo diferente localización de los depósitos de plomo cuando se empleaba el activador o no.

Nos ha llamado la atención la relativa menor importancia de la actividad lipásica en los gránulos de zimógeno en el páncreas en reposo funcional. Estos resultados difieren de los proporcionados por la técnica de los gradientes de densidad por centrifugación (ARNESJÖ, FILIPEK-WENDER, 1968; ARNESJÖ, GRUBB, 1969), que encuentran la mayor actividad lipásica en la fracción de zimógeno.

Resumen

Se estudia la actividad lipásica en el páncreas de rata a nivel ultraestructural. Se destaca la existencia de actividad lipásica en el interior de las cisternas del ergastoplasma, membrana citoplásmica de las células de los acinos y de los conductores intercalares y membrana de los gránulos de zimógeno.

Summary

Studying lipase activity in the rat's pancreas at the ultrastructural level, we find activity in the cisternae of the rough-surfaced endoplasmic reticulum, in the plasma membrane of the acinar cells and the secretory canaliculi and in the limiting membranes of the secretory granules.

Zusammenfassung

Wir untersuchen die Lipasen-Tätigkeit im Pankreas der Ratte auf ultrastruktureller Ebene. Wir finden Lipasen-Tätigkeit im Innern der Ergastoplasma-Zysternen, der Zellmembranen der Acini und der intercalaren Ducti und der Membran der zymogenen Granula.

Resumé

Nous étudions l'activité lipasique du pancréas du rat au niveau ultrastructural. Nous trouvons l'existence de l'activité lipasique dans les cavités du réticulum endoplasmique, dans la membrane cellulaire des acines et des canaux intercalaires et dans la membrane des grains zymogènes.

BIBLIOGRAFÍA

- ARNESJÖ, B. and H. FILIPEK-WENDER (1968): Intracellular distribution of lipolytic enzymes in the rat pancreas. «Acta Physiol Scand.», **74**, 616-628.
- A. GRUBB (1969): Intracellular distribution of lipase in comparison to trypsinogen, amilase and immediately measureable trypsin inhibitor in the rat pancreas. «Acta Physiol. Scand.», **75**, 139-148.
- GOMORI, G. (1949): Histochemical localization of true lipase. «Proc. Soc. exp. Biol.», **72**, 697-700.
- MURATA, F., S. YOKOTA and T. NAGATA (1968): Electron microscopic demonstration of lipase in the pancreatic acinar cells of mice. «Histochemie», **13**, 215-222.



CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES Y SIGNIFICACIÓN DE LAS VESÍCULAS SINÁPTICAS ADRENÉRGICAS DE LA CORTEZA SUPRARRENAL DEL CAVIA COBAYA *

POR

F. GARCÍA-ÁLVAREZ

Introducción

En la reunión de las Sociedades Anatómicas Española y Portuguesa celebrada en Valladolid en octubre de 1966, dábamos cuenta de los hallazgos realizados con el microscopio electrónico de sinapsis vegetativas a nivel de la corteza suprarrenal. En otra publicación nuestra (GARCÍA-ÁLVAREZ, 1970) describíamos y discutíamos los resultados de nuevos estudios ultraestructurales en los que se demostraba la existencia de inervación vegetativa a nivel de la suprarrenal humana y de cobaya. La realidad de esta inervación fue discutida durante muchísimo tiempo, como allí exponíamos, desde FUSARI (1890) hasta UNSICKER (1969). Los trabajos de este último autor y los nuestros fueron los primeros que se realizaron con microscopio electrónico y no dejaban lugar a dudas sobre la existencia de una inervación vegetativa propia de la corteza suprarrenal.

Faltaba, sin embargo, relacionar los hallazgos del microscopio electrónico en la corteza suprarrenal con los conocimientos ya generalmente admitidos en los campos de la fisiología y de la farmacología sobre la naturaleza bioquímica de las vesículas sinápticas halladas en este órgano. Como datos previamente conocidos nos interesa resaltar, como se admite generalmente, que los sistemas simpático y parasimpático actúan conjuntamente en la mayoría de los órganos inervados por el sistema nervioso vegetativo (EHINGER, FALCK y SPORRONG, 1970) y que sus vesículas sinápticas postganglionares son

* Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Zaragoza (Director: Prof. J. Escolar). Instituto de Neuropatología de la Facultad de Medicina de Berlín (Director: Prof. J. Cervós).

colinérgicas en el parasimpático y adrenérgicas en el simpático (GODMAN y GILMAN, 1968). Aunque su identificación definitiva corresponde a los métodos bioquímicos, ultraestructuralmente puede identificarse la forma específica de estas vesículas, pequeñas y con centro claro las colinérgicas, y más grandes y con su centro ocupado por una substancia altamente osmiófila en las adrenérgicas (DE ROBERTIS, 1968).

Dada la importancia de este problema, hemos intentado continuar estudiando con el microscopio electrónico otros detalles de la innervación córtico-suprarrenal, tales como el tipo de vesículas sinápticas que se encuentran más frecuentemente en la corteza suprarrenal, con lo que pretendemos contribuir a definir mejor las características morfológicas de estas vesículas y su posible significado en relación con el transmisor bioquímico que actúa en las mismas.

Ya que en una publicación nuestra anterior (GARCÍA-ALVAREZ, 1970) nos ocupamos de las características ultraestructurales de la innervación de la corteza suprarrenal en general, en la presente pretendemos hacer hincapié únicamente sobre las vesículas granulares o adrenérgicas y las terminaciones nerviosas que las contienen a nivel de la citada corteza.

Material y métodos

Cápsulas suprarrenales de 10 cobayas. Fijación con glutaraldehído y ácido ósmico. Tratadas posteriormente con acetato de uranilo y ácido fosfotungstico. Inclusión en epon. Cortadas con ultramicrotomo LKW. Electronografiadas con microscopio electrónico «Siemens Elmiscop 1».

Descripción de los hallazgos

A cierta distancia aún de las sinapsis (fig. 1) hallamos haces de fibras nerviosas (FN), siempre amielínicas, y que, al cortar transversal, muestran distintos tamaños de área de sección e inclusive distinta forma, desde la estrictamente circular a la claramente alargada, pasando por formas intermedias más o menos ovaladas. Cada uno de estos haces nerviosos va envuelto, durante gran parte de su trayecto, por una membrana basal e inmerso en el protoplasma de una célula de Schwann. Estas fibras nerviosas (FN) presentan una gran pobreza estructural, siendo sus elementos más descolantes unas pocas vesículas claras o vacías y algunas más con contenido fuertemente osmiófilo o granulares, que se denominan generalmente como vesículas adrenérgicas (VA).

Siguiendo el trayecto de estos filetes nerviosos (fig. 2), a medida que se van haciendo contiguos a las células suprarrenales (SU), ca-

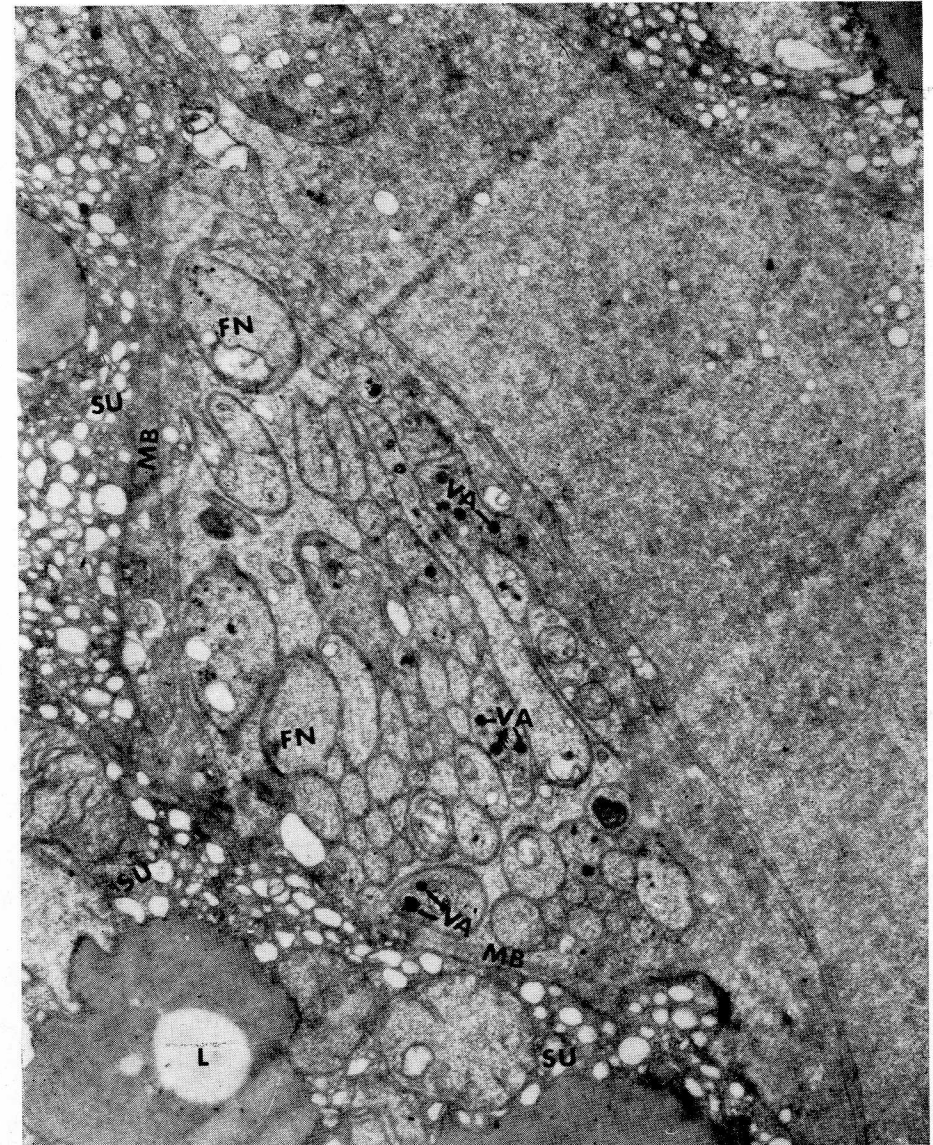


FIG. 1. — Aumentos = 18.000. FN = fibra nerviosa, VA = vesícula adrenérgica. MB = membrana basal. SU = célula de la corteza suprarrenal, L = gota de lipóide.



FIG. 2. — Aumentos = 20.000. FN = fibra nerviosa. VA = vesícula adrenérgica. SU = célula suprarenal. L = lipoides. CS = contacto sináptico.

racterizadas por su contenido en gotas de lipoides (L), o a los vasos, aumenta en ellos extraordinariamente la cantidad de vesículas con contenido fuertemente osmiófilo (VA), que suelen tener un diámetro comprendido entre los 600 y los 1.000 angstroms. Estas vesículas están formadas por una membrana más clara y un contenido oscuro y que en las de menor diámetro está compuesto generalmente por una substancia homogénea y en las de mayor diámetro por un acúmulo de gránulos de desigual tamaño. Estas vesículas granulares son más abundantes en las fibras situadas periféricamente con relación al haz nervioso y, sobre todo, en las que se ponen en contacto inmediato con las células de la corteza suprarenal (SU). En estos lugares, que vamos a denominar contactos sinápticos (CS), no existe membrana basal ni espacio de separación entre la fibrilla nerviosa (FN) y la célula de la corteza suprarenal (SU) con la que se pone en contacto.

A nivel terminal (fig. 3) vemos que los hacecillos nerviosos quedan envueltos solamente por una membrana perteneciente a la célula de Schwann (SCH), pero sin ningún otro elemento de separación con las células de la corteza suprarenal (SU), a las que se aproximan tanto que se ponen en contacto inmediato (CS). Estas terminaciones presentan al corte la gran superficie de sección de una fibra nerviosa grandemente ensanchada (PT) en forma de pie terminal. Esta terminación nerviosa va rellena con típicas vesículas granulares (VA) de unos 1.000 angstroms de diámetro y que están constituidas por una membrana relativamente clara que envuelve a un contenido fuertemente osmiófilo, unas veces homogéneo mientras que otras veces está compuesto por varios gránulos oscuros entre los que se interponen franjas más claras. A su alrededor se ponen de manifiesto las típicas células de la corteza suprarenal (SU) con sus gotas de lipoides (L), igualmente características.

Discusión de los hallazgos

Los contactos directos e inmediatos entre fibras nerviosas y células de la corteza suprarenal que presentamos pueden ser considerados como verdaderos contactos sinápticos o sinapsis vegetativas en el sentido ya descrito para otros órganos por diversos autores, tales como BRETTSCHEIDER (1960), en el tiroides; RICHARDSON (1962), en el conducto deferente de rata; STAHL (1963), en el páncreas; MERRILLES, BURNSTOCK y HOLMAN (1963), en el conducto deferente de cobaya, y SIMPSON y DEVINE (1966), en las arteriolas del cortex renal de ovejas

También coinciden, en lo fundamental, con los hallazgos de UN-

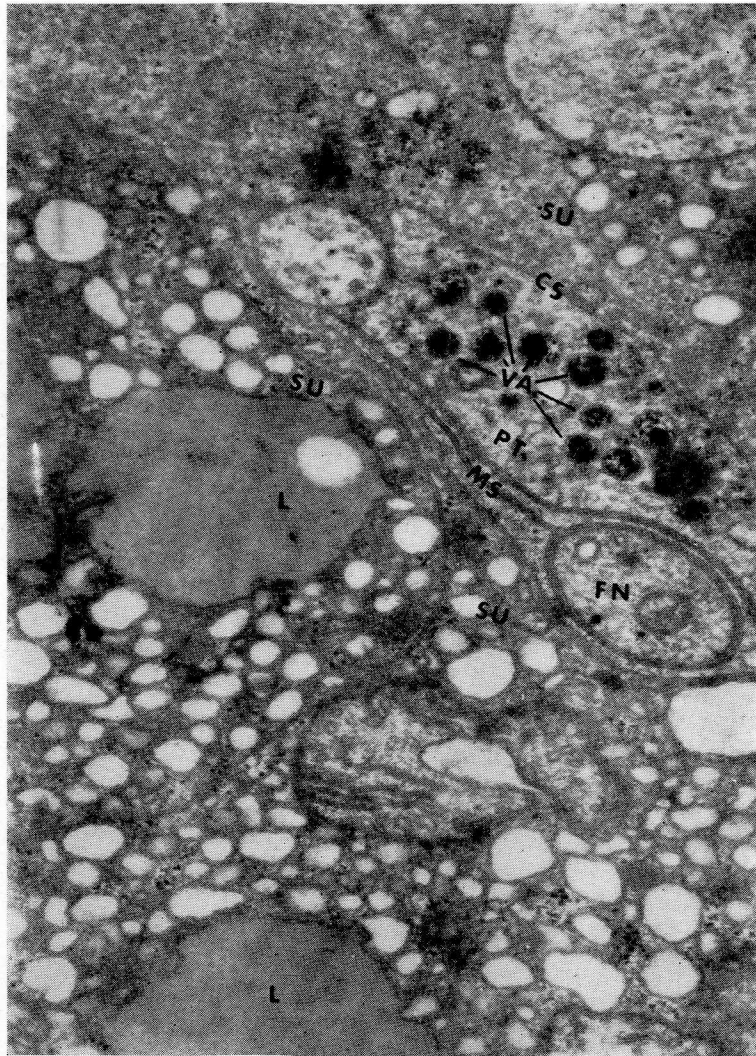


FIG. 3. — Aumentos = 42.000. FN = fibra nerviosa. VA = vesícula adrenérgica. SU = célula de la corteza suprarenal. CS = contacto sináptico. L = lipoides. PT = pie terminal. MS = membrana de una célula de Schwann.

SICKER (1969) y GARCÍA-ALVAREZ (1970) obtenidos con microscopio electrónico en la zona cortical de las glándulas suprarrenales y cuyas afirmaciones a favor de la existencia de inervación córtico-suprarrenal vienen a ser reforzadas con los actuales hallazgos.

El tipo más frecuente de vesículas sinápticas halladas en el material objeto de este estudio, y a las que por ello nos hemos referido especialmente, está constituido por las llamadas vesículas granulares, que tienen carácter adrenérgico, según trabajos de múltiples autores, entre los que destacan los de PELLEGRINO DE IRALDI, ZIEHER y DE ROBERTIS (1965), BONDAREFF y GORDON (1966), ETCHEVERRY y ZIEHER (1968) y DE ROBERTIS (1968), WATANABE (1970) halla vesículas granulares en las terminaciones postganglionares del ganglio hipogástrico de cobaya y las interpreta, de acuerdo con los datos anteriores, como adrenérgicas. Por su parte, DUFFY y MARKESBERY (1970) después de importantes estudios experimentales con agentes farmacológicos que influyen en el contenido de catecolaminas en las terminaciones simpáticas halladas en la glándula pineal, admiten la naturaleza adrenérgica de las vesículas granulares, al menos de gran número de ellas.

Sin embargo, TRANZER y THOENEN (1967) afirman que las vesículas granulares aparecen siempre que se utiliza glutaraldehído en la fijación, mientras que las vacías se hallan presentes cuando la fijación se realiza solamente con ácido ósmico. Estos datos no concuerdan con los hallazgos de otros autores, tales como WALBERG (1966) que a pesar de fijar con glutaraldehído nos muestra en su publicación distintas formas de vesículas redondas o alargadas, pero siempre vacías. BODIAN (1970), fijando igualmente con glutaraldehído varios tipos de vesículas vacías y algunas granulares, de donde podemos deducir que, si bien la fijación con glutaraldehído puede ser un factor importante en la aparición de las vesículas granulares, esta fijación no es de ninguna manera determinante del tipo de vesículas que aparecen en la sinapsis vegetativas. En el mismo sentido puede ser interpretada la publicación de UNSICKER (1969) en la que pueden verse abundantes vesículas vacías en la corteza suprarenal, a pesar de haber sido fijada con glutaraldehído además de ácido ósmico y la de GARCÍA-ALVAREZ (1970) con ambos tipos de fijación y se encuentran vesículas vacías y vesículas granulares.

Si las terminaciones nerviosas estudiadas con microscopio óptico en la corteza suprarenal por diversos autores, tales como KISS (1951), SARTER (1954) y MIKHAIL y AMIN (1969) fueron clasificadas de simpáticas por estos investigadores y las sinapsis postganglionares simpáticas son adrenérgicas como se admite generalmente en la mayoría de las publicaciones que aluden a este tema, entre las que podemos citar las de OWMAN (1964), CLEMENTI (1965), GOODMAN y GIL-

MAN (1968), BUDD y SALPETER (1969) y WATANABE (1970), hemos de sacar la conclusión de que las vesículas adrenérgicas halladas por nosotros en las terminaciones nerviosas de la corteza suprarrenal de cobaya y que hemos expuesto en el apartado de "hallazgos" son la expresión ultraestructural propia de la existencia de unas sinapsis postganglionares simpáticas en la citada corteza suprarrenal.

Resumen

Habiendo fijado con glutaraldehído y ácido ósmico las cápsulas suprarrenales de 10 cobayas que se trataron posteriormente con acetato de uranilo y ácido fosfotungstícico, son estudiadas después con microscopio electrónico. Se hallaron vesículas sinápticas granulares que se catalogan como adrenérgicas correspondientes a sinapsis postganglionares simpáticas, hallazgos que se discuten en relación con la literatura reseñada.

Summary

The adrenal capsules of guinea pig are fixed with glutaraldehyde and osmium-tetroxide, treated then with phosphotungstic acid and uranyl acetate. Their study with a Siemens Elmiskop I electron microscope show synaptic vesicles preferably of the adrenalin type attributed to the postganglionic sympathetic synapses.

Zusammenfassung

Die Nebennierenrinden von 10 Meerschweinchen werden mit Glutaraldehyd und Osmium-säure fixiert. Die Nachkontrastierung erfolgt mit Uranylacetat und Phosphorwolframsäure. Elektronenmikroskopisch werden granulär Vesikeln gefunden, die als adrenergic Vesikeln gelten und spezifisch für die postganglionären sympathischen Synapsen zu werten sind.

Resumé

Des capsules surrénales de cobaya se fixent avec du glutaraldéhyde et acide osmique, ensuite sont traitées avec des solutions saturées d'acide phosphotungstique et d'acétato d'uranile. Dans son étude au microscope électronique on trouve des vésicules synaptiques surtout de type adrénergique attribuées aux synapses postganglionnaires sympathiques.

BIBLIOGRAFÍA

- BODIAN, D. (1970): An electronmicroscopic characterization of classes of synaptic vesicles by means of controlled aldehyde fixation. «J. of Cell Biology», **44**: 115-124.
- BONDAREFF, W., y B. GORDON (1966): Submicroscopic localization of norepinephrine in sympathetic nerves of rat pineal. «J. Pharmacol. Exp. Ther.», **153**: 42-47.

- BRETTSCHNEIDER, H. (1963): Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Innervation der Schilddrüse. «Z. mikr. anat. Forsch.», **63**: 630-649.
- BUDD, G. C. y M. M. SALPETER (1969): The distribution of labeled norepinephrine within sympathetic nerve terminals studied with electron microscope radioautography. «J. Cell. Biology», **41**: 21-26.
- CLEMENTI, F. (1965): Modifications ultrastructurelles provoquées par quelques médicaments sur les terminaisons nerveuses adrenergiques et sur la medullaire surrenale. «Experientia», **21**: 171-176.
- DE ROBERTIS, E. D. P., W. W. NOWINSKI y F. A. SÁEZ (1968): Biología Celular. 7.ª edición. Edit. Ateneo. Buenos Aires.
- DUFFY, PH. E., y W. R. MARKESBERY (1970): Granulated Vesicles in sympathetic Nerve Endings in the Pineal Gland: Observations on the Effects of Pharmacologic Agents by Electron Microscopy. «Amer. J. Anat.», **128**: 97-116.
- EHINGER, B., B. FALCK y B. SPORRONG (1970): Possible Axo-Axonal Synapses between Peripheral Adrenergic and Cholinergic Nerve Terminals. «Z. Zellforsch.», **107**: 508-521.
- ETCHEVERRY, G. I. y L. M. ZIEHER (1968): Cytochemistry of 5-hydroxytryptamine at the electron microscopic level. «Z. Zellforsch.», **86**: 393-400.
- FUSARI, R. (1890): Contributo allo studio delle terminazioni nervose dello sviluppo della capsula surrenale. «Sicilia med.», **2**: 768-775.
- GARCÍA-ALVAREZ, F. (1970): Estudio ultraestructural sobre la innervación de la corteza suprarrenal. «An. Anat.», **19**: 267-279.
- GOODMANN, L. S., y A. GILMAN (1968): The Pharmacological Basis of Therapeutics. Mac Millan Co. New York.
- KISS, T. (1951): Experimentell-morphologische Analyse der Nebenniereninnervation. «Acta Anat.», **13**: 81-89.
- MERRILLES, N. C. R., G. BURNSTOCK y M. E. HOLMAN (1963): Correlation of fine structure and physiology of the innervation of smooth muscle in the guinea pig vas deferens. «J. Cell. Biol.», **19**: 529-550.
- MIKHAIL, Y., y F. AMIN (1969): Intrinsic innervation of the human adrenal gland. «Acta Anat.», **72**: 25-32.
- OWMAN, C. (1964): Sympathetic nerves probably storing two types of monoamines in the rat pineal gland. «Int. J. Neuropharmacol.», **2**: 105-112.
- PELLEGRINO DE IRALDI, A., L. M. ZIEHER y E. DE ROBERTIS (1965): Ultrastructure and pharmacological studies of nerve endings in the pineal organ. «Progr. Brain Res.», **10**: 389-422.
- RICHARSON, K. C. (1962): The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens. «J. Anat.», **96**: 427-442.
- SARTER, J. (1954): Histologische Studie über die Innervation der Nebennierenrinde. «Z. Zellforsch.», **40**: 207-221.
- SIMPSON, F. O., y C. E. DEVINE (1966): The fine structure of autonomic neuromuscular contacts in arterioles of sheep renal cortex. «J. Anat.», **100**: 127-137.
- STAHL, M. (1963): Elektronemikroskopische Untersuchungen über die vegetative Innervation der Bauchspeicheldrüse. «Z. mikr. anat. Forsch.», **70**: 62-102.
- TRANZER, J. P. y H. THOENEN (1967): Significance of «Empty Vesicles» in post ganglionic sympathetic Nerve Terminals. «Experientia», **23**: 123-124.

- UNSICKER, K. (1969): Zur Innervation der Nebennierenrinde vom Goldhamster. Eine fluoreszen— und elektronenmikroskopische Studie. «Z. Zellforsch. mikr. Anat.», **95**: 698-619.
- WALBERG, F. (1966): Elongated vesicles in terminal boutons of the central nervous system, a result of aldehyde fixation. «Acta Anat.», **65**: 224-235.
- WATANABE, H. (1970): Adrenergic nerve endings in the peripheral autonomic ganglion. «Experientia», **26**: 69-70.

Prof. Adj. F. GARCÍA-ALVAREZ
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)



RECONSTRUCCIÓN ESTEREOMÉTRICA DE UN ENCÉFALO DE GATO RECIÉN NACIDO

(ALGUNAS APORTACIONES SOBRE LA FORMACIÓN RETICULAR)

POR

J. L. LANCHO *

Introducción

La presencia de mielinización en las fibras nerviosas dificulta el precisar la identificación de algunos núcleos de sustancia gris. Sin embargo, cuando aquélla no existe, la identificación de estos núcleos grises se facilita por las tinciones somatomielínicas, contrastando patentemente las unas de los otros. Esto le ocurre a la formación reticular (F.R.), que se delimita difícilmente en el adulto por ser invadida por la mielinización (ESCOLAR, 1965).

Nosotros para el presente trabajo hemos elegido un encéfalo de gato recién nacido, en el cual, cronológicamente, tenemos una situación bastante favorable para la identificación lo más certera posible de la F.R. y, además, porque esta especie animal es de uso diario en las líneas de investigación del Departamento.

Material y técnica

Hemos empleado para la reconstrucción de este encéfalo de gato recién nacido, el método de BORN con las modificaciones de ESCOLAR (1963) al plástico espumoso.

1.º Hemos utilizado una de las series que se obtuvieron de cortes frontales de dicho encéfalo. Esta serie teñida por el método de KLÜVER-BARRERA (1953) estaba relativamente bien conservada, con poca mielinización y F.R. bastante bien respetada.

* Profesor ayudante del Departamento Anatómico de la Facultad de Medicina de Salamanca. Becario del Plan de formación de personal investigador 1971-72.

La serie posee un intervalo de 100 micras, y como disponíamos de láminas de plástico espumoso de 10 mm de grosor, la reconstrucción, proporcionalmente, la hemos hecho a $23 \times$.

2.º Para dibujar los cortes de la serie sobre hojas de papel, primeramente nos fue mejor, por los aparatos que poseemos, el hacer un film de negativos de los 56 cortes de que estaba compuesta la serie. Todos los negativos se hicieron al mismo aumento, sin preocuparnos por el momento de los aumentos de la reconstrucción, pero teniendo en cuenta que al efectuar la proyección para el dibujo, debemos de hacer coincidir el dibujo con las dimensiones calculadas para la reconstrucción que, como ya dijimos, era de $23 \times$.

Por la conveniencia y adecuación al material que poseemos, los cálculos han sido realizados así:

Hemos medido el encéfalo desde el surco crucial (Area 4 de neocortex) hasta el primer metámero cervical, obteniendo un resultado de 24 mm. La serie constaba de 56 cortes. Luego el intervalo natural es de 0'428 mm.

Para reconstruir disponemos de láminas de 10 mm. Estableciendo la oportuna proporción, el aumento resultaba de $23 \times$, como ya adelantábamos.

3.º Proyección para dibujar. Nos encontramos con dificultades en cuanto a los límites claros de los núcleos grises, máxime cuando la mielinización nos ofrece densidades que no debemos de dibujar. Debemos de poner buen cuidado en ello y no es de extrañar el repetir alguno de los dibujos, pues de una buena interpretación del dibujo se obtienen los buenos resultados.

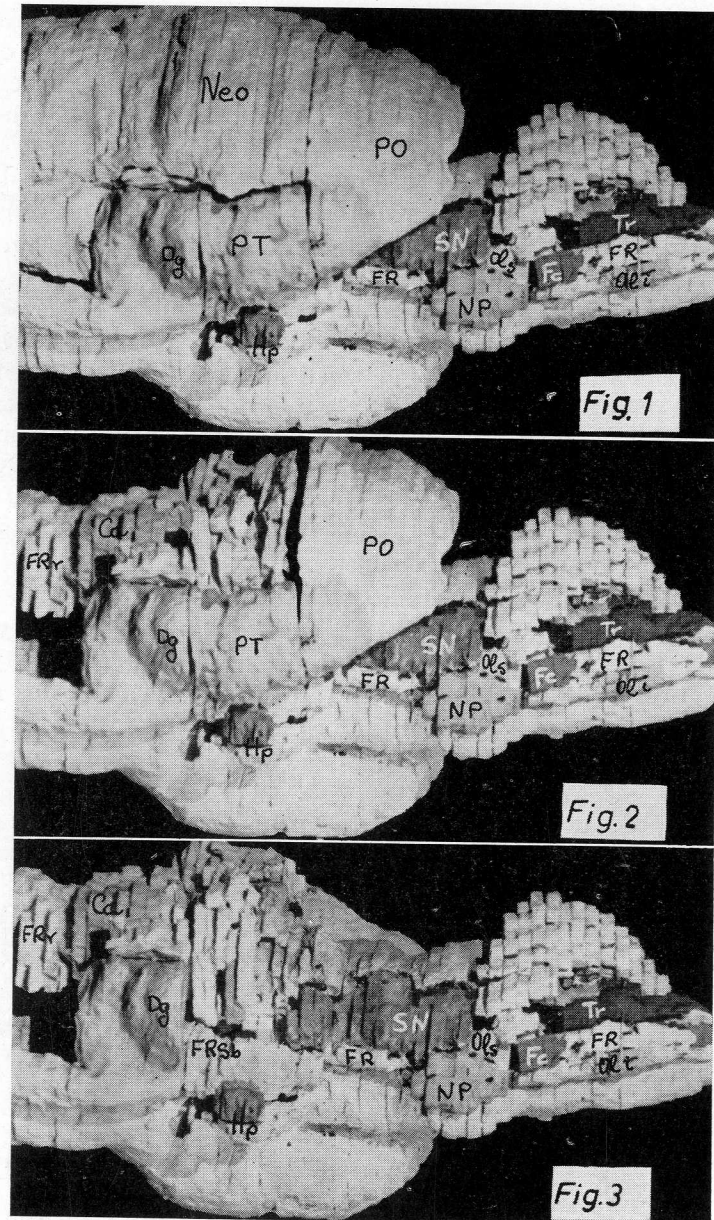
Como control de los dibujos se hicieron algunos positivos (del film que hicimos primeramente), a distinto nivel. Estos positivos se realizaron al tamaño natural de la reconstrucción, es decir, a los aumentos calculados previamente. En este caso, hicimos 10 positivos, tomando como punto de partida aquel corte cuyas dimensiones naturales resultaran las mayores.

FIG. 1. — Panorama latero-basal de la reconstrucción de un encéfalo de gato recién nacido en el que podemos distinguir los siguientes datos referenciales: neocortex (Neo), polo temporal (TP), polo occipital (PO). El resto, en leyenda general.

FIG. 2. — Correspondiendo al mismo panorama de la figura anterior, una vez efectuado el desmontaje de una gran porción de neocortex. Como dato referencial, obsérvese el núcleo caudaloso (Ca). El resto, en leyenda común.

FIG. 3. — Una vez desmontado el polo occipital y temporal y conservando la misma visión, podemos observar como referencias fundamentales la formación reticular subtalámica (Fr.Sb.), la formación reticular troncocefálica (FR), formación reticular rostral (FRr), allocortex diagonal (Dg). El resto, en leyenda general.

4.º Paso al plástico espumoso. Una vez dibujado sobre el papel e interpretado convenientemente el corte, se efectúa un nuevo dibujo en las láminas de plástico espumoso. Estas, por su granulación de superficie, dificultan la nitidez de la proyección, pero con el dibujo hecho en el papel ya se tiene la debida experiencia, por lo que



las dificultades de dibujar directamente sobre la lámina de plástico quedan un tanto soslayadas aunque, en nuestro caso concreto, dificultó las delimitaciones de la F.R.

5.º Corte de la lámina. Por medio de una aguja de termocoagulación efectuamos el recorte, no sólo del perfil exterior, sino también de los perfiles internos, conservando puentes de sustancia para que las formaciones interiores no se desprendan. Es lógico pensar en las dificultades que lleva consigo el dejar los puentes, pero éstos disminuyen con la interpretación correcta del dibujo y del corte correspondiente y de este modo poder dejar aquellos puentes de sujeción que más nos convengan.

Además, por este mismo procedimiento, eliminamos la sustancia blanca, pues pretendemos quedarnos sólo con la sustancia gris. Por ello nos quedan unos espacios que más adelante nos orientan para la realización del desmontaje de la reconstrucción.

6.º Superposición. Por esta maniobra efectuamos el pegado de una lámina recortada sobre otra. El pegado se hace con MOVILITH-HOESCHT, primeramente de tres en tres láminas, procurando establecer continuidades y, a la vez, soltamos los puentes de sujeción que fueran innecesarios de mantener más tiempo. A continuación, pegamos de dos en dos los sistemas o grupos resultantes del pegado anterior y así sucesivamente hasta que se consigue la unidad. Siempre, y esto es fundamental, hay que tener en cuenta la referencia del eje principal: en nuestro caso la constituyó la luz endimaria que no es precisamente horizontal, sino que hubieron de tenerse en cuenta las inflexiones naturales a lo largo de todo su trayecto y en especial a nivel de los ventrículos. Referencias secundarias pueden ser cualquier otro detalle circunstancial aplicable a varios cortes seguidos, pero no al conjunto, por ejemplo, la armonía externa del perfil.

Hay que destacar la presencia de la hipófisis luxada, que hubo de ser recompuesta en su nivel normal.

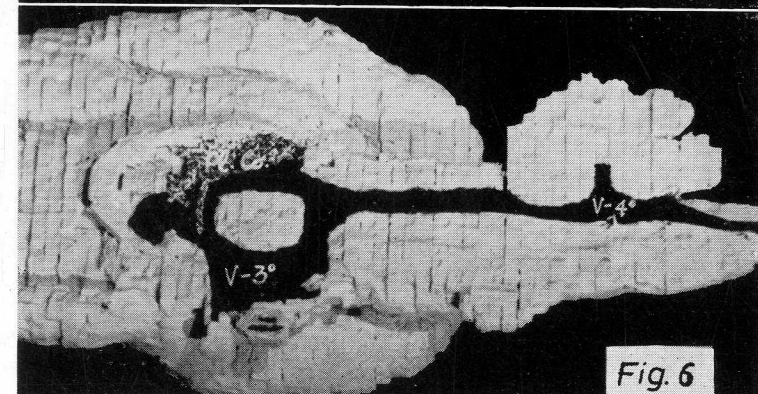
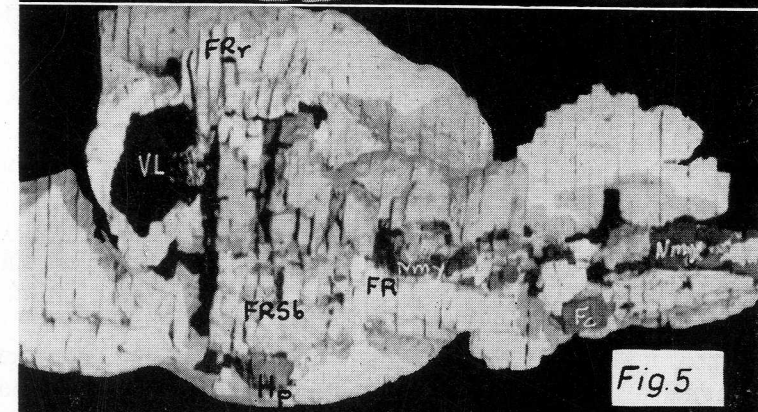
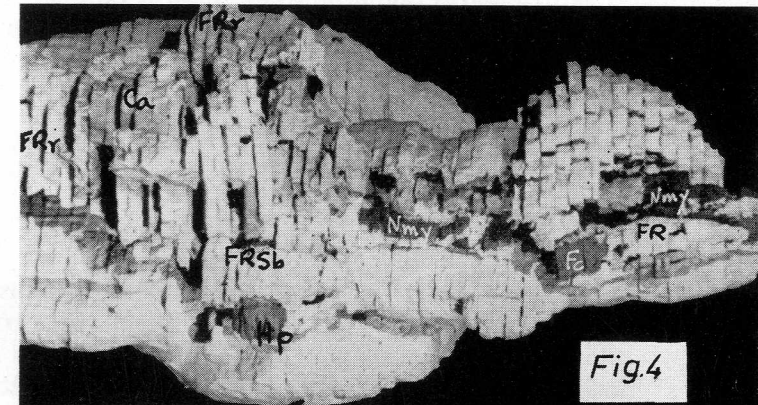
7.º Primeros desmontajes. Rostralmente fue desprendible una buena parte de neocortex (Neo, fig. 1), si bien el del polo occipital (PO) hubo que respetarlo "in situ" momentáneamente (fig. 2). También se desprendió el polo temporal (PT) llevándose consigo el complejo amigdalino y parte del núcleo lenticular.

FIG. 4. — Habiéndose desmontado la sustancia negra (SN) y el allocortex diagonal (Dg), vemos los núcleos motores yuxtaependimarios (Nmy) como datos de interés referencial. El resto, en leyenda general.

FIG. 5. — Desmontando el núcleo caudado se nos ofrece la visión interior del ventrículo lateral (VL). Resto, en leyenda general.

FIG. 6. — Visión oblicuo-lateral de la mitad derecha de la reconstrucción, que como armazón está reconstruida en bloque. Podemos distinguir los plexos coroideos (Pl.Co.), el tercer ventrículo (V-3.º) y el cuarto ventrículo (V-4.º).

Por su situación de aislamiento, resultó desmontable: a) El núcleo descendente de trigémino (Tr); b) Un bloque de formación reticular (FR) troncocefálica que engloba, entre otros núcleos, la sustancia negra (SN), los núcleos del puente (NP), ambas olivas (Ol.s y Ol.i) y el núcleo del facial (Fc), figuras 3 y 4. Al separar este bloque,



quedó un resto del fondo donde destacan, entre otras cosas, los núcleos de la base troncoencefálica (Nmy), figura 4.

Lo reticular que quedaba se fue individualizando y separando, distinguiéndose lo que procedía del subtálamo y lo que derivaba difusamente hacia el telencéfalo (FR, FRsb y FRr, figuras 3, 4 y 5). Por último, las cavidades ventriculares pudieron desprenderse también. Sólo quedó un eje de formaciones yuxtaependimarias (Nmy) que pudo ser desprendido, quedando entonces como armazón la mitad derecha encefálica, reconstruida en bloque (fig. 6).

Hallazgos

Topografía de la F.R. troncoencefálica

La formación reticular a nivel del tronco del encéfalo se distribuye entre ambas olivas superior e inferior (Ol.s y Ol.i) periféricamente, continuándose medialmente y entremezclándose con los núcleos motores yuxtaependimarios (Nmy). Rostralmente se continúa por dentro y por debajo de la sustancia negra (SN), figuras 1 a 5.

Topografía de la F.R. subtalámica y sus difusiones

Como continuación de la F.R. troncoencefálica, la subtalámica se difunde alrededor del tálamo óptico, al que envuelve en forma de lámina reticular y a nivel de su polo dorsal se difunde hacia el neocórtex. Más rostralmente, podemos ver formación reticular (FRr) cubriendo al ventrículo lateral (VL), situándose entre éste y el núcleo caudado (Ca), y cuando éste deja de aparecer, la F. R. continúa su difusión por el polo frontal.

Basalmente, sin solución de continuidad con la F.R. troncoencefálica, envuelve al tálamo y al infundíbulo, distribuyéndose posteriormente por el claustró (Cl) y el allocórtex diagonal (Dg), figuras 3, 4 y 5.

Consideraciones, discusión y conclusiones

La presente descripción del hecho realizado, creemos que no puede expresar la realidad del resultado obtenido. Por ello, procede concretar lo siguiente:

1.º Necesidades de un progresivo conocimiento de la F.R.

En cuanto a su topografía, la F.R. necesita de ello, ya que es difusa en muchas partes, con lo que se dificulta la apreciación de su continuidad, así como sus infiltraciones por zonas críticas. La nece-

sidad del conocimiento de la F. R., que apareció cuando se demostró su papel facilitador en la actividad bioeléctrica encefálica (MAGOUN, 1952 y MORUZZI, 1949) fue creciendo progresivamente al apreciar en todo momento su papel facilitador de todo impulso motriz somático, máxime cuando también podría referirse al impulso respiratorio (PITTS, 1941). Cuando el mecanismo de ritmo respiratorio permitió precisar a NGAI (1957) y a WANG (1957) centros apneústicos y neumotáxicos en la misma F.R. hacia el mesencéfalo, la importancia de

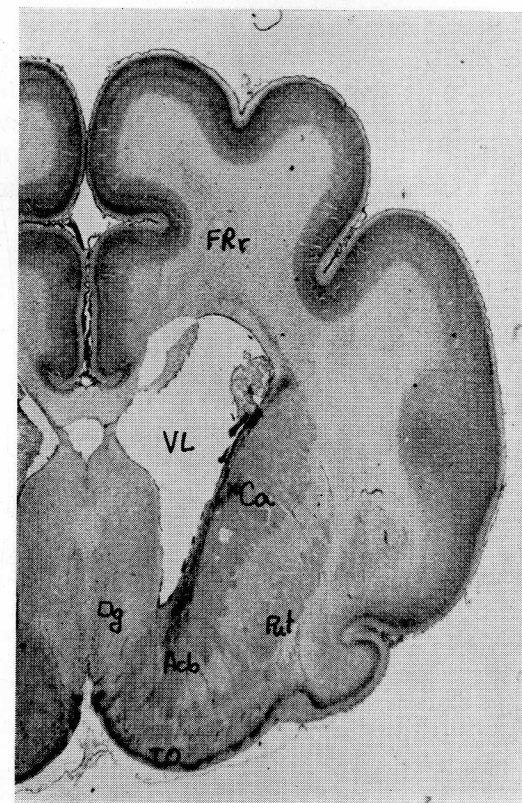


FIG. 7. — Corte núm. 130 del encéfalo de gato recién nacido, efectuado a nivel del tubérculo olfatorio (TO). Leyenda general.

esta formación siguió subiendo y hoy día nuevas funciones vegetativas se van atribuyendo a la F.R. del diencefalo y telencéfalo en cuanto a su influencia en el mecanismo de excitación y repolarización cardíaca. Estas funciones son descritas en el campo de la neuropatología humana y hoy invaden el terreno experimental (ESCOLAR y cols., 1972).

Teniendo, a este propósito, que preciar la topografía de la F.R. en su zona crucial subtalámica difundiéndose hacia el striopallidum y allocortex adyacentes donde el mejor conocimiento de la misma se hace necesario para relacionarlo con la topografía de las catecolaminas expresadas por los métodos de fluorescencia, así como con difusiones subtalámicas del sistema epifisario cuyo papel en el ciclo metabólico diurno y nocturno (circadiano) es cada vez más patente.

2.º Precisión de dificultades en el estudio de la F.R.

Deben de precisarse las primeras dificultades en el estudio de la F.R., difícilmente contrastable por método de coloración alguna. Por eso se acuden a fases de desarrollo en las cuales la mielinización de zonas adyacentes tiende a delimitarla, procurando evitar aquellas fases del desarrollo, avanzadas del adulto, en que la formación reticular está ya muy invadida por mielinización de haces que la atravesaban.

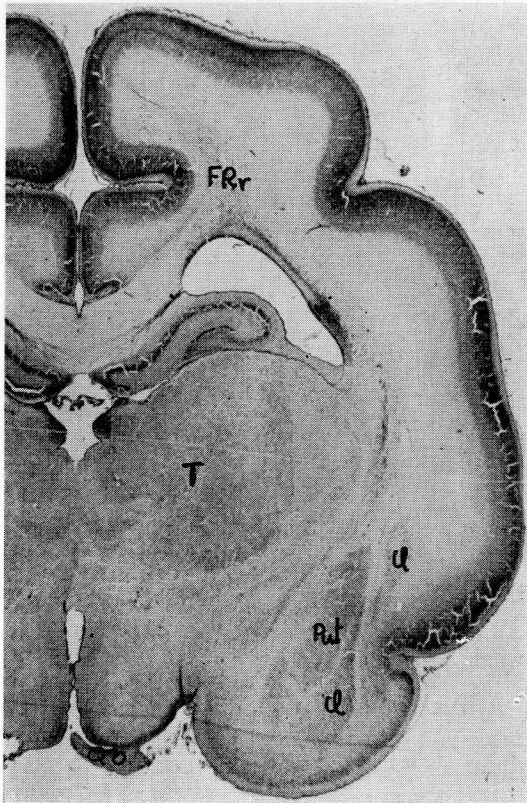


FIG. 8. — Corte núm. 210 del encéfalo de gato recién nacido, dado a nivel del quiasma óptico (QO). Leyenda general.

El poco contraste de la F.R. nos lleva a ponerla de manifiesto perfundiendo la red vascular encefálica, de la que destacará la fina, uniforme y continua red vascular propia de la F.R.

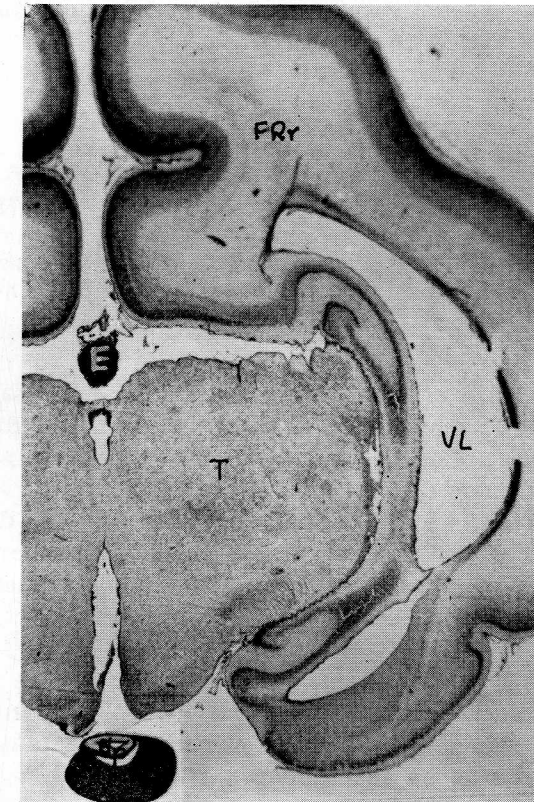


FIG. 9. — Corte núm. 250 del encéfalo de gato recién nacido, dado a nivel pre-mamilar, en el que vemos la epífisis (E) y la hipófisis (Hp). Resto en leyenda general.

3.º Precisión de referencias de la reconstrucción

Interesa precisar particularidades de referencia en la técnica reconstructiva con láminas de plástico espumoso, en relación con las reconstrucciones de cera.

A este propósito tenemos el peso. La cera viene a tener el mismo peso específico que el agua; en cambio, el plástico espumoso, respecto del agua, viene a ofrecer un peso específico de 0'05. Esto es: un volumen de reconstrucción de 10 litros correspondería a un peso de 10 Kg de cera y, en cambio, a un peso de 0'5 Kg en el plástico espumoso. En segundo lugar tenemos la elasticidad del plástico que

le salva de golpes y permite descomponer la reconstrucción en piezas útiles de desmontaje. En tercer lugar está el índice de error y a este respecto había que dar ventaja a la cera desde el momento que este material permite grosores de 1 mm y, en cambio, el plástico espumoso permite un grosor mínimo de 2 mm, aunque habitualmente se usen láminas de 5 ó 10 mm de grosor.



FIG. 10. — Corte núm. 510 del encéfalo de gato recién nacido, dado a nivel de la luz endimaria abriéndose al 4.º ventrículo (X).

En cuanto a la interpretación de los dibujos, interesan, ante todo, los perfiles de la formación que queremos reconstruir, dificultad propia de la reconstrucción de cualquier tipo, sobre todo, si se trata de acusar límites difusos de F.R.

Por lo que se refiere al apilamiento de los cortes y del pegado de los mismos, no hay dificultades especiales que apuntar en relación con las reconstrucciones tipo BORN. Estas particularidades ya han sido descritas suficientemente en otras publicaciones (AMAT, 1962; ESCOLAR, 1963; etc.).

En cuanto a los desmontajes y enganchados que se van colocando, podrían indicarse muchas particularidades, pero no resultarían eficaces describirlas en la publicación, sino que es más conveniente ir las experimentando en la realidad.

Como conclusiones del presente trabajo, debemos destacar:

1.º Insistimos, como otros autores han hecho, que cuanto mejor sea la serie disponible (serie sin artefactos, sin que falte ningún corte, con contrastes suficientes, etc.) mayor partido se le obtiene a la reconstrucción tridimensional que se desee realizar.

2.º Que si bien el procedimiento de reconstrucción está sistematizado en una serie de fases imprescindibles, existen en algunas de ellas verdaderos problemas interpretativos de perfiles difusos, así como desprendimientos de zonas desmontables y colocación de enganches que sólo la práctica y una capacidad de adaptación decidida, puede resolver eficazmente.

Resumen

Se hacen algunas indicaciones para la mejor obtención de reconstrucciones estereométricas desmontables mediante el plástico espumoso. Se toma como referencia concreta un encéfalo de gato recién nacido y se aportan algunos datos topográficos de la formación reticular a lo largo del neuroeje.

Summary

We make some indications for a better obtention of a dismountable stereometric reconstructions using Plastic-Foam. We take as a reference the brain of a new born cat and to take some topographic data from the reticular formation all along the Central Nervous System.

Zusammenfassung

Es werden einige Anweisungen gegeben zur besseren Anfertigung der auseinanderlegbaren, stereometrischen Schaumstoffrekonstruktionen. Als Referenz nehmen wir das Gehirn einer neugeborenen Katze und beschreiben einige topographische Punkte der Formatio reticularis, längst der Basis a des Zentral-Nervous-Systems.

Resumé

On fait quelques indications pour la meilleure obtention des réconstructions stéréométriques démontables grâce à la mousse en plastique. On prend comme référence concrète l'encéphale d'un chaton nouveau-né et on rapporte quelques données topographiques de la formation réticulaire au long de System Nerveus Central.

LEYENDA COMUN DE LAS FIGURAS

<i>Acb</i> : Núcleo acumbens	<i>Oli</i> : Núcleo olivar inferior
<i>Ca</i> : Núcleo caudado	<i>Ols</i> : Núcleo olivar superior
<i>Cl</i> : Claustro	<i>Pl.Co</i> : Plexos coroideos
<i>Dg</i> : Allocortex diagonal	<i>PO</i> : Polo occipital
<i>E</i> : Epífisis	<i>PT</i> : Polo temporal
<i>Fc</i> : Núcleo del facial	<i>Put</i> : Putamen
<i>FR</i> : Formación reticular troncoencefálica	<i>QO</i> : Quiasma óptico
<i>FRr</i> : Formación reticular rostral	<i>SN</i> : Substancia negra
<i>FR.Sb</i> : Formación reticular subta-lámica	<i>T</i> : Tálamo óptico
<i>Hp</i> : Hipófisis	<i>Tr</i> : Núcleo descendente del trigé-mino
<i>Neo</i> : Neocortex	<i>VL</i> : Ventrículo lateral
<i>Nmy</i> : Núcleos motores yuxtaependimarios	<i>V-3.º</i> : Cuarto ventrículo
<i>NP</i> : Núcleos del puente	<i>V-4.º</i> : Cuarto ventrículo
	<i>X</i> : Luz endimaria abriéndose al 4.º ventrículo

BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1962): Reconstrucción de un encéfalo de gato con láminas de plástico. «An. Anat.», 24, XI, 399.
- ESCOLAR, J. (1963): Die Rekonstruktions Verfahren in der Biologie. First Congress. International Society for Stereogy. «Wein», núm. 1.
- J. M. SMITH-AGREDA (1965): Beziehungen zwischen der Formatio Reticularis telencephalica und dem Allocortex während der Entwicklung. Verhandlung der. «Anat. Gesel. An. Anat.», 50, XX.
- J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN, L. MARTÍNEZ-MILLÁN, J. VALDIZÁN, A. LOBO y J. L. LANCHO (1972): Beziehung zwischen experimentellen Läsionen am Katzehirn und ihren nachfolgenden vegetativen Störungen. 67 Versammlung der Anatomischen Gesellschaft. En prensa en el Verhand der A. Ges. 1973.
- KLÜVER, H. y E. BARRERA (1953): A method for combined staining of cells and fibers in the nervous system. «J. Neuropath. exp. Neurol.», 12, 400.
- MAGOUN, H. W. (1952): An ascending reticular activation system in the brainstem. «Arch. Neur. Psych.», 67, 145.
- MORUZZI, G. and H. W. MAGOUN (1949): Brain stem reticular formation and activation of the EEG. «Clin. Neurophysiol.», 1, 455.
- NGAI, S. H. and S. C. WANG (1957): Organization of central respiratory mechanisms in the brainstem of the localisation by stimulation and destruction. «Amer. J. Physiol.», v.-190.
- PITTS, R. F. (1941): The differentiation of respiratory centers. «Amer. J. Physiol.», 134.
- WANG, S. C. y S. H. NGAI: Organization of central respiratory mechanism in the brain system of the cat. Genesis of normal respiratory rhythmicity. «Amer. J. Physiol.», v.-190, 333.

Departamento Anatómico
Dr. J. L. LANCHO
Facultad de Medicina
Salamanca (España)

SOBRE LA ACCIÓN DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICAHUMANA EN EL SUBSTRATO GENITAL FEMENINO EN DIVERSAS ETAPAS DEL DESARROLLO POSTNATAL*

(REFERENCIA ENTRE LAS TRANSFORMACIONES VASCULARES Y EL GRADO DE MADURACIÓN PREVIO)

POR

E. LOSADA MENÉS

Introducción

EL estudio del aparato genital, tanto en la mujer como en los animales hembras fue siempre un tema predilecto en investigación.

En la bibliografía encontramos que se estudia desde los puntos de vista: morfológico, histoquímico, bioquímico, etc. Asimismo, este estudio se hace tanto en casos de normalidad, como en el embarazo, etc. Atendiendo al material humano, lo más empleado serán aquellos casos patológicos, como tumores, quistes, accidentes, etc.

En la experimentación animal es muy frecuente someter a éstos a la influencia hormonal o bien a actuaciones quirúrgicas, tales como hipofisectomía, ovariectomía, embarazos simulados, etc.

El ovario y el útero son las dos porciones más preferidas para estas investigaciones, y dentro de este último lo es el epitelio endometrial. El miometrio y el tejido conectivo uterino han sido menos a menudo el tema central de estudios morfológicos.

En nuestro trabajo, sometemos a los animales a un tratamiento hormonal (inyecciones de gonadotropina coriónica) para ver las transformaciones que sufren algunos de los substratos genitales.

* Tesis Doctoral realizada en el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Zaragoza, dirigida por el Dr. D. Santiago Rodríguez, Prof. agregado de Anatomía. Fue calificada el 20-II-1972 de Sobresaliente "cum laude", por el siguiente Tribunal: Profesores Escolar (presidente), V. Smith-Agreda, E. Martín, Murillo y Marín Górriz.

Antecedentes bibliográficos

Dentro de las transformaciones del substrato endocrino, el substrato genital ha sido estudiado por diversos autores.

Con objeto, sin embargo, de tener un concepto amplio y de encuadrar nuestra experiencia en el extenso campo de las *transformaciones de las glándulas endocrinas* y las mutuas correlativas funcionales que existen entre ellas, creemos oportuno referir jalones fundamentales dados por diversos autores.

Tenemos que remontarnos, pues, a los trabajos de SELYE (1946) y SELYE y CONSTANTINIADIS (1948), que al hablarnos del "síndrome general de adaptación" y de la repercusión que todo proceso alarmígeno tiene sobre las glándulas adrenales, llaman la atención sobre el importante papel de estas en cualquier trastorno que sufra el organismo viviente.

TONUTTI (1953) aporta el concepto de "transformación progresivo-regresiva" de la suprarrenal, avalada morfológicamente por alteraciones en las capas corticales de dicha glándula.

KRACHT (1953a, 1953b) lleva estos conceptos al substrato tiroideo y MUSCHKE (1953) al substrato genital. Así mismo, BOTELLA (1951, 1956) aporta y recopila datos sobre las transformaciones y relaciones entre suprarrenales y genitales.

AMAT (1956) observa en gatas a las que provoca una intensa luteinización que la corteza suprarrenal está en fase progresiva, es decir, con una capa fascicular grande y una glomerular casi inexistente. Por el contrario, en fase foliculinizante el cuadro suprarrenal es inverso. Por último, quisiéramos decir que la lectura del trabajo de ESCOLAR y col. (1957) dan una idea amplia sobre este tema de las transformaciones del substrato endocrino, dentro del cual queda la presente experiencia.

Pasamos a continuación a recopilar observaciones ya hechas sobre *útero*. A este propósito, y teniendo en cuenta que en el embarazo existe un influjo hormonal que repercute en toda la organización genital, KEIFFER (1923) encuentra en la pared uterina de mamíferos hembras en gestación un incremento de la substancia intercelular, fibrilar y de los capilares. STIEVE (1935) observa, en este caso, en útero humano gestante, una hipertrofia y proliferación de las células musculares.

Sobre este particular, investigaciones más modernas y que se salen ya del terreno estrictamente morfológico, estudian con deteni-

miento las proporciones de tejido muscular y conectivo en cuerpo y cuello uterino. Por la repercusión que tales datos tienen para la comprensión de la dinámica funcional uterina consideramos interesante reseñarlos.

Así, DUBRAUSKY (1965) encuentra en úteros no grávidos un 25 % de tejido muscular en la región del cuerpo istmo, y un 20 % en el cuello. Durante el primer trimestre del embarazo encuentra que esta proporción aumenta en cuerpo-istmo al 70 %, mientras que en cuello sigue siendo 20 %, lo que lleva a este autor a decir que el cuello, que posee mucha mayor proporción de tejido conectivo que muscular, no responde a agentes espasmolíticos. SCHWALM y DUBRAUSKY (1966), con estudios más detallados, encuentran las siguientes cifras: 28 % de músculo en útero no grávido, 25 % en istmo y 8 % en cuello. Dentro del útero, las paredes anterior y posterior del mismo contienen más proporción de musculatura que las laterales. En este mismo trabajo, estos autores dicen que durante el embarazo aumenta la cantidad de músculo en cuerpo e istmo, en el 42 %. Por otra parte, RORIE y NEWTON (1967) determinan químicamente mediante actomiosina que en el tercio inferior del cuello la proporción muscular es de 6'4 %; en el tercio medio, de 18 %, y en el tercio superior y cuerpo uterino, del 68 %.

En otro orden de cosas, YAKOVLEV (1965), en un trabajo sobre estructura y fisiología del útero, dice que durante el embarazo dos procesos fundamentales tienen lugar: desarrollo interno de nuevos elementos tisulares del músculo liso y elongación de las fibras musculares lisas.

JAEGER (1965) encuentra al microscopio electrónico que la mayor parte de las fibras de tejido conectivo son de colágeno. Este mismo autor, previamente, en el año 1962 publica un trabajo sobre la musculatura lisa del útero, encontrando también, con la ayuda del microscopio electrónico, que las células oscuras musculares activas predominantes en el útero humano grávido, no se ven en el no grávido. Asimismo, en el útero grávido no observa elementos sincitiales que conecten unas células con otras. Abundando sobre este particular, JAEGER y POLEMANN (1962) observan en la pared uterina dos diferentes tipos de células musculares: unas de citoplasma claro y gránulos regularmente constituidos y muy contrastados; otras de citoplasma muy contrastado, numerosas y grandes mitocondrias, así como un retículo endoplásmico bien desarrollado; todo lo cual estaría en relación con la intensa actividad funcional de estas últimas.

Otro criterio sobre la actividad de las células musculares, en este caso en relación con una función sensitiva, es el de LAGUENS (1964) cuando observa que cada célula muscular lisa del útero contiene, al menos, un cilio al que dicho autor achaca una función sensitiva.

Sobre la dinámica funcional de las fibras musculares uterinas consideradas de una manera global, WETZSTEINS (1965) nota que si bien los haces musculares del cuerpo uterino cursan en todas direcciones, prevalecen los de la dirección oblicua sobre los verticales, y sólo en la región del istmo existe un predominio de las concentraciones musculares en sentido circular.

Todas estas citas nos hablan evidentemente del papel que juega el tejido muscular en el funcionalismo uterino, y además nos llevan a la consideración de que las diferencias de tipo estructural entre cuerpos y cuello de útero tienen su correspondiente correlación en la dinámica funcional de los mismos.

Por lo que se refiere al tejido conectivo, acudimos a trabajos como el de KRICHESKY (1942), en donde al hacer referencia a dicho tejido nos habla de que encuentra un gran edema del tejido estromal poco antes del parto. DANFORTH (1947) observa que en el útero humano no grávido, el cuello está compuesto fundamentalmente de tejido fibroso, encontrándose, sin embargo, gran proporción de fibras musculares en la parte superior del mismo.

CRETIUS (1965) observa que el colágeno que soporta las paredes uterinas, sufre importantes alteraciones químicas durante el embarazo y parto; alteraciones estas que permiten una mayor capacidad de estiramiento de dichas fibras. Después de una serie de pruebas químicas concluye que durante el embarazo existe un incremento intermolecular del colágeno por unidad de peso.

Respecto a las transformaciones que sufre el colágeno en diversas circunstancias experimentales, son de destacar los trabajos de FAINSTAT. Este autor (1962) observa que el colágeno del estroma endometrial, que se pierde en gran cantidad en ratas castradas, necesita para su regeneración de hormonas foliculares, no teniendo la progesterona ningún papel en este proceso regenerativo. Este mismo autor, FAINSTAT (1963a), observa en ratas adultas vírgenes que dicho estroma endometrial está formado fundamentalmente a base de fibras colágenas gruesas y densas. En el embarazo, estas fibras son mucho menos prominentes y sufren dispersión edematosa, desapareciendo en gran proporción en los últimos cinco días de la gestación. La dispersión edematosa a que antes nos referíamos, no evoluciona por igual en toda la pared uterina, ya que se observa una menor dispersión edematosa alrededor de las glándulas basales del endometrio, así como en las proximidades del miometrio. Así mismo, FAINSTAT (1963b) encuentra que las fibras colágenas no se recuperan en ratas castradas y no tratadas con estrógenos. En ratas que no amamantaron y tuvieron el estro, se recuperan dichas fibras en un espacio de tres semanas.

Por otra parte, JOERSEN (1962) hace un estudio de la influencia de estrógenos y andrógenos sobre las fibras y células del tejido conectivo del útero del cobaya. Llega a la conclusión de que ambas hormonas a pequeñas dosis disminuyen la celularidad, así como la granulación de las mismas. Dicha terapia estrogénica o androgénica, si se hace más prolongada da lugar a que aumente el número de células, así como su granulación. Por otro lado, este tipo de terapia hormonal produce un aumento del tejido intersticial del miometrio.

Referente al ovario, autores como THIEBLOT, SIMONNET, MELIK y SEGAL (1955), encuentran que una sola dosis de hormona gonadotropina coriónica (HCG) produce ya profundos cambios en las estructuras ováricas.

LAMOND (1958) observa que una amplia gama de dosis pequeñas de dichas hormonas dan lugar, en el ratón, a una respuesta uterina similar, mientras que la respuesta ovárica es diferente para cada una de las dosis.

VELARDO (1959) observa que la HCG estimula al tejido intersticial del ovario de ratas hipofisectomizadas. Así mismo comprobó que dicha hormona estimula la ovulación y prolonga la acción lútea en ratas a las que previamente se les había provocado un pseudoembarazo.

En relación con la acción de la HCG y la edad de los animales, ZARROW y WILSON (1961) encuentran que los folículos primordiales de la rata empiezan a ser sensibles a las gonadotropinas, a los 17 ó 18 días de edad. Esta sensibilidad llega al máximo en las dos semanas siguientes para empezar a decrecer a continuación. ECKSTEIN (1962) llega a la conclusión de que en ratas sometidas a la acción de la gonadotropina coriónica y sérica, el peso de ovarios y útero alcanza su máximo en los animales de unos treinta días de edad; pero si bien la respuesta uterina es idéntica para ambas hormonas, no ocurre así en el caso del ovario.

Otras circunstancias relacionadas con este tema bibliográfico nos lo proporciona el trabajo de SMITH y BRABRURY (1963) que observan que en ratas vírgenes sometidas a tratamiento estrogénico, existe un aumento de la respuesta ovárica a las gonadotropinas.

Queremos señalar, así mismo, que GOLD, CASTILLO, BORSHER y SCOMMEGNA (1965) encuentran que la administración de HCG da lugar a ovarios quísticos, cosa que no produce la FSH ni la LH, tanto aisladas como asociadas entre sí o con otras hormonas.

Por último, quisiéramos mencionar que HAMBURGER y PETERSEN-BJERGAARD (1937) inyectan diferentes dosis de HCG a ratas inmadu-

ras y que de los tres métodos de dosificación empleados (aumento del peso ovárico, luteinización del mismo y aumento del peso uterino) piensan que el mejor es el del peso ovárico.

Planteamiento

En este trabajo utilizamos animales en diversas fases del desarrollo postnatal y tratados con diferentes dosis de gonadotropina coriónica humana (HCG); los resultados que se obtengan serán sometidos a discusión, teniendo en cuenta algunos apartados como los que siguen:

1.º Las transformaciones sufridas por el aparato genital tras inyección de diversas dosis de hormona gonadotropina coriónica humana. Genitales externos los utilizados fundamentalmente como referencia.

2.º Si existe verdaderamente relación entre las transformaciones que sufre el substrato genital y la dosis (pequeña o grande) de hormona inyectada.

3.º Qué clase de correlación existe entre la edad del animal, transformación del substrato y dosis administradas.

4.º Observación de la respuesta ovárica y su relación con las transformaciones uterinas.

Material y métodos

El animal de experimentación utilizado ha sido la rata blanca hembra en número de 41. Dos de ellas embarazadas (el resto eran vírgenes) nos sirven como controles y se sacrificaron a los 11 días de gestación, aproximadamente. El resto se distribuyó de la siguiente manera: 8 de *un mes de edad*, de las que una es testigo, otra se inyecta con una unidad rata (U.R.) de gonadotropina coriónica humana (HCG) (Prednyl de Lab. Organon), tres se inyectan con 10 U.R. y las otras tres con 100 U.R. de HCG. En todos los casos la dosis empleada se inyectó subcutáneamente y *en una sola inyección*. Se sacrificaron en atmósfera de éter a las 48 horas de administrado el medicamento.

Otro grupo de *un mes y medio de edad* que constaba asimismo de 8 animales, fue utilizado en las mismas condiciones que en el caso anterior.

Un tercer grupo de *dos meses de edad* con el mismo número de animales sufrió idéntica experimentación.

Un cuarto y último grupo constaba de 15 animales de *dos meses y medio de edad*; ocho de ellos se trataron como los grupos anteriormente descritos; tres fueron inyectados con 10, 100 y 1.000 U.R. de HCG, respectivamente, y sacrificadas a las 72 horas; a las cuatro restantes se les administró 1, 10, 100 y 1.000 U.R., sacrificándolas a las 24 horas de la inoculación.

Con objeto de ver macroscópicamente las transformaciones sufridas, una vez abierto el abdomen se fotografía «in situ» el aparato genital, perfun-

diendo a continuación —mediante inyección en ventrículo izquierdo— con formol al 10 % o con líquido de Bouin. Después de comprobado el endurecimiento debido al fijador, se aisló todo el aparato genital, separando a continuación ovarios y úteros junto con el cuello, sumergiéndolos en el fijador correspondiente: alrededor de 24 horas para el caso del líquido de Bouin y de 48 horas a 72 cuando se trataba de formol.

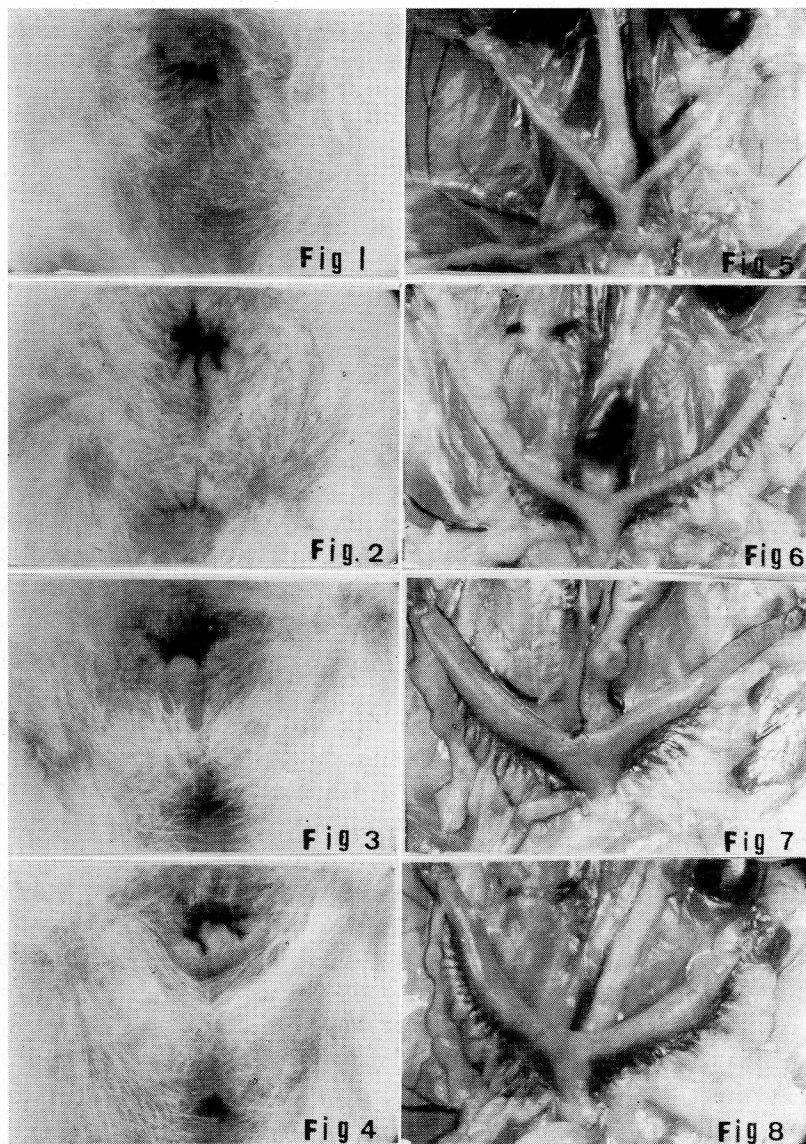
Lavado prolongado de las piezas en agua corriente. Deshidratación empezando por alcohol de 70 % hasta llegar al absoluto. Benzoato de metilo, benzol e incluso en paraplast. Se obtuvieron cortes de seis a siete micras de espesor y se utilizaron las siguientes tinciones: Hemalumbre de Mayer, Tricrómico de Goldner Masson, Tricrómico de Martius. El material que hemos utilizado de manera preferente, ha sido el teñido con el Tricrómico de Goldner-Masson.

Observaciones macroscópicas

Refiriéndose en primer lugar a los genitales externos, se observan unos cambios en vulva consistentes en congestión y tumefacción de la misma y aumento de su abertura. Dichos cambios son ya ostensibles al comparar el animal testigo (fig. 1) con animales inyectados con 1 U.R. de HCG (fig. 2), pasando a ser muy acusados en los animales inyectados con 10 U.R. (fig. 3). Entre este lote de animales y los inyectados con 100 U.R. (fig. 4), existe así mismo una diferencia en sentido positivo.

Para ver estas transformaciones de los genitales externos, nos hemos referido al grupo de animales de dos meses de edad, pues resume en ellos lo ocurrido en el resto de las series. Una síntesis de las observaciones macroscópicas de los genitales, se da en la tabla 1.

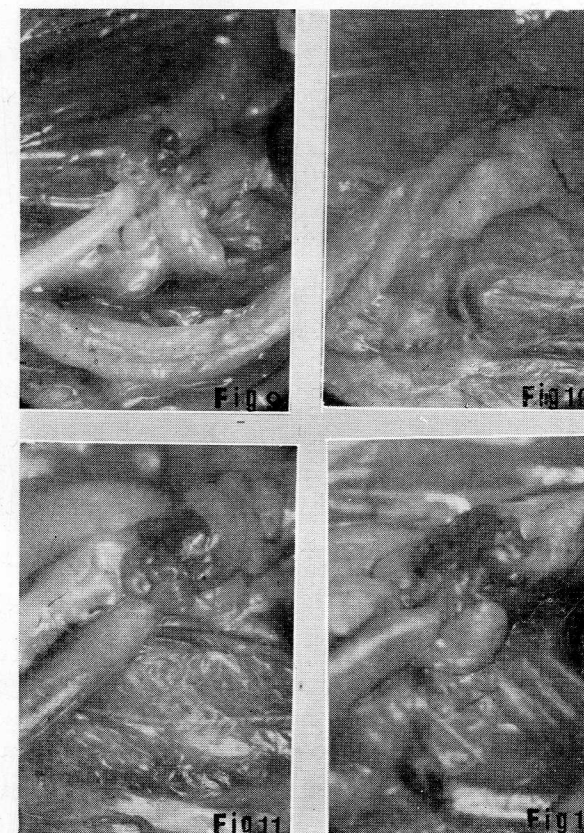
En cuanto a los genitales internos, se observa así mismo a simple vista un aumento en el tamaño de ovarios, útero y cuello, ya en los animales de un mes de edad, pero recurrimos así mismo a la serie de dos meses de edad para ver con más detalle las transformaciones que de una manera general se observan en la mayoría de las series. En la figura 5, animal testigo, se ven ovarios, así como ambos cuernos uterinos que van a unirse para constituir el cuello. Este substrato se nota ligeramente aumentado de tamaño y tumefactado en los animales inyectados con 1 U.R. (fig. 6). Llegan al máximo estos cambios en los animales tratados con 10 U.R. (fig. 7) en donde observamos un acortamiento de ambos cuernos con un aumento del diámetro de los mismos, del doble o más que en el animal testigo. Los animales tratados con 100 U.R. (fig. 8), presentan así mismo acortamiento uterino no acompañado, sin embargo, de un engrosamiento útero-cervical tan manifiesto como el presentado por las ratas tratadas con 10 U.R.



Figs. 1, 2, 3 y 4. — Ratas: Testigo y tratadas con 1, 10 y 100 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificio a las 48 horas de la inyección. Dos meses de edad. Obsérvese la vagina (arriba) como reacciona ya (fig. 2) en la inyectada con 1 U.R. de HCG. La abertura vaginal y congestión de su bordes es más acusada en los dos animales siguientes. (En todos los animales de nuestra experiencia la dosis se administró en una sola inyección.)

Figs. 5, 6, 7 y 8. — Genitales internos correspondientes a los mismos animales: testigo y tratados con 1, 10 y 100 U.R. de HCG, citados en las cuatro primeras figuras. Nótese que entre las figuras 5, 6 y 7 la diferencia en cuanto a acortamiento y grosor de cuernos y cuello uterino es muy manifiesta. No así entre las figuras 7 y 8, no obstante existir una diferencia de dosis que es igualmente 10 veces mayor.

Un mayor detalle "in situ" de estas transformaciones se observa en las figuras siguientes en donde se corrobora que proporcionalmente, el cambio más acusado, sobre todo en lo referente al útero, pertenece a los animales inyectados con 10 U.R. Entre los inyectados con 10 U.R. y con 100 U.R., es a nivel de ovario y no de útero (figuras 11 y 12) donde existe cierta diferencia.



Figs. 9, 10, 11 y 12. — Detalle de ovario y útero de animales de dos meses de edad: testigo y tratadas con 1, 10 y 100 U.R. de HCG, con objeto de ver macroscópicamente las transformaciones sufridas. Es de destacar, al comparar las figuras 11 y 12, que si bien el aspecto del útero es muy similar, el ovario del inyectado con 100 U.R. de HCG está más hipertrofiado.

Ya indicábamos en el capítulo "Material y métodos" que el grupo de animales de dos meses y medio de edad —prácticamente maduros desde el punto de vista sexual— constaba de mayor número de individuos con objeto de hacer observaciones de tipo macroscópico. A este respecto las transformaciones que sufren los animales

de esta serie que se sacrificaron a las veinticuatro horas después de inyectados, son los siguientes: se nota cierta diferencia entre los animales tratados con 1 U.R. (fig. 13) y los tratados con 10 U.R. (fig. 14). Los tratados con 100 U.R. (fig. 15) presentan para este período de tiempo (24 horas de experimentación) una reacción aproximadamente igual que la del animal con 1 U.R. Los tratados con 1.000 U.R. (fig. 16) son los que dan una acusada reacción de tumefacción, engrosamiento y acortamiento uterino.

TABLA 1. — Síntesis de observaciones macroscópicas en los genitales. Animales de dos meses de edad

	Testigo	1 U.R.*	10 U.R.	100 U.R.
Congestión ovárica	x	xx	xxx	xxx
Cuerpo amarillo	x	xx	xxx	xx
Acortamiento uterino	—	x	xxx	xxx
Engrosamiento uterino	—	x	xxx	xx
Congestión uterina	—	x	xxx	xx
Tumefacción genitales externos	—	x	xx	xxx
Apertura vulvar	x	xx	xxx	xxx

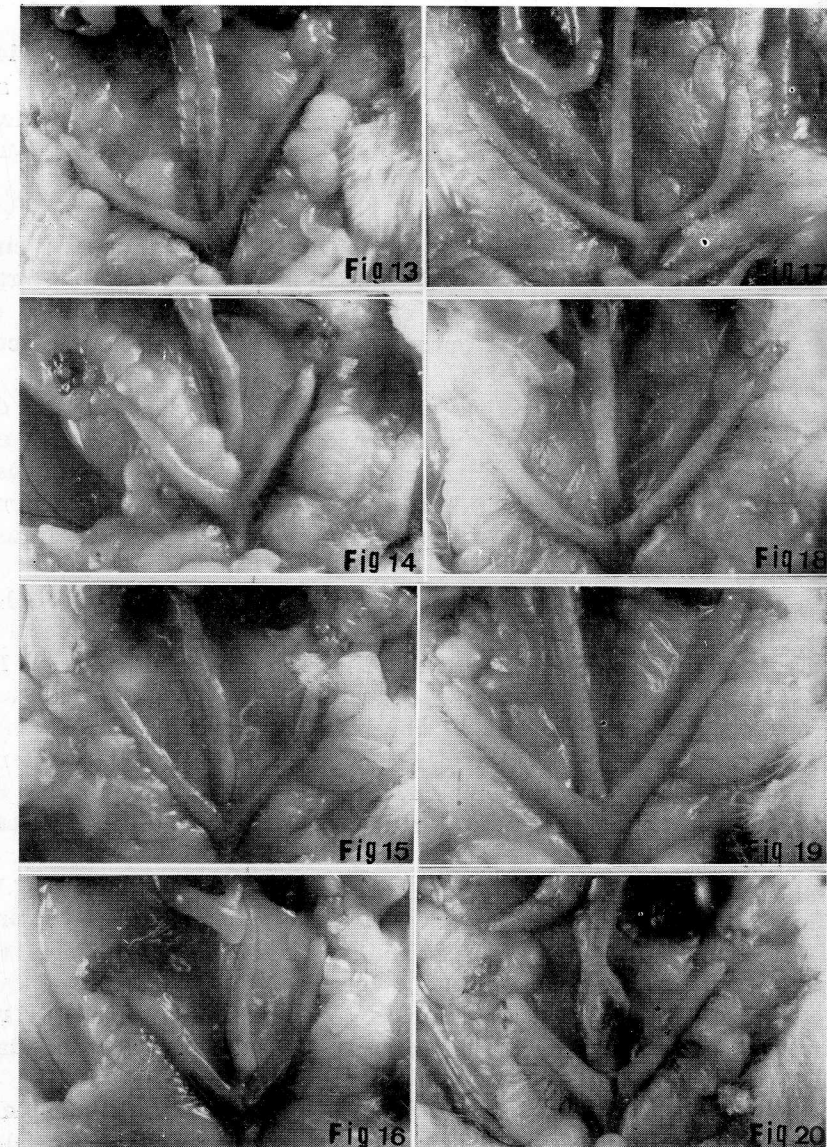
* U.R. = unidad rata de gonadotropina coriónica humana.

Veamos a continuación los animales de esta misma edad inyectados con 10, 100, 1.000 U.R. de HCG, siempre en dosis única, que se sacrificaron a las 72 horas. La figura 17 corresponde a un animal testigo de dos meses y medio de edad. Son los tratados con 1.000 U.R. los que presentan los cambios más ostensibles (fig. 19). Si comparamos esta figura con la 20 (1.000 U.R.) veremos en esta última un acortamiento uterino, pero al mismo tiempo una disminución del grosor del mismo respecto al anterior.

De todo lo antedicho se deduce que existen una serie de factores (edad, dosis hormonal, tiempo de experimentación, etc.) sobre los que se hablará en capítulos posteriores.

Observaciones microscópicas

En este apartado nos referimos —sólo con objeto de simplificar datos— a los animales tratados con 10 y 100 U.R. de HCG, con sus correspondientes testigos, así como a los sacrificados en gestación.



FIGS. 13, 14, 15 y 16. — Ratas de dos meses y medio de edad tratadas con 1, 10, 100 y 1.000 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 24 horas. Puede observarse cómo el tiempo de experimentación —sólo un día en este caso— origina el que las diferencias no sean muy manifiestas.

FIGS. 17, 18, 19 y 20. — Genitales internos correspondientes a ratas de dos meses y medio de edad: testigo y tratadas con 10, 100 y 1.000 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 72 horas de la inyección. Proporcionalmente, la hipertrofia de cérvix y útero es menor que en las ratas de dos meses de edad, incapaces aún de gestar.

Animales de un mes de edad

El material perteneciente a los testigos queda plasmado en las figuras 21, 24. El ovario (fig. 21) presenta un aspecto adecuado a su edad, en donde predominan los folículos primarios. Algunos de ellos, sin embargo, empiezan a mostrar cavidad folicular. No existen aún cuerpos amarillos.

La figura 24 muestra una sección a pequeño aumento de uno de los cuernos uterinos, destacándose claramente la capa muscular circular del miometrio, no siendo tan manifiesta la capa de fibras musculares longitudinales o capa externa. El endometrio ofrece el aspecto clásico con su ribete epitelial y la parte subyacente o conectiva.

Los animales de un mes de edad e inyectados con 10 U.R. de HCG presentan determinadas particularidades. Así, por ejemplo, en ovario (fig. 22) se observa, junto a folículos primordiales, vesículas de De Graaf, algunas de ellas muy voluminosas, haciendo prominencia en el epitelio germinativo. No se observa tampoco en este caso cuerpos lúteos.

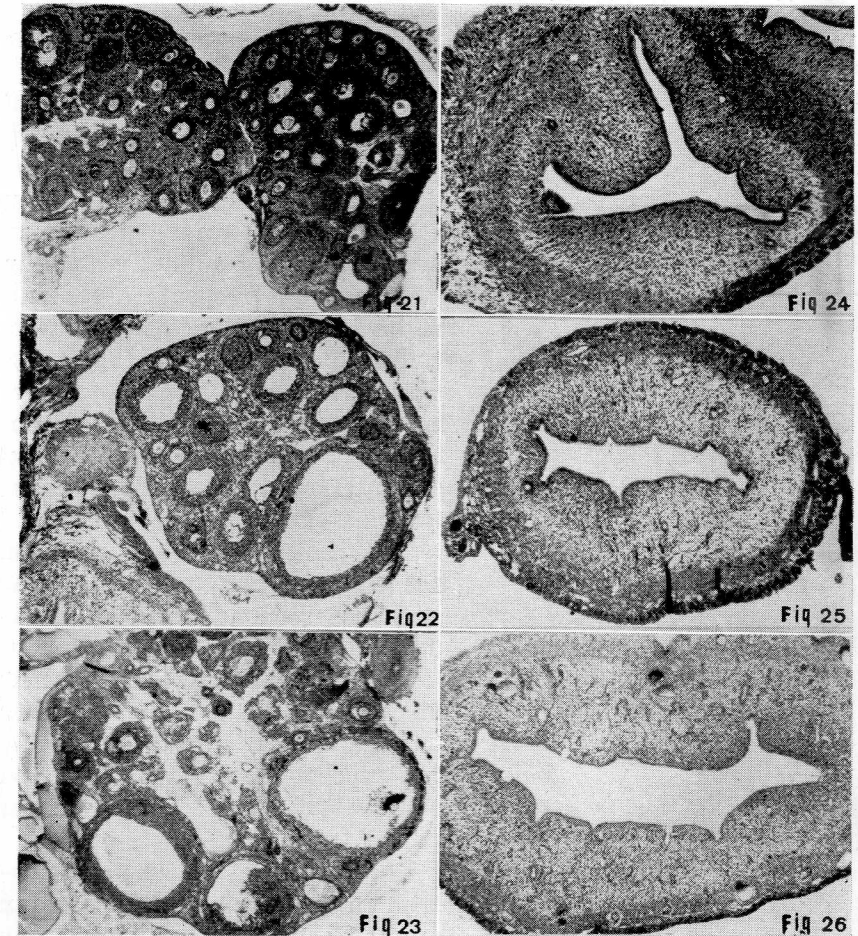
En una sección panorámica del útero de esta tanda de animales (fig. 25) se observa un aumento de la vascularización del conectivo endometrial, así como proliferación de las glándulas tubulares. Es digno de ser notado, el hecho de que la vascularización es muy manifiesta entre ambas capas de fibras musculares lisas del miometrio; circunstancia que prácticamente no se da en los correspondientes testigos. El epitelio endometrial es más alto y hay signos de edema estromal, o con estroma mucho más laxo que en el caso anterior.

En los animales de esta misma edad, pero tratados con 100 U.R. de HCG, el ovario (fig. 23) muestra vesículas de De Graaf más abundantes y tan voluminosas que se puede hablar ya de quistes en algunas de ellas. Llama la atención en este caso el hecho de que se observa ya algún cuerpo amarillo joven, circunstancia que no ocurrió ni en los testigos ni en los animales de esta misma edad inyectados con 10 U.R.

El útero (fig. 26) presenta una reacción vascular a nivel del estroma endometrial (fig. 27). Este hecho es menos acusado entre las capas musculares circular y longitudinal del miometrio. Por otra parte, el epitelio luminal es algo más bajo que en el caso anterior y el tejido linforeticulado subepitelial más compacto.

Animales de mes y medio de edad

En los testigos, el ovario presenta un aspecto de inmadurez sexual (fig. 28). Los tratados con 10 U.R. de HCG nos presentan un



FIGS. 21, 22 y 23. — Ovarios correspondientes a ratas de *un mes de edad*: testigo y tratadas con 10 y 100 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 48 horas. Tric. de Goldner Masson. 16 \times . En las tratadas con 10 U.R. (fig. 22) no se observan cuerpos lúteos. En la figura 23 (100 U.R.) se observan folículos en fase de luteinización.

FIGS. 24, 25 y 26. — Secciones transversales de úteros que corresponden, respectivamente, a los animales citados en las tres figuras anteriores. Tric. de Goldner Masson. 20 \times . Obsérvese en la figura 25 (10 U.R. de HCG) el edema del estroma endometrial, desarrollo glandular y mayor vascularización, muy acusada sobre todo entre ambas capas de musculatura lisa. En la figura 26 (100 U.R. de HCG) la hipervascularización domina en el estroma endometrial.

panorama totalmente distinto, con vesículas de De Graaf y cuerpos lúteos jóvenes (fig. 29). Similar aspecto, pero con más abundancia de quistes y cuerpos amarillos es el de los inyectados con 100 U.R. de HCG (fig. 30).

Por lo que se refiere al cuerpo uterino, los animales testigos (figura 31) muestran un aspecto que si se compara con el de un mes de edad (fig. 24) lo que más nos llama la atención es una mayor vascularización entre las capas musculares longitudinal y circular.

Por lo que respecta a los animales de esta edad, pero tratados con 10 U.R. de HCG (fig. 32), la vascularización a todos los niveles, tanto en el estroma endometrial como sobre todo a nivel del intersticio entre ambas capas musculares, es bien manifiesto.

Los animales tratados con 100 U.R. de HCG, ya vimos cómo el ovario respondía con una maduración acentuada de sus folículos y de cuerpos lúteos. En cuanto al útero (fig. 33) la vascularización ha disminuido considerablemente con respecto a las de 10 U.R. en el intersticio entre ambas capas musculares.

En cuanto al epitelio endometrial en estos animales, no son tan marcadas las diferencias como en los de un mes de edad, aunque

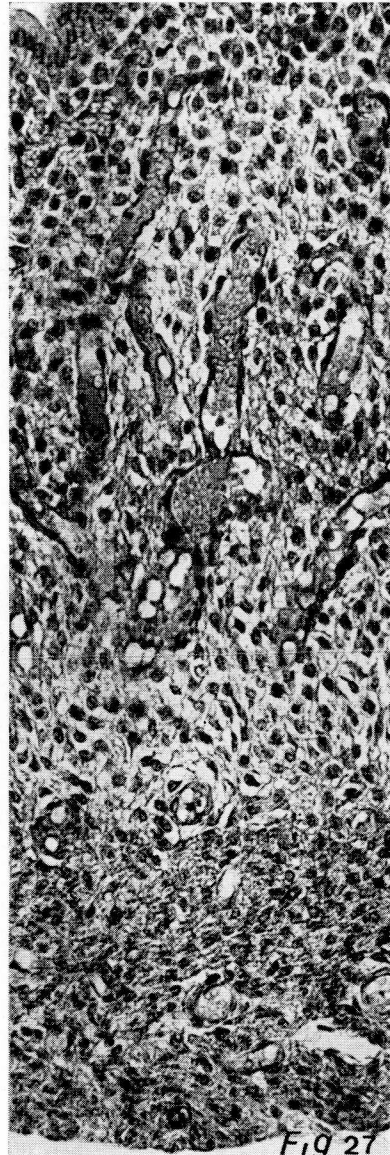
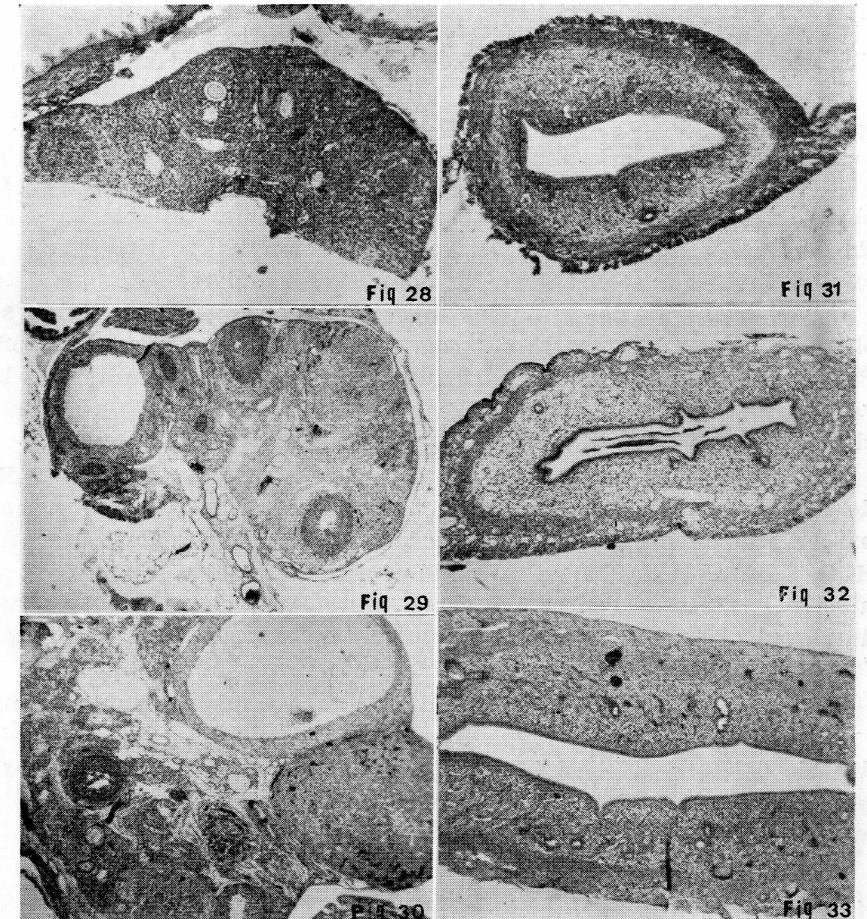


FIG. 27. — Detalle de la figura 26 a 100 \times . Se observa de arriba a bajo, epitelio endometrial, estroma endometrial, capa circular interna de fibras musculares lisas y capa longitudinal externa de fibras musculares. Es evidente la hipervascularización en endometrio en relación con el aumento de la dosis hormonal.



FIGS. 28, 29 y 30. — Ovarios correspondientes a ratas de *mes y medio de edad*: testigo y tratadas con 10 y 100 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 48 horas. Tric. de Goldner Masson. 16 \times . A esta edad el testigo muestra un ovario todavía muy inmaduro. Sin embargo, en los animales experimentales (figs. 29 y 30) existen cuerpos lúteos bien desarrollados y algún folículo de aspecto quístico. El estroma ovárico está muy edematoso.

FIGS. 31, 32 y 33. — Cortes transversales de úteros correspondientes, respectivamente, a los animales citados en las tres figuras anteriores. Tric. de Goldner Masson. 20 \times . En el testigo se observan ya neoformación vascular y glandular. Dicha neoformación vascular es muy manifiesta en los animales tratados con 10 U.R. (fig. 32), destacando los gruesos espacios vasculares entre las capas circular y longitudinal del músculo liso. En el animal de la figura 33 (100 U.R.) domina la neoformación vascular y congestión sanguínea en endometrio. Disminuye, en cambio, entre ambas capas musculares,

desde luego es evidente el edema estromal en los animales sometidos a experiencia, de lo que resulta que el tejido linfo-reticular subyacente al epitelio es menos compacto.

Animales de dos meses de edad

Se da una circunstancia inexistente en los casos anteriores: se observan cuerpos lúteos en ovarios de los animales testigos (fig. 34). En cuerno uterino (fig. 37) la vascularización es ya manifiesta y existe así mismo proliferación de glándulas tubulares.

En el ovario de los animales inyectados con 10 U.R. de HCG, se observan varios cuerpos lúteos (fig. 35) con intensa vascularización. Por lo que respecta al útero (fig. 38) de estos mismos animales, la vascularización y congestión sanguínea es muy abundante, así como el desarrollo de las glándulas endometriales.

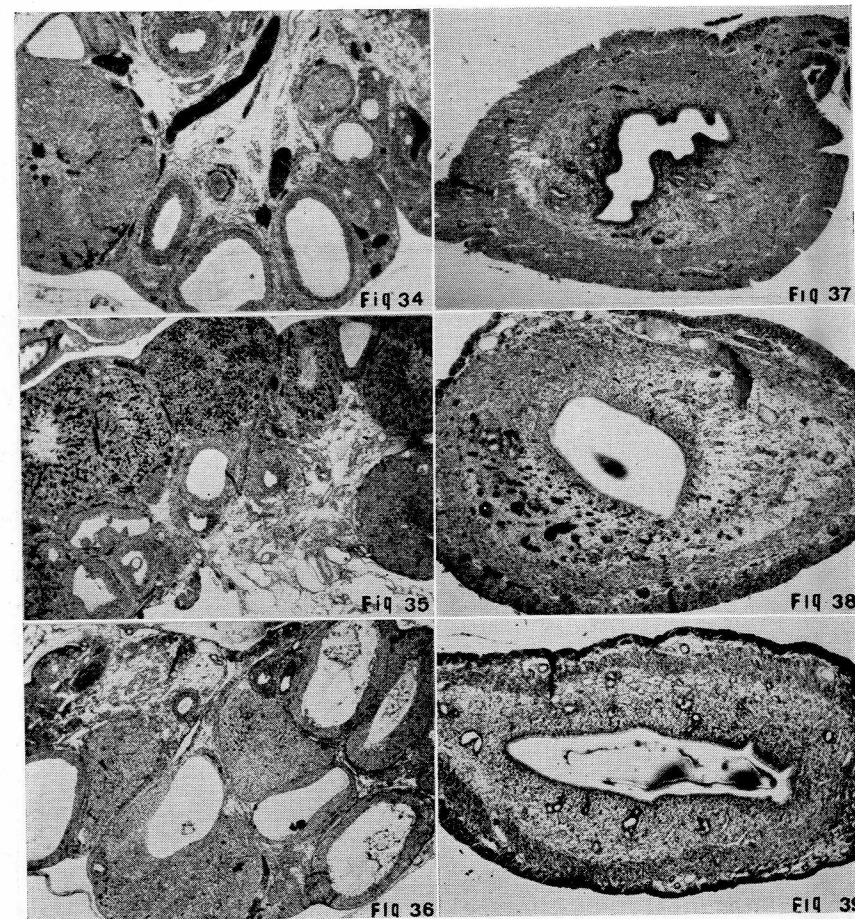
Pasando ahora a las ratas a las que se les administró 100 U.R. de HCG, se observa un ovario (fig. 36) con aspecto quístico y más parecido al de los testigos que al de los inyectados con 10 U.R. de HCG. El útero (fig. 39) muestra hipervascularización abundante a nivel del intersticio entre las capas musculares circular y longitudinal, así como hipertrofia glandular ostensible, siendo muy acusado el edema del estroma endometrial.

El epitelio luminal en los testigos de esta tanda de animales no es muy alto; el núcleo ocupa proporcionalmente un espacio considerable del territorio celular. Por el contrario, en los animales tratados con 10 U.R. de HCG, el epitelio luminal es muy alto, tanto o más que en el caso de los inyectados con 100 U.R.

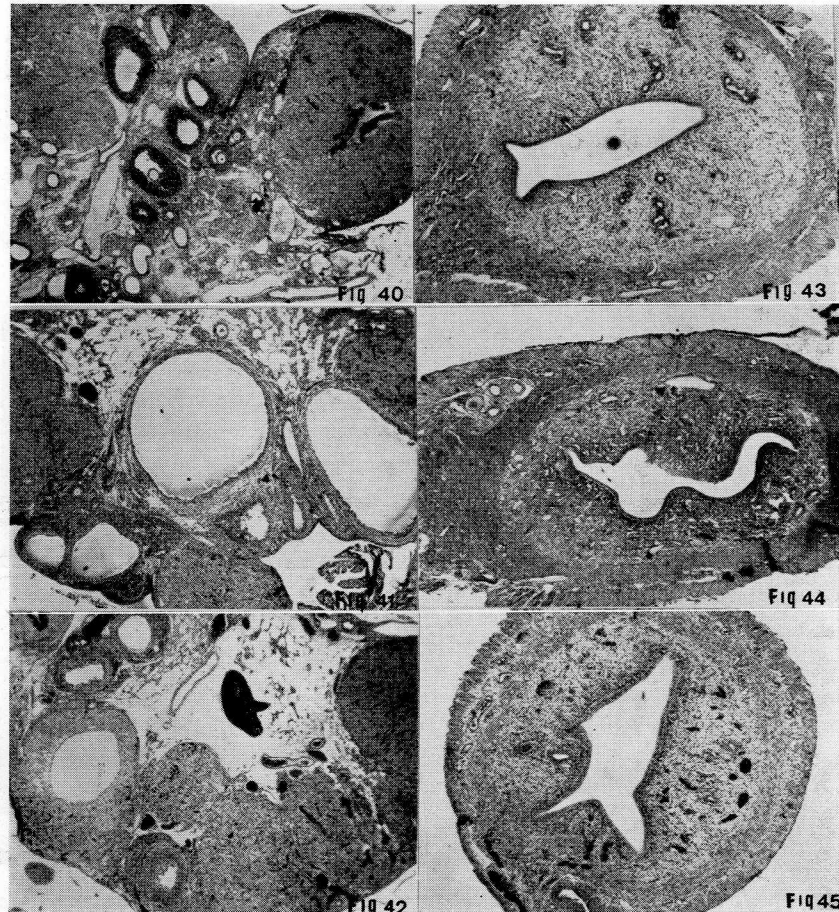
Animales de dos meses y medio de edad

En los testigos, tanto ovario (fig. 40) como útero (fig. 43) presentan el aspecto correspondiente al de una rata adulta. Por lo que se refiere a este último, la proliferación glandular en el estroma endometrial es bastante considerable, así como la vascularización existente entre las capas circular y longitudinal de la musculatura lisa.

En los animales a los que se les inyectó 10 U.R. de HCG, el ovario (fig. 41) muestra cuerpos amarillos, así como algunos quistes. En cuerno uterino (fig. 44) se observa una hipertrofia glandular en el endometrio bastante acusada y sobre todo resalta una hipervascularización de tipo lacunoso muy ostensible. Es así mismo acusado el edema endometrial, notándose dispersas e hinchadas las fibras colágenas, que son más abundantes en las proximidades de las glándulas del endometrio.



Figs. 34, 35 y 36. — Ovarios correspondientes a ratas de *dos meses de edad*: testigo e inyectadas con 10 y 100 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 48 horas de la inoculación. Tric. de Goldner-Masson. 16 \times . En esta serie los testigos muestran ya cuerpos amarillos y estroma edematoso y muy vascularizado. Obsérvese la perfecta luteinización de los tratados con 10 U.R. y el aspecto poliquístico de los tratados con 100 U.R. Figs. 37, 38 y 39. — Cortes transversales de úteros que corresponden, respectivamente, a los animales citados en las tres figuras anteriores. Tric. de Goldner Masson. 20 \times . Llama la atención la gran congestión sanguínea del tratado con 10 U.R. (fig. 38), que se corresponde con un ovario cargado de cuerpos lúteos. Así mismo, es de notar que en los tratados con 100 U.R. (fi. 39), la vascularización disminuye ostensiblemente en endometrio, para aumentar entre las capas interna y externa de musculatura lisa. En endometrio, lo que destaca en esta figura es una intensa proliferación glandular. Nótese igualmente que el ovario de estos animales es poliquístico.



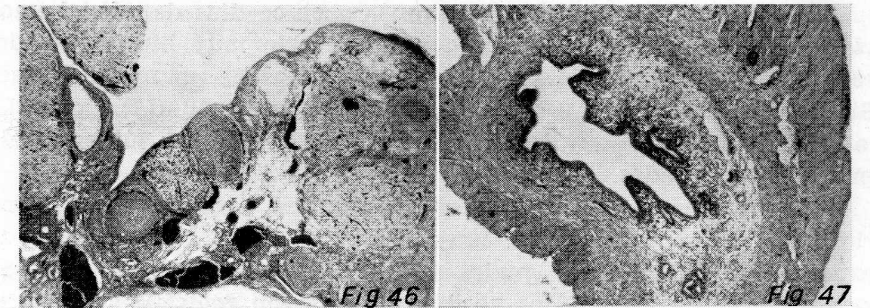
FIGS. 40, 41 y 42. — Ovarios pertenecientes a ratas de *dos meses y medio de edad*: testigo y tratadas con 10 y 100 U.R. de HCG, respectivamente. Sacrificadas a las 48 horas. Tric. de Goldner Masson. 16 \times . A esta edad las ratas son aptas para ser cruzadas. Nótese que con 10 U.R. (fig. 41) aparecen voluminosos folículos junto a un cuerpo amarillo. No así con 100 U.R. (fig. 42) en donde se observa un intenso proceso de luteinización.

FIGS. 43, 44 y 45. — Secciones transversales de úteros; corresponden, respectivamente, a los animales de *dos meses y medio de edad* de las tres figuras anteriores. Tric. de Goldner Masson. 20 \times . Llama la atención sobre todo la neoformación vascular de los tratados con 10 U.R. (fig. 44) y la congestión sanguínea de los tratados con 100 U.R. (fig. 45).

En las ratas de esta misma edad, pero tratadas con 100 U.R. de HCG, el ovario (fig. 42) muestra un aspecto con una mejor luteinización. En útero (fig. 45) la vascularización es más manifiesta que en los testigos, pero menos que en los tratados con 10 U.R. de HCG, lo mismo podríamos decir para el caso de la hipertrofia glandular.

El epitelio endometrial más desarrollado en esta serie corresponde al de las ratas tratadas con 100 U.R.

Como control presentamos material de ratas sacrificadas a mitad de embarazo, aproximadamente. En ovario (fig. 46) existen cuerpos lúteos del embarazo. En útero (figs. 47 y 48) la hipervascularización es acusada sobre todo subepitelialmente.



FIGS. 46 y 47. — Material utilizado simplemente como control comparativo y que pertenece a una rata sacrificada, aproximadamente, a mitad del embarazo (a los doce días del cruce). Aumentos y tinción como en los casos anteriores. En ovario se observan muchos cuerpos amarillos, algunos muy voluminosos como corresponde a un animal en gestación. El corte transversal de útero corresponde, como es lógico al estrechamiento uterino localizado entre la implantación de dos embriones. Existe evidentemente proliferación glandular, así como neoformación vascular, pero en algunos de los animales experimentales es ésta y sobre todo la congestión sanguínea más intensa.

Discusión

Al iniciar este capítulo es lógico que tengamos en cuenta en todo momento algunas circunstancias, tales como: *edad del animal, dosis administrada y tiempo de experimentación empleado*. Nuestras observaciones tendrán por tanto que ser analizadas en relación con estos tres factores, de los cuales vamos a tomar como tiempo de experimentación el de cuarenta y ocho horas para así tener siempre la misma referencia. Por otra parte, sólo en muy pocos animales hemos trabajado con tiempos mayores al anteriormente referido.

Ya los animales más jóvenes, los de un mes de edad, nos ofrecen la característica de que sólo con la dosis de 100 U.R. de HCG se observen cuerpos lúteos. Teniendo en cuenta, según SMITH y BRADBURY (1963) que un tratamiento previo con estrógenos aumenta la respuesta ovárica a las gonadotropinas, es factible pensar que en los animales de un mes de edad el nivel de estrógenos en sangre no sea lo suficientemente elevado como para producir una respuesta masiva en ovario con sólo 10 U.R. de HCG. Por otra parte, ZARROW y WILSON (1961) encontraron que los folículos primordiales de la rata alcanzan su máximo de sensibilidad a la HCG a los 35 días. Esta sensibilidad máxima puede referirse bien a un aumento de tamaño y peso del ovario, debido a la maduración folicular, o bien a la formación de quistes como demuestra ECKSTEIN (1962), GOLD (1965), etc.

En la serie de animales de cuarenta y cinco días de edad hemos visto cómo los testigos ofrecen aún un ovario muy indiferenciado, es decir, de características muy similares a los de un mes de edad. Sin embargo, al ser inyectados con una dosis de 10 U.R. de HCG, la respuesta ovárica es distinta, pues aparecen cuerpos lúteos totalmente desarrollados.

Si comparamos estas dos series de animales, vemos que ante ovarios de aspecto morfológico muy similar y usando un tiempo de experimentación y dosis iguales en ambos casos, la respuesta ovárica es diferente, lo que es posible que esté en relación con el diferente nivel de gonadotropinas hipofisarias en cada grupo. Esto que decimos se expresa en la experiencia de ZARROW y WILSON antes citada, que nos hablan de que los folículos primordiales de la rata empiezan a ser sensibles a la HCG a los diecisiete o dieciocho días de edad, para ir aumentando paulatinamente. Existe, no obstante, cierta discrepancia respecto al máximo de sensibilidad entre nuestras observaciones y las de estos autores. Ellos hablan de que la edad óptima es la de treinta y cinco días, mientras que en nuestra experiencia reaccionan más masivamente las de cuarenta y cinco días que las de treinta días. Esta dualidad de resultados puede ser, sin embargo, aparente, pues es factible que la sensibilidad del ovario a la HCG crezca considerablemente de los treinta a los treinta y cinco días, circunstancia ésta que no hemos comprobado personalmente.

Hemos de hacer notar que la reacción del tejido intersticial del ovario, va paralelo a la maduración folicular y por consiguiente es más edematoso y vascularizado en las ratas de un mes y medio de edad. Hacemos hincapié en que tanto estos animales como en los de un mes de edad, la reacción conjuntiva es más ostensible en los tratados con dosis mayores de HCG. Como iremos viendo, la reac-

ción del conjuntivo es siempre directamente proporcional a la dosis de HCG administrada y a la edad del animal, pues aunque VELARDO (1959) observara que en ratas hipofisectomizadas el tejido intersticial reaccionaba a la administración de HCG, es muy factible que esta reacción sea más completa en los animales normales con toda su dotación hormonal.

La reacción uterina en estas dos series de animales es digna de tenerse en cuenta. Encontramos en el epitelio endometrial de los experimentales de un mes de edad, un aumento del citoplasma. No existen diferencias apreciables entre los inyectados con 10 y 100 U.R. de HCG.

Por otra parte, si comparamos la vascularización y proliferación glandular de la pared uterina en los animales testigos y experimentales, las diferencias son muy marcadas a favor de estos últimos, circunstancia esta que se relaciona con la transformación sufrida por el ovario. Pero si esto mismo lo analizamos ahora comparativamente entre los inyectados con 10 y 100 U.R. de HCG, se observa en aquellos que la vascularización domina en el intersticio que dejan entre sí ambas capas de fibras musculares lisas; en los tratados con 100 U.R. de HCG la vascularización es más ostensible a nivel del estroma endometrial.

Otra circunstancia a tener en cuenta es que en los tratados con 100 U.R. de HCG hay mayor congestión sanguínea y edema estromal y por consiguiente una marcada reacción de pseudoembarazo en los animales tratados con dosis más elevadas. A este respecto BROWN y BRADBURY (1947) observan que con dosis altas de HCG, se prolonga considerablemente el ciclo menstrual y se produce una reacción decidual en endometrio. Lo mismo concluyen otros autores como FRIED y RAKOFF (1951), PALMER (1957), etc. El edema estromal, según FAINSTAT (1963) se debería fundamentalmente a la dispersión de las fibras colágenas.

En los animales de un mes y medio de edad ya encontramos en útero una manifiesta vascularización en los testigos. Insistiendo sobre el hecho observando de que los ovarios de esta serie de animales y los de un mes de edad presentaban ambos un aspecto que denotaba inmadurez, al menos desde el punto de vista morfológico, es muy llamativo el que los úteros de cada una de las series presenten morfología claramente diferente, lo que atribuimos a una *acción estrogénica continuada en el tiempo*. Queremos decir con esto que la influencia estrogénica —más alargada en los animales de más edad— tiene una influencia decisiva sobre el útero aun en el caso de que las concentraciones de estrógeno en sangre (los ovarios son de características morfológicas similares) sean de un nivel semejante.

En los experimentales de esta serie de un mes y medio de edad, los tratados con 10 U.R. de HCG, muestran una tremenda vascularización entre ambas capas del miometrio. Por otro lado, en los tratados con 100 U.R. de HCG, la vascularización en miometrio es menos manifiesta, lo que es posible esté en relación con una mayor luteinización de estos últimos.

Es posible que algunas de las circunstancias comentadas en las dos series de animales antes citados queden mejor aclaradas con el estudio de la de *dos meses de edad*. Sabido es que la edad mínima de aparear una rata hembra es entre los setenta-setenta y cinco días de edad, esto quiere decir que los animales de esta serie no han alcanzado completamente la madurez sexual. Sin embargo, se observan ya en los tejidos cuerpos lúteos perfectamente desarrollados. En el útero de los testigos empezamos por observar que el epitelio luminal no es tan bajo como en los casos anteriores y que existe ya congestión vascular en todos los niveles de la pared uterina. Pero si pasamos a los experimentales, vemos que los tratados con 10 U.R. de HCG, los lúteos son muy abundantes y vascularizados; en útero, el epitelio endometrial es muy alto y la hipervascularización, congestión sanguínea y edema del estroma endometrial son máximos. Por lo que se refiere al aspecto del intersticio existente entre ambas capas de fibras musculares lisas, existe aquí cierta concordancia con lo dicho en la serie de animales de un mes y medio de edad, en la que achacábamos precisamente a una luteinización excesiva el hecho de que disminuyese la vascularización en miometrio, o por lo menos que la vascularización en endometrio sea muy superior a la del miometrio.

Es llamativo el que en estos animales de dos meses de edad, pero tratados con 100 U.R. de HCG, el útero muestra un aspecto tan diferente como es el que corresponde a una hipervascularización miometrial, disminución de la misma a nivel de endometrio, así como disminución de la altura del epitelio endometrial. Todas estas diferencias morfológicas quedan explicadas al observar el ovario de estos animales, que ofrece un aspecto poliquístico característico. En consecuencia, la dosis de 100 U.R. de HCG en animales de dos meses de edad, lleva a la producción de quistes y a unas transformaciones de la pared uterina en la que la hipervascularización miometrial afecta al músculo en sí, pues notamos que la capa muscular externa o longitudinal ha disminuido en espesor en comparación con los tratados con 10 U.R. de HCG. A este propósito, LEVIN y TINDALE (1937) observan que el aumento del peso uterino en ratas tra-

tadas con HCG, va en aumento hasta llegar a una dosis en que dicho peso empieza a disminuir. En nuestro material, esta disminución ponderal hemos visto que es debida a la falta de congestión vascular, así como a una disminución de la fibra muscular lisa. Es lógico pensar, como afirman EVANS y SIMPSON (1950), que la respuesta total a la HCG, en animales completos es debida a la hipófisis, ya por estímulo de la misma, ya por acción sinérgica con la hormona folículo-estimulante hipofisaria presente en cantidades insuficientes para ser efectiva por sí sola. Pensamos, por consiguiente, que en estas ratas de sesenta días (no maduras del todo, desde el punto de vista sexual) la dosis de 100 U.R. de HCG sea excesiva para la acción sinérgica con la tasa de hormona folículo-estimulante propia de un animal de dos meses de edad y ello lleva a que con esta dosis de 100 U.R. se produzcan ovarios poliquísticos en estos animales.

Es digno de notarse que las ratas de dos meses y medio de edad, y por tanto en condiciones fisiológicas para gestar, las 10 U.R. de HCG dan lugar a quistes hasta tal punto que el ovario de los testigos de esta serie y el de los tratados con la dosis antes dicha, no se diferencian, sino en que existen en estos más folículos quísticos. Es lógico pensar que esta diferente respuesta a una dosis igual en un tiempo de experimentación idéntico sea debido a la edad del animal o, lo que es lo mismo, al diferente estado endocrino de cada una de las series de animales.

Ante los datos objetivos de nuestras observaciones pensamos que para estimular un ovario con HCG, es muy importante valorar el estado del funcionalismo hipofisario, pues según sea éste, la dosis de HCG puede resultar excesiva o escasa. La acción coadyuvante de la hormona folículo-estimulante y en última instancia los estrógenos, son fundamentales en el mecanismo de acción de las gonadotropinas de tipo coriónico.

Insistiendo sobre este particular, consideramos de gran importancia clínica, no sólo la dosificación, sino también la edad del sujeto y como decíamos anteriormente su nivel hormonal, fundamentalmente hipofisario, ya que puede existir desacuerdo entre la edad real y fisiológica del paciente. Es posible que el saber o no saber

compaginar estas circunstancias sea una de las causas que motiva el que la HCG, aplicada a la clínica humana, tenga tantos defensores como retractores a ultranza y citaremos entre estos últimos a MARIXAEL (1959), REYMOND (1959), PALMER (1948), BECIERE (1959), etc. Así mismo, MARCO ANGULO (1964) observa que ratas inmaduras inyectadas con dosis altas de gonadotropinas presentan diversas alteraciones en su tracto genital.

Según hemos visto en los antecedentes bibliográficos, el aspecto del estroma y del tejido muscular liso es de gran importancia en las transformaciones que puedan sufrir los órganos genitales en estado de gestación o bien bajo la acción de otros agentes capaces de producir un pseudoembarazo. Por lo que respecta al tejido conjuntivo, autores como DANFORTH (1947), CRETIVS (1965), etc., nos hablan de las intensas transformaciones sufridas por las fibras colágenas en embarazo y parto, con el fin de permitir un mayor estimamiento de las mismas. En nuestro material se observan evidentemente dispersión edematosa de las fibras colágenas, circunstancia que observa FAINSTAT (1963), pero en el caso de ratas embarazadas.

Sobre la fibra muscular lisa uterina es, ante todo con métodos químicos, como los investigadores estudian la proporción de las mismas en los diferentes tramos del tracto genital, DUBRAUSZKY (1965), SCHWALM y DUBRAUSZKY (1966), RORIE y NEWTON (1967), etc. Nuestras observaciones de tipo morfológico no arrojan mucha luz sobre el particular. No obstante, y según ya apuntábamos antes, en los animales de sesenta días de edad y tratados con 100 U.R. de HCG hay una evidente disminución en espesor de la capa muscular longitudinal externa, circunstancia ésta que debe estar en relación con el aspecto poliúístico que presenta el ovario de estos animales.

Consideraciones clínicas

Pasamos a continuación a hacer unas breves consideraciones sobre el empleo de la HCG en la terapéutica humana, así como a correlacionar estos datos clínicos con los resultados de nuestra investigación, para tratar de ver si ambos caminan en el mismo sentido.

Por la similitud de acción biológica entre la HCG y la hormona luteinizante (LH), aquélla fue usada desde su descubrimiento y purificación, en la clínica humana. Así, MANDELSTAN y TSCHAIKOWSKY (1932), WESTMAN (1937), HAMBLÉN y ROSS (1936) lograron con ella prolongación del cuerno lúteo y del ciclo menstrual. BROWNE y VENNING (1938) aumentaron con su empleo la excreción de pregnandiol en la segunda fase del ciclo, mientras que BROWN y BRADBURY (1947) produjeron un pseudoembarazo con prolongación de la fase secre-

tora del ciclo, elevación persistente de la eliminación del pregnandiol y reacción decidual del endometrio.

Todo esto deja bien establecido la acción de la HCG sobre el cuerpo lúteo, pero hay dudas sobre su capacidad de producir maduración folicular y ovulación, dudas que parten del hecho clínico de emplearse en mujeres con hipófisis intactas, más o menos funcionantes. Así, GEIST (1933) observó luteinización de la teca, y HAMBLÉN y ROSS (1936) y WESTMAN (1937) vieron luteinización de la granulosa después de una inyección de HCG en el medio del ciclo.

Sobre su capacidad de inducir la ovulación, así parece deducirse de los trabajos iniciales de ZONDEK (1927) y de los de DAMM (1936). Sin embargo, investigadores más recientes, KOTZ y HERRMANN (1961) afirman la incapacidad de la HCG para estimular el desarrollo de folículos de De Graaf y, por lo tanto, para producir maduración y liberación del huevo, tanto en monos como en humanos. Esta aseveración es, no obstante, puesta en duda por otros autores que obtuvieron con el tratamiento de HCG en enfermas que no ovulaban, ya endometrio progestacional (CLAESSON, 1948; WHALEN, 1950), ya embarazos (BERGMAN, 1958).

De todo esto se ha llegado a la idea actual de que el papel de la HCG como inductor de ovulación en enfermas hipogonadotrópicas no es satisfactorio y por ello hoy se recurre al empleo conjunto de HCG y de hormona folículo-estimulante de pituitaria humana (HPFSH o HPG). Aún en este caso la clínica carece de datos sobre la dosis ideal a emplear en cada enferma.

Como explicación a todo lo dicho está la hipótesis de que la HCG necesita para producir ovulación un cierto nivel de maduración por la acción de gonadotropinas hipofisarias endógenas o por las exógenas.

De nuestra experimentación nos afirmamos *en el gran papel que desempeña la actividad hipofisaria previa*, lo que nos explica la diferente reacción ovárica de los animales según su edad, que nosotros creemos es por la mayor o menor actividad gonadotrópica hipofisaria.

Otro aspecto a relacionar es la posibilidad de la HCG de producir ovarios quísticos. En nuestra experiencia se deduce que los quistes son debidos a un sobre estímulo de la acción conjunta gonadotropina hipofisaria y HCG. Así se explica que, por ejemplo, una dosis de 10 U.R. de HCG en los animales de un mes de edad no llega ni a producir cuerpos lúteos; en los de mes y medio y dos meses de edad producen cuerpos amarillos, y en los de dos meses y medio de edad, ya empiezan a aparecer quistes. Al aumentar la dosis de HCG los quistes van apareciendo en animales más jóvenes, y así, con 100 U.R., se ve ya en las ratas de dos meses de edad.

Conclusiones

1.^a Partimos comprobando que en ratas en diferentes etapas del desarrollo postnatal y tratadas con gonadotropina coriónica humana, macroscópicamente el ovario siempre reacciona con mayor congestión y tumefacción y, por consiguiente, con aumento del tamaño y peso, tanto mayores cuanto mayor es la dosis administrada. Microscópicamente dichos aumentos ponderal y en volumen son debidos —según la edad de los animales— bien a la formación de cuerpos amarillos, bien a la presencia de quistes.

2.^a Nuestra aportación concreta en esta conclusión se refiere a que en los animales en los que el ovario muestra abundantes y maduros cuerpos lúteos, su útero se distingue fundamentalmente por su hipervascularización. La proliferación glandular es también ostensible, pero no tan definitiva y característica como el aumento de vasos sanguíneos.

3.^a La vascularización uterina de los animales de nuestra experiencia empieza siendo más ostensible entre las capas musculares circular y longitudinal. Al seguir aumentando la dosis de HCG, o más exactamente cuando el ovario ofrece una morfología que indica que está en una fase luteínica óptima, dicha proliferación vascular es, ante todo, patente en el estroma endometrial o por lo menos hay en esta zona un predominio de la misma.

4.^a Con dosis pequeñas de HCG lo primero en aparecer es una gran proliferación glandular en el endometrio, así como un aumento manifiesto de la vascularización. A posteriori, esta hormona da lugar a una extraordinaria hipervascularización en miometrio hasta llegar a ser el detalle morfológico más destacable de la pared uterina.

5.^a Podemos matizar que en los animales que han entrado en la pubertad, pero que aún no han alcanzado una completa maduración sexual, la dosis de 10 U.R. de HCG producen una intensa luteinización que repercute manifiestamente en útero, provocando una reacción decidual muy clara. Dosis de 100 U.R. de HCG dan lugar a un ovario poliquístico y a una disminución de la vascularización endometrial. La vascularización a nivel del miometrio es, por el contrario, más ostensible.

6.^a La última conclusión mencionada nos lleva a la consideración de la importancia que tiene no sólo las dosis administradas en las terapéuticas antiesterilidad, sino también la valorización exacta del funcionamiento hipofisario y de otras glándulas endocrinas.

Resumen

Se aplica experimentalmente la gonadotropina coriónica a ratas en desarrollo postnatal, estudiando sus transformaciones en ovarios y útero fundamentalmente, comparándolo con el caso adulto tratado por el mismo procedimiento.

Summary

Experimentally we apply coriogonadotropine in developing new born Rats in order to study the transformations in utero and ovary, making a comparison with the adult case treated with the same procedure.

Zusammenfassung

Man injiziert neugeborenen Ratten zu experimentellen Zwecken, «Gonadotropin corionica» und studiert hauptsächlich die Veränderungen am Eierstock und Gebärmutter, und vergleicht sie mit denen der erwachsenen Ratte, durch das gleiche Verfahren.

Resumé

On applique expérimentalement la gonadotropine chorionique aux rats en développement postnatal pour étudier ses transformations en ovaire et utérus fondamentalement. Ces sont comparé avec les cas adultes traités par le même procédé.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1956): Aspectos progresivo-regresivos de la corteza suprarrenal del gato en determinadas circunstancias endocrinas. «An. Anat.», **5**, 37.
- BECLERE, C. (1959): Accidents abdominaux aigus avec luteinisation massive des gonadotrophines en gynécologie. «Pres. Med.», **2**, 31.
- BOTELLA, J. (1951): La surrenale sexuelle, Congrès International Jubilaire de la Société Française de Gynécologie, Paris, 1-15.
- (1956): Endocrinología de la mujer. Editorial Científico Médica. Barcelona.
- BERGMAN, P. (1958): The clinical treatment of anovulation. «Int. J. Fertil.», **3**, 27.
- BROWNE, J. L., y E. H. VENNING (1938): The effect of intramuscular injection of gonadotrophic substances on the corpus luteum phase the human menstrual cycle. «Amer. J. Physiol.», **123**, 26.
- BROWN, W. E., y J. T. BRADBURY (1947): A study of the physiologic action of human chorionic hormone. The production of pseudopregnancy in women by chorionic hormone. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **53**, 749.
- CLAESSON, L., B., HOGBERG, TH. ROSENBERG y A. WESTMAN (1948): Crystalline human chorionic gonadotropin and its biologic action. «Acta Endocrinol», Kbh., **1**, 1.

- CRETIUS, K. (1965): Zur molekulären Struktur des Bindegewebes in menschlichen Uterus. «Arch. Gynäk.», **202**, 43.
- DAMM, P. N. (1936): Menstruationsstörungen hormonalen Ursprungs. Copenhagen. Levin and Mundsgaard.
- DANFORTH, D. N. (1947): The fibrous nature of the human cervix, and its relation to the isthmic segment in gravid and nongravid uteri. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **53**, 541.
- DUBRAUSKY, V. (1965): Weitere Beobachtungen zum Aufbau der Uteruswand in der Schwangerschaft. «Arch. Gynäk.», **202**, 41.
- ECKSTEIN, B. (1962): The development of the ovary of the rat II. The effect of chorionic gonadotrophin and serum gonadotrophin. «Acta Endocrin.», **41**, 35.
- ESCOLAR, J., J. SOLER, F. REINOSO, V. SMITH-AGREDA y P. AMAT (1957): Aportaciones a la dinámica neuroendocrina expresada en transformaciones anatómicas. «An. Anat.», **6**, 5.
- EVANS, H. M., y M. E. SIMPSON (1950): The Hormones, Vol. II. Pincus and Thimann Editors (New York, The Academic Press, 1950).
- FAINSTAT, T. (1962): Hormonal Basis for collagen bundle generation in uterine stroma: extracellular studies of uterus. «Endocrinology», **71**, 878.
- (1963a): Extracellular studies of uterus. I. Disappearance of the discrete collagen bundles in endometrial stroma during various reproductive states in the rat. «Am. J. Anat.», **112**, 337.
- (1963b): Extracellular studies of uterus. II. Regeneration of collagen bundles in uterine stroma after parturition. «Am. J. Anat.», **112**, 371.
- FRIED, P. H., y A. E. RAJOFF (1951): The effects of chorionic gonadotropin and luteotropin on the maintenance of corpus luteum function. «J. Clin. Endocr.», **11**, 768.
- GEIST, S. H. (1933): Reaction of the mature human ovary to antuitrin-8. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **26**, 588.
- GOLD, J. J., E. CASTILLO, S. PORSHEK y A. SCOMMEGNA (1965): Factors in polycystic ovary development. I. Gonadotropins and altered thyroid function in the rat. «Fertil. and Steril.», **16**, 560.
- HAMBLEEN, E. C., y R. A. ROSS (1936): A study of the ovaries after preoperative administration of a pregnancy hormone. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **31**, 14.
- HAMBURGER, C., y K. PEERSEN-BJERGAARD (1937): The assay of gonadotropic hormones. Standardisation Curves for Pregnant Marès Serum Hormone and Human pregnancy Urine Hormone. «S. J. Pharm. Pharmacol.», **10**, 662.
- JAEGER, J., y G. POLELMANN (1962): Zur Ultrastruktur der menschlichen Uterusmuskulatur. «Beitr. Path. Anat.», **126**, 113.
- (1965): Zur Ultrastruktur des Bindegewebes Anteils der Uterusmuskulatur. «Arch. Gynäk.», **202**, 59.
- JOERSEN, O. H. (1962): The influence of estrogenic and androgenic hormones on mast cells connective tissue in uterus of guinea pig. «Acta Path. Microbiol. Scand.», **56**, 245.
- KRÄCHT, J. (1953a): Über Wechselbeziehungen zwischen Nebennierchrinde und Schilddrüse in Tierexperiment. «Deutsch. Ges. J. Path.», **59**, 110.
- (1953b): Über die Regulation der Ausschüttung der thyreotropen und corticotropen Hormons. «Deutsch. Ges. J. inn. Mediz.», **59**, 110.
- KEIFFER, H. (1923): The anatomical condition of the wall of the uterus of lesser mammals at term. «J. Obst. Gynec. Brit. Emp.», **30**, 531.
- KOTZ, H. L., y W. HERRMANN (1961): A review of the endocrine induction of ovulation. VI. Gonadotropins. «Fertil. Steril.», **12**, 375.
- KRICHESKY, B. (1942): A histologic analysis of the uterine growth during pregnancy in the rabbit. «Anat. Rec.», **82**, 551.
- LAGUENS, R. (1964): Ciliated smooth muscle cells in the uterus of the rat. «Experientia», **20**, 322.
- LAMOND, DIR. (1958): The action of different preparations of human chorionic gonadotrophin on the mouse ovary. «J. Endocr.», **17**, 218.
- LEVIN, B., y H. H. TINDALE (1937): The quantitative assay of follicle stimulating substances. «Endocrinology», **21**, 619.
- MANDELSTAMM, A., y W. E. TSCHAIKOWSKY (1932): Zur hormonalen Sterilisierung des Weibes. «Arch. Gynäk.», **151**, 686.
- MARCO-ANGULO, J. (1964): Contribución al conocimiento de la organización sexual hipotálamo-hipofisaria (influencia de las gonadotropinas y de la estereotaxis hipotalámica de la esfera sexual de la rata en crecimiento). «An. Anat.», **13**, 101.
- MARIXAEL, L. (1959): Danger de l'emploi inconsideré d'hormones gonadotropes. «Concours Medical», **41**, 4275.
- MUSCHKE, E. (1953): Histometrische Untersuchungen in Rattenhoden nach Hypophisektomie und nach choriogonadotropinzufuhr. «Endokrinologie», **30**, 281.
- PALMER, A. (1957): Chorionic gonadotropin. Its place in the treatment of infertility. «Fertil. and Steril.», **8**, 220.
- PALMER, R. T., y E. PALMER (1948): La Sterilité involuntaire. Ed. Masson.
- REYMOND, J. C. (1959): Apparition de tumeurs ovarionnes a evolution aigue dans les suites immediates d'injections de gonadotrophines. La Press. Med., 44. Paris.
- RODIE, D. H., y M. NEWTON (1967): Histologie and chemical studies of the smooth muscle in the human cervix and uterus. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **99**, 466.
- SCHWALM, H., y V. DUBRAUSKY (1966): The structure of the musculature of the human uterus-muscles and connective tissue. «Amer. J. Obstet. Gynec.», **94**, 391.
- SEGALOFF, A., W. H. STERNBERG y C. J. GASKILL (1951): Effects of luteotropic doses of chorionic gonadotropin in women. «J. Clin. Endocrin.», **11**, 936.
- SELYE, H. (1946): The general adaptation syndrome. «J. clin. Endocrin.», **6**, 117.
- , P. CONSTANTINIADIS (1948): Das allgemeine Anpassungssyndrom und die Anpassung skrankheiten. «Deutsch Rundschair Monatsschr. m. ärztl. Akademie», **2**, 161.
- SMITH, B. D., y J. T. BRADBURY (1963): Ovarian responses to gonadotropins after pre treatment with diethylstilbestrol. «Amer. J. Physiol.», **204**, 1,023.
- STIVIE, H. (1932): Über die Neubildung von Muskelzellen in der Wand der schwangeren menschlichen Gebärmutter. «Zentralbl. Gynäk.», **56**, 1,442.
- TONUTTI, E. (1953): Experimentellen Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierenrinde. «Deutsch. Ges. J. Path.», **36**, 123.
- THEBLOT, L., H. SIMMONNET, T. MELIK y V. SEGAL (1955): Effects de doses élevées d'hormone gonadotrope Chorionique sur l'appareil génital de la lapine. «Ann. Endocr.», **16**, 891.

- VELARDO, J. T. (1959): Hormonal Accions of Chorionic Gonadotropin. «Ann. N. I. Acad. Sci.», **80**, 65.
- WHALEN, T. (1950): Studies of metropathia hemorrhagica cystica. «Acta Obstet. et Gynec. Scand», **29**, 6.
- WESTMAN, A. (1937): Untersuchungen über die Wirkung des gonadotropen Hypophysenvorderlappenhermones Antex (Leo) auf die Ovarien der Frau. «Acta Obstet. et Gynec. Scand.», **17**, 492.
- WETZSTEINS, R. (1965): Der Uterusmuskel Morphologie. «Arch. Gynäk.», **202**, 1.
- YAKOVLEV, I. (1965): Structure and Physiology of the muscles in the pregnant uterus. «Akush. I. Ginek.», **2**, 3.
- ZARROW, M. N., y E. D. WILSON (1961): The influence of age on superovulation in the immature rat and mouse. «Endocrinology», **69**, 851.
- ZONDEK, B., y S. ASCHHEIM (1927): Das Hormon des Hypophysen vorderlappens. «Klin. Wochenschr.», **6**, 248.

Dr. E. LOSADA MENÉS
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)



ACCIÓN DE LA GLUCOSA SOBRE LOS ISLOTES DE LANGERHANS EN EL SAPO *BUFO ARENARUM* HENSEL*

Por

I. VON LAWZEWITSCH

La constante asociación entre hiperglucemia y lesiones de las células beta fue demostrada en diferente forma. No incluyendo aquí la pancreatectomía total y subtotal, la diabetes experimental puede ser producida por:

1. Substancias tóxicas, como el aloxano.
2. Administración de hormonas en exceso.
3. Administración prolongada de glucosa.
4. Administración prolongada de insulina.

Algunos autores han observado la aparición de diabetes temporaria de intensidad variable después de la excesiva administración de glucosa (DOHAN y LUKENS, 1947 y 1948), en gatos con sus correspondientes lesiones de las células beta.

Con respecto a los cambios morfológicos del riñón, numerosos autores han confirmado los hallazgos de KIMMELSTIEL y WILSON (1936) de lesiones características en el glomérulo renal del diabético, de tipo hialino y escleroso. Idénticas lesiones han sido observadas en perros con diabetes hipofisaria mantenidos durante varios años (LUKENS y DOBAN, 1948). Esclerosis glomerular en ratas por pancreatectomía subtotal (FOGLIA, 1948; MANCINI, 1947).

Este trabajo fue proyectado con el objeto de estudiar la tolerancia de los sapos a la glucosa y las modificaciones histológicas que aparecen en el islote y en el riñón.

* Resumen del capítulo X de la Tesis de Doctorado "Islote de Langerhans en el sapo normal y en condiciones experimentales", 1963. Director: Prof. Dr. Bernardo A. Houssay. Premio de Tesis "Facultad de Ciencias Médicas", 1967.

Material y métodos

Se utilizaron 300 sapos hembras de la especie *Bufo arenarum* Hensel, que se dividieron en 3 lotes distribuidos en la siguiente forma:

- 1.º Tratados diariamente con 2 g de glucosa por 100 g de peso corporal durante seis días.
- 2.º Tratados con solución fisiológica.
- 3.º Testigos sin tratamiento.

La glucemia se determinó por el método de Somogyi-Nelson, extrayéndose las muestras de sangre de la cavidad ventricular. Grupos de 10 animales tratados fueron sacrificados diariamente hasta el 9.º día de comenzado el tratamiento, así como sus correspondientes testigos.

Para el estudio histológico, el páncreas y el riñón fueron extraídos de animales a los que se destruyó la médula espinal, y los órganos fueron fijados en Bouin, incluyéndose en parafina. Los cortes de páncreas se colorearon con hematoxilina-eosina, hematoxilina crómica de Gomori modificado por Bencosme, aldehído fucsina con tricrómico de Halmi y aldehído fucsina con floxina y Martins modificado, reticulina y fosfatasa alcalina se determinó con los métodos de Gomori.

En los cortes de páncreas y riñón se investigó glucógeno con el método de McManus (ácido peryódico-leucofucsina de Schiff), con su correspondiente contraprueba digestión con saliva.

Resultados

Glucemia y tolerancia de los sapos a la glucosa

Los valores de la glucemia en 60 sapos testigos oscilaban entre 30 y 38 mg/100 ml con un promedio de 32.

En 240 animales inyectados diariamente con 2 g de glucosa por 100 g de peso se observaron los siguientes valores: el primer día la glucemia en 10 animales era de 210 mg/100 \pm 39.8 con $P < 0.001$; al segundo día, 130 mg/100 \pm 25.5 $P < .01$, para llegar al tercer día a 73 mg/100 \pm 15 $P < 0.02$. Hasta ese momento la mortalidad de los animales fue muy pequeña, aproximadamente 2 por lote. Sin embargo, al cuarto día el número de los animales se redujo a la mitad. La glucemia en los restantes aumentó hasta 150 mg/100 \pm 36.9 $P < 0.01$. Es el mismo fenómeno que se presentó en un experimento anterior (50 sapos) en noviembre de 1961. En el quinto y sexto días no hubo mortalidad: la glucemia bajó a 46 mg/100 \pm 9.4 el quinto día, llegando al sexto día a un valor normal, 34 mg/100 \pm 1.4. El quinto día se administró la última dosis de glucosa, pero se siguió la determinación de la glucemia hasta el noveno día; el séptimo y octavo día la glucemia se mantuvo igual al valor de los testigos, 37 mg/100 \pm 2.4 y 32 mg/100 \pm 2. El noveno día bajó a 30 mg/100;

además el número de los animales se redujo durante estos tres días hasta llegar al tercio de los sobrevivientes después de los seis días de tratamiento.

Es de interés señalar la marcada poliuria y glucosuria y el aumento de peso de los riñones de los sapos tratados.

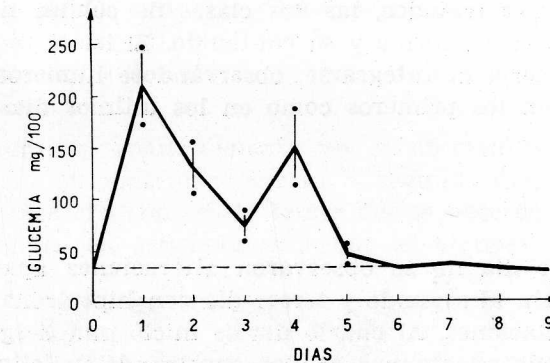


Fig. 1. — Curva glucémica de sapos inyectados con 2 g de glucosa por 100 g de peso corporal y de sus testigos.

Estudio histológico

En los animales testigos los islotes de Langerhans observados en el apéndice libre del páncreas eran de forma redonda, midiendo entre 80-200 micrones. Con las 3 clases de coloraciones se observaron bien 2 tipos celulares: a) células alfa, cuyo tamaño oscilaba entre 9 y 12 micrones situados alrededor del islote en forma de una corona o como células solitarias o agrupadas en pequeño número, caracterizada por su forma triangular con abundantes granulaciones gruesas teñidas de rojo intenso con floxina y fucsina y anaranjado



Fig. 2. — Curvas de glucosuria, G; diuresis, D; testigos, T; curvas de peso corporal, P, y testigos, T, de sapos inyectados con 2 g de glucosa por 100 g de peso corporal con sus correspondientes testigos.

verdoso con el tricrómico de Halmi; b) células beta, de 6 a 8 micrones que presentaban la forma de pirámide truncada, adosada a la pared de los capilares interinsulares y con granulaciones más pequeñas que de las células alfas. Estos gránulos se tiñen en azul acero con la hematoxilina crómica de Gomori y rojo violáceo con la aldehído-fucsina. No se observaron otra clase de células insulares.

En los animales tratados, las dos clases de células han sufrido multiplicaciones en su forma y su contenido. El islote pierde su estructura y parecería desintegrarse, observándose numerosas modificaciones tanto en los primeros como en los últimos días del experimento.

Células alfa

En el primer día no se observaron alteraciones aparentes que aparecieron recién al segundo y tercer día con hipertrofia y aumento de sus granulaciones. Al cuarto día se inició una desgranulación bastante avanzada en algunas células, mostrando un citoplasma de color verde esmeralda con el tricrómico de Halmi y rojo claro con floxina. La desgranulación se acentuó el quinto y sexto días llegan-

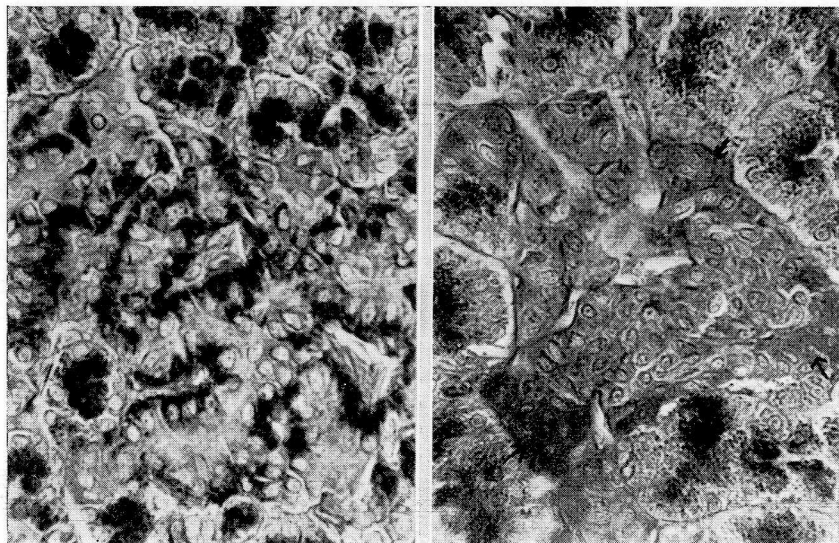


FIG. 3

FIG. 4

FIG. 3. — Islote de Langerhans normal. Aldehído-fucsina y tricrómico de Halmi. 320×. Células alfa.

FIG. 4. — Islote de Langerhans, tratado durante 3 días con glucosa; desgranulación de las células beta e hipertrofia de las células alfa. Aldehído-fucsina de Gomori y Fucsina. Células alfa. 320×.

do a observarse células atróficas y desgranuladas. En muchos islotes las células han desaparecido o se presentaban como sombras alargadas en la periferia de aquéllos. Las células solitarias no se observaron más en el parénquima. En el séptimo y octavo días no había mayores modificaciones. Recién el noveno día se encontraron otra vez células alfa en el complejo insular y en el resto del parénquima. Su tamaño era más chico, pero conteniendo ya granulaciones.

Células beta

El primer día, aparentemente no se observaron modificaciones celulares y de su contenido. Recién el segundo día, la marginación de los gránulos era franca. Al tercer día se observó una hipertrofia de células beta con desgranulación que en algunas era total. En el

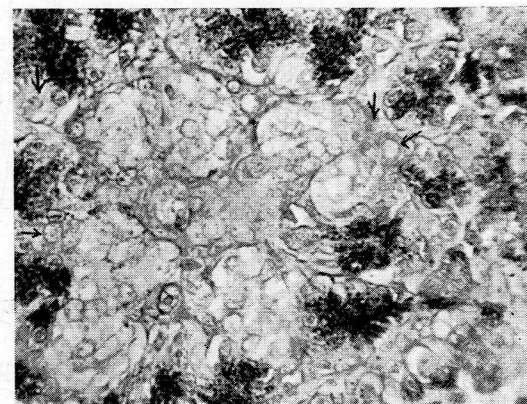


FIG. 5. — Vacuolización de las células beta e hialinización central y atrofia de las células alfa. Aldehído-fucsina de Gomori y Fucsina. Células alfa. 320×.

cuarto y quinto días la desgranulación se hizo total y al mismo tiempo la célula disminuyó de tamaño, con citoplasma de color gris violáceo conteniendo escasas granulaciones, pero muy refringentes. El núcleo era grande con cromatina pálida, haciéndose excéntrico hacia la basal de los capilares interinsulares. Al sexto día la histología mostró un islote completamente diferente. La célula beta se ha agrandado; el núcleo, más excéntrico, observándose también granulaciones muy refringentes que desaparecieron igual como las del quinto día con la prueba enzimática de ptialina en la coloración de McManus, deduciendo que se trataba de una infiltración glucogénica de la misma, según lo ha demostrado Toreson (1951). Gomori describió el estado de esta vacuolización de la célula beta como dege-

neración hidrópica, estado que se observa con mayor frecuencia en la diabetes experimental aguda. En los últimos días del experimento se observó la reducción del tamaño celular con citoplasma más homogéneo y de color gris claro. En algunas se observaron granulecillas que todavía no tomaban el color rojo violáceo con la aldehído-fucsina. Recién en un animal del noveno día se observaron granulecillas específicas.

El islote de Langerhans normalmente está rodeado por una trama de tejido conjuntivo laxo, poco visible. Durante este experimento se observó un marcado espesamiento de dicho tejido. Los capilares interinsulares, abundantes y de un lecho ancho que a veces aparecen como pequeños lagos, se mostraban estrechados y con basal espesada. En el glomérulo normal, es decir de los sapos testigos, la delgada pared de la arteria yuxtaglomerular, la basal de los capilares glomerulares envueltos por la hoja visceral de la cápsula de Bowman (que forma también los llamados mesos de los capilares) y la parietal, dando todo el aspecto de una estructura muy fina, se tiñen de azul intenso con el Mallory-Heidenhein y Martins modificado. Dan, además, la reacción positiva para las mucoproteínas (ácido peryódico-leucofucsina) y la impregnación argéntica demuestran un fino retículo de fibrillas de reticulina en el hilio, no observándose arborizaciones hacia los capilares. En los tubos contorneados proximales, el ribete en cepillo da reacción positiva de la fosfatasa alcalina con el método de Gomori.

Con respecto al glomérulo de los sapos tratados con glucosa se observó en los primeros días un aumento del tamaño de los mismos, debiéndose esta hipertrofia a que los capilares aparecen desplegados, con regular cantidad de hematíes y a veces con franca congestión. La luz de la cápsula de Bowman está aumentada y su membrana parietal se ha reducido en una línea muy delgada. En algunos glomérulos la membrana parietal llega a contactar con los capilares directamente o bien por un depósito albuminoso. La pared de la arteria. la aferente, se observa claramente espesada y con aspecto hialino, lo mismo que la pared de los capilares y sus mesos. Frecuentemente se observa el adosamiento y fusión de la pared de capilares vecinos de glomérulo. En la membrana parietal del glomérulo se observa con menos frecuencia un engrosamiento hialino con las características ya descritas. En cuanto a las células epiteliales de revestimiento se nota una moderada hipertrofia que es más evidente en la capa visceral. La membrana basal de los tubos todavía no presenta un espesamiento del tipo mencionado, llamando la atención, sin embargo, la vacuolización de las células de los tubos contorneados proximales y la distensión de la luz de los tubos contorneados distales, con aplanamiento de su epitelio.

FIG. 6

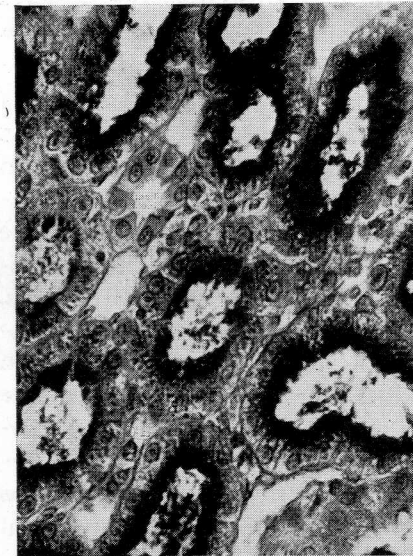


FIG. 7

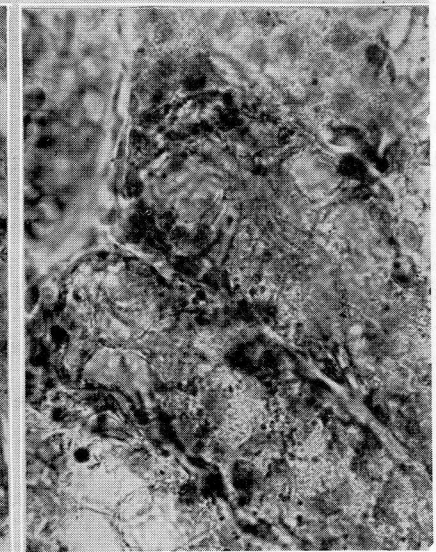
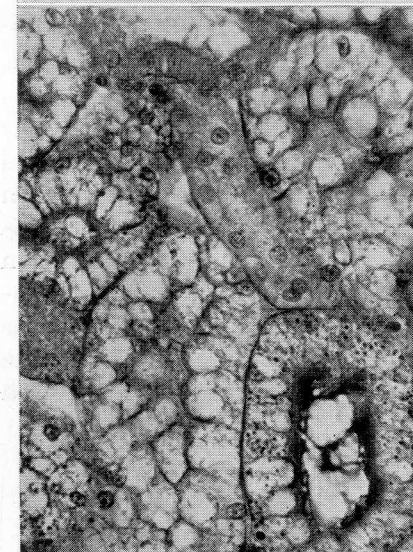


FIG. 8

FIG. 9

FIG. 6. — Tubos renales normales, fosfatasa alcalina según el método de Gomori, hematoxilina-eosina. 320×.

FIG. 7. — Tubos renales al 6.º día, fosfatasa alcalina según Gomori, H.-E. 320×.

FIG. 8. — Degeneración hidrópica e infiltración de glucógeno de las células tubulares al 4.º día. McManus y hematoxilina. 320×.

FIG. 9. — Gotas de lípidos en los tubos renales al 9.º día del experimento, Oil Red O y hematoxilina. 320×.

La investigación de grasa en este período fue negativa tanto en el glomérulo como en los tubos, y la de mucoproteínas fue positiva en la sustancia hialina. La impregnación argéntica mostró en los primeros días caracteres normales del retículo de los mesos.

Estas lesiones se intensifican en los días siguientes y la mayoría de los glomérulos presentan fusión y engrosamiento hialino de la membrana basal y de los mesos de los capilares, que se tiñen con las características mencionadas, en cambio el retículo tiñe directamente la pared del capilar. En los últimos días del experimento se observó una reducción del tamaño del glomérulo, debido por retracción de los capilares que se encuentran en su mayoría colapsados, isquémicos y a veces muy pequeños. Su pared muestra un engrosamiento fibrilar muy pronunciado sobre todo en el punto de unión de los mesos. En el hilio, a partir de la arteriola yuxtahiliar que se presenta muy engrosada, se ve algunas bandas formadas por finas fibrillas que atrás de los mesos invaden el glomérulo hasta llegar al capilar, al cual tienden a envolver total o parcialmente; estos engrosamientos se tiñen muy bien con la eosina y toman un azul intenso con el Azan Martins modificado. La impregnación argéntica revela que dichas fibrillas son de reticulina y que llegan a atrofiar el glomérulo.

Las células de los tubos contorneados proximales continúan vacuolizándose y distendiéndose. Al punto de reducir la pared celular a una sola lámina muy fina y los núcleos se encuentran rechazados hacia la periferia. En estas células no se observa más infiltración de glucógeno y la fosfatasa alcalina casi ha desaparecido. Esta vacuolización da a los tubos el aspecto de una típica degeneración hidrópica. Los tubos contorneados distales continúan distendiéndose por el aumento de su luz, su epitelio se aplana hasta reducirse a una estrecha franja y sus núcleos también están rechazados hacia la periferia. La investigación de grasas en este período con el Oil Red O fue positiva.

Discusión

Las alteraciones observadas después de la administración de glucosa permitieron confirmar en el sapo *Bufo arenarum* Hensel lo observado ya en otras especies animales. Si bien en este caso no se obtuvo diabetes permanente ya que al suspender el tratamiento las glucemias se normalizaron aproximadamente a los cinco días, ello puede deberse a que no fue suficientemente prolongado, debido a la elevada mortalidad de los animales en los últimos días del tratamiento.

FIG. 10



FIG. 11

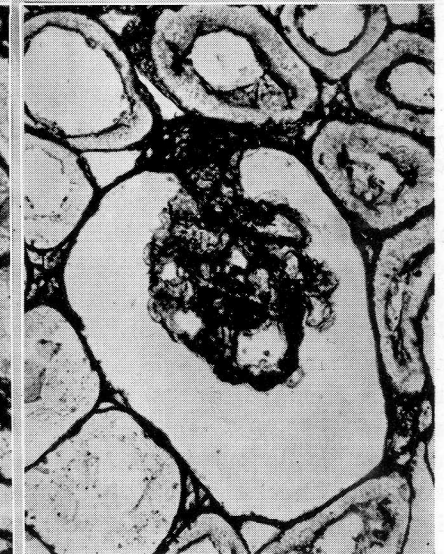
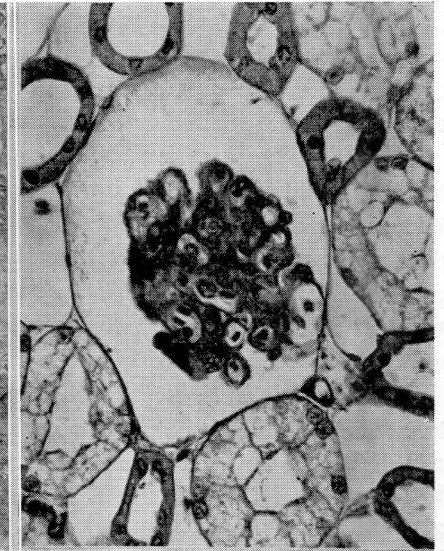


FIG. 12

FIG. 13

FIG. 10. — Glomérulo renal normal. Tricrómico de Martins. 320×.

FIG. 11. — Glomérulo renal al 6.º día. Tricrómico de Martins. 320×.

FIG. 12. — Retículo de un glomérulo normal según el método de Gomori. 320×.

FIG. 13. — Glomérulo renal al 6.º día. Retículo de Gomori. 320×.

El hallazgo de lesiones residuales en las células beta, después de haber suspendido el tratamiento, no obstante la normalización de la glucemia nos habla en favor de esta hipótesis.

ALLEN (1913-1922a y b) muestra en el perro diabético que la administración de glucosa agrava mucho la diabetes existente, pero no la origina.

DOHAN y LUKENS (1947) en el gato mostraron que manteniendo hiperglucemias elevadas se obtiene degeneración hidrópica de los islotes o diabetes permanentes.

WOERNER (1938) en el cobaya observó una acción bifásica. En un primer momento hubo lesiones de algunas células y luego neoformación a expensas de las que no fueron lesionadas, además de las células centro-acinosas y células intercalares de los conductos.

HOUSSAY, MARTÍNEZ y CARDEZA (1947) en la rata comprobaron que la administración prolongada de glucosa no sólo no aceleró la aparición de la diabetes, sino que tuvo acción preventiva y aun curativa cuando la diabetes era reciente. No sólo no presentaron hiperglucemia, sino que conservaron en buen estado las células beta de los islotes.

CARDEZA (1957a, b y c) en las tortugas *Chrysemis d'Orbigny* (D y B) observó que la administración de la glucosa provocó polinesia y macronesia de los islotes en relación con el nivel de hiperglucemia de los animales, con desgranulación, vacuolización e infiltración glucogénica de las células.

El análisis del estudio histológico muestra que las lesiones glomerulares se constituirán en forma evolutiva, con una etapa previa de hialinosis, terminando en una manifiesta esclerosis, lesiones éstas que aparecen solamente en los sapos tratados con glucosa y no en los testigos con solución fisiológica y testigos normales. Las lesiones se hacen presentes ya al segundo día de comenzada la administración de la droga, no siendo posible establecer un paralelismo entre la hiperglucemia y glucosuria con la intensidad de las lesiones. En los experimentos realizados en distintas oportunidades se repitió el hecho interesante de que, mientras la intensidad de las lesiones aumentaba con el transcurso del tiempo, la hiperglucemia y la glucosuria tendían a disminuir. En lo que respecta a la degeneración hidrópica y aparición de glucógeno en los tubos renales, han sido observados por distintos autores (MANCINI, 1947-1948). En cambio, la infiltración lipídica es una observación de reciente data. Histológicamente las lesiones glomerulares podían interpretarse como un espesamiento hialino de la pared de la arteriola yuxtahiliar y en especial de los capilares glomerulares, siendo ambos procesos simultáneos.

La hiperplasia e hipertrofia de las células epiteliales de la hoja visceral y su hialinosis hicieron pensar en la existencia de un verdadero "mesangio", McCULLAN (1929) y MCGREGOR (1933). En cambio, otros autores creen que se deben a arborizaciones terminales de las fibrillas reticulares que corren a nivel de la arteriola hiliar, por eso la lesión no parece ser intercapilar, sino parietal (de la pared de los capilares y vasos yuxtahiliares). Este punto está siendo aclarado por el microscopio electrónico.

El espesamiento que se observa en la fase final del experimento se localiza al mismo nivel que la hialinización de los períodos anteriores. Cabe señalar el hecho de que tanto las lesiones hialinas y esclerosis del glomérulo del sapo, tienen mucha similitud con las alteraciones que se observan en el riñón de la diabetes humana conocida como "lesión difusa" de Kimmelstiel y Wilson (1936), según la distribución y afinidad tintoreal de las lesiones.

Resumen

La administración de glucosa en el saco linfático dorsal a sapos hembras *Bufo arenarum* Hensel, a la dosis de 2 g por 100 g de peso corporal durante 6 días, provocó aumento del número y tamaño de los islotes en relación con el nivel de hiperglucemia de los animales. En las células beta se observó desgranulación, hipertrofia e infiltración glucogénica. En las células alfa, hipertrofia e hiperplasia en los primeros días, seguido de atrofia hasta su desaparición total en los últimos días del experimento. En los islotes de animales tratados en la misma forma y sacrificados después de cinco días, se comprobó una reversibilidad del proceso. Sólo uno de los animales mostró las células beta con granulaciones específicas y células alfa granuladas.

La administración de glucosa en altas dosis a sapos hembras provocó lesiones histológicas del glomérulo renal en la mayoría de los animales. Estas lesiones son evolutivas y persisten o continúan aún después de interrumpida la administración de la droga. Histológicamente las lesiones se presentan desde el segundo día del tratamiento, consistiendo éstas en un espesamiento hialino de la arteria yuxtahiliar y de los capilares, para terminar en una esclerosis de las mismas.

Summary

The administration of glucose to female toads *Bufo arenarum* Hensel at a dose of 2 g/kg during 6 days caused an increase in the size and number of pancreatic islets. The increase is closely related to the hyperglycemic level of the animals.

Degranulation, hypertrophy and glycogenic infiltration were observed in beta cells.

During the first days of treatment an increase in number and a decrease in size were observed in the alpha cells. Later on these cells practically disappeared.

A group of animals treated in the same way and killed five days after the end of glucose administration showed the reversibility of this process. Histological lesions of the renal glomerulus were observed in female toads submitted to administration of high doses of glucose.

These lesions consisted of hyaline thickening of the glomerulus arteriole and capillaries and ended in their sclerosis.

Zusammenfassung

Die Verabfolgung während 6 Tage von 2g Glukose pro 100g Körpergewicht in den dorsalen Lymphsack an weiblichen Kröten, zeigte eine Zunahme der Langerhanschen Inseln an Grösse und Anzahl. Bei den Betaellen wurde eine Degranulierung, Hypertrophie und eine Glykogeninfiltration beobachtet.

Bei den Alpha-Zellen dagegen beobachtete man eine Hyperplasie in den ersten Versuchstagen, gefolgt von einer Atrophie und einem vollkommenen Schwund derselben in den letzten Tagen. Nur in einem Tier wurden Alpha und Betaellen mit spezifischen Sekretkörnern gefunden.

Die Verabfolgung von Glukose in sehr hohen Dosen an weiblichen Kröten verursachte histologische Veränderungen an den Glomeruli der Niere in den meisten Tieren. Diese Veränderungen sind fortschreitend, anhaltend und progressiv, auch nach der Unterbrechung der Droge. Die histologischen Veränderungen sieht man schon vom 2ten Behandlungstag an; sie bestehen in einer hyalinen Verdickung der Juxtahilusarterie und den Kapillaren, die mit einer Sclerose endet.

Resumé

L'administration d'une dose de 2 g/kg de glycose pendant 6 jours aux crapauds femelles a résulté une augmentation de grasseur et numéro des îletes du pancréas. L'augmentation est seulement en relation avec l'hyperglycémie des animaux. Dans les cellules beta nous avons observés dégranulation, hypertrophie et infiltration du glycogen. Dans cellules alpha pendant les 1^{er} jours hypertrophie et hyperplasie, suivant d'une atrophie et pendant les derniers jours de expérience une disparation complètes. Dans les îletes des animaux trèsés de même façon et sacrifiés daprès 5 jours, nous avons observés un procès réversible. Seulement un animal a montré les celules alpha y beta avec des grains especifiques.

L'administration de grandes doses de glycose aux crapauds femelles a provoqué des lésiones histologiques dans le glomerule du rén pour la plupart des animaux. Ces lésiones sont de l'évolution et de persistence ou de continuation deprès de l'interruption de l'administration de la droge. Les lésiones histologiques se montrent à partir le second jour du traitement, ces mêmes consistent d'un hyalinose de l'artère juxtahile et des capillaires et leur terminaisons sont un sclerose.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, A. C. (1913): Studies concerning glycosuria and diabetes. Harvard University Press.
- (1922a): Hydropic degeneration of islands of Langerhans after partial pancreatectomy. «J. Metab. Res.», **1**, 1.
- (1922b): The role of hyperglycemia in the production of hydropic degeneration of islands. «J. Metab. Research.», **1**, 73.
- CARDEZA, A. F. (1957a): Los islotes de Langerhans en la tortuga normal. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **33**, 59-66.
- (1957b): Histología de los islotes de Langerhans en la tortuga diabética por pancreatectomía parcial. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **33**, 67-73.
- (1957c): Histología de los islotes de Langerhans en la tortuga diabética por aloxano y por acción de la glucosa. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **33**, 74-79.
- DOHAN, F. C., y F. D. W. LUKENS (1947): The production of hydropic degeneration of the island of Langerhans by intraperitoneal glucose injection in cat. «Am. J. Med. Sci.», **213**, 122. «Feder. Proc.», **6**, 97.
- (1947): Lesions of the pancreatic islets produced in cats by administration of glucose. «Science», **105**, 183.
- (1948): Experimental diabetes produced by the administration of glucose. «Endocrin.», **42**, 244.
- FOGLIA, V. G. (1948): Características de la diabetes en la rata. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **20**, 21.
- HOUSSAY, B. A., C. MARTÍNEZ y A. F. CARDEZA (1947): Acción de la administración prolongada de la glucosa sobre la diabetes de la rata. «Rev. Soc. Arg. Biol.», **23**, 288.
- V. M. RIETTI (1956): Acción del páncreas e hipófisis sobre la tolerancia a la glucosa en el sapo. «Rev. Soc. Argent. Biol.», **26**, 55.
- KIMMELSTIEL, P., y C. WILSON (1936): Intercapillary lesions. «Amer. J. Path.», **12**, 83.
- LUKENS, F. D. W., y F. C. DOHAN (1948): Pituitary diabetes in the cat: Recovery following insulin or dietary treatment. «Endocrinology», **30**, 175.
- MANCINI, R. E. (1947): Histochemical study of glycogen in tissues. «Medicina», **4**, 7.
- MCGREGOR, L. (1929): The finer Histology of the normal glomerulus. «Amer. J. Path.», **5**, 545-558.
- TORSON, W. E. (1951): Glycogen infiltration, hydropic degeneration of the pancreas in experimental and human diabetes mellitus. «Am. J. Path.», **27**, 327.
- WOERNER, C. A. (1938): Studies of islands of Langerhans after continuous intravenous injection of dextrose. «Anat. Rec.», **71**, 33.

Dra. Irene von LAWZEWITSCH
Facultad de Ciencias Médicas
Buenos Aires (Rep. Argentina)



POSIBILIDADES DE LA TÉCNICA DE TIMM PARA METALES PESADOS, EN EL ANÁLISIS DE LAS TRANSFORMACIONES DEL SUBSTRATO NEUROENDOCRINO

Por

R. SARRAT

Antecedentes

DESDE OKAMOTO (1942), MASKE (1955), FLEISCHHAUER y HORSTMANN (1957), TIMM (1958), VOIGT (1959), STAMPFL (1959), se conoce el reparto de metales pesados en algunas zonas del sistema neuroendocrino. Fue entonces cuando se hizo referencia al elevado contenido en iones Zn, Cu, Fe del hipocampo y en seguida se relacionó este hecho con el páncreas endocrino. Más tarde, el contenido en zinc del hipocampo se consideró desde el punto de vista filogenético, haciendo OTSUKA y col. (1962-65) un completo estudio sobre el reparto de este ion en los distintos animales. Desde el punto de vista experimental, OTSUKA e IBATA (1968), SARRAT (1969-70-71), expresan las transformaciones del hipocampo después de influencias hormonales o trastornos del metabolismo, haciendo especial referencia a las variaciones del contenido en zinc de estos allocortex.

El reparto del zinc en el islote de Langerhans, en varios mamíferos ha sido sistematizado por PETKOV y GALABOVA (1969), quienes señalan las diferencias entre las células alfa y beta, incluso el hecho de que algunas especies (óvidos y bóvidos), no den positividad en el páncreas a las reacciones para determinar zinc.

Pretendemos en el presente trabajo exponer las posibilidades de la técnica de TIMM (1958) para determinar el contenido en zinc en varios órganos y ayudar con ello a interpretar su dinámica de transformación en situaciones experimentales.

Material y métodos

El material del presente trabajo está compuesto por 20 ratas albinas, adultas, machos; 5 en estado de aparente normalidad como controles, y 15 sometidas por espacio entre 7 y 14 días a *hambre y sed*. Finalizando el período experimental, los animales fueron decapitados previa ligera anestesia etérea y extraído inmediatamente el cerebro, páncreas, intestino, así como vísceras que sirvieron de referencia. Una lámina no superior a 3 mm de grosor de estos órganos pasaba a ser fijada durante 24 horas en alcohol-sulfhídrico. Este fijador consta de alcohol de 80 a 96° en el que se hace burbujear SH_2 a saturación. La manera más práctica de obtener SH_2 es calentar en un tubo de ensayo una mezcla compuesta por azufre, parafina y amianto. Es importante cercionarse de que el fijador contenga suficiente cantidad de SH_2 ; para ello nada mejor que observar la pieza que a los 5 minutos de introducida en el baño adquiere un color gris ceniza, cuando el SH_2 burbujeadado tiene alta concentración. Es de recomendar, asimismo, que durante la fijación se burbujee al menos una vez SH_2 nuevo en el líquido fijador. Terminada la fijación, durante la que se han formado los sulfuros correspondientes, se lava la pieza en alcohol de 96°. Deshidratar. Incluir en parafina. Cortar a 10 μ . Desparafinizar. Llevar al agua. Depositar sobre el porta un baño de:

Goma arábica 15 %	50 c.c.
100 c.c. agua { Hidroquinona, 2 gr }	10 c.c.
{ Acido cítrico, 3 gr }	
Nitrato de plata 10 %	1 c.c.

Las soluciones se mezclan inmediatamente antes de usarse y se agitan en un movimiento rotatorio para lograr una mezcla homogénea. Así permanecen los cortes cubiertos por este baño de 1 a 2 horas a la luz difusa, lavándose a continuación con agua templada el porta inclinado, para arrastrar el exceso de solución de plata sobrante. Deshidratar. Montar en Eukit o similares. Eventualmente es factible una coloración de contraste con hematoxilina o violeta de cresilo.

Resultados y discusión

La técnica de TIMM posibilita la demostración del contenido en zinc (y demás metales pesados) de los distintos órganos y su distribución topográfica.

Así, en la figura 1 presentamos, a nivel del páncreas, la capacidad de reacción de los *islotes de Langerhans*, en diferentes situa-

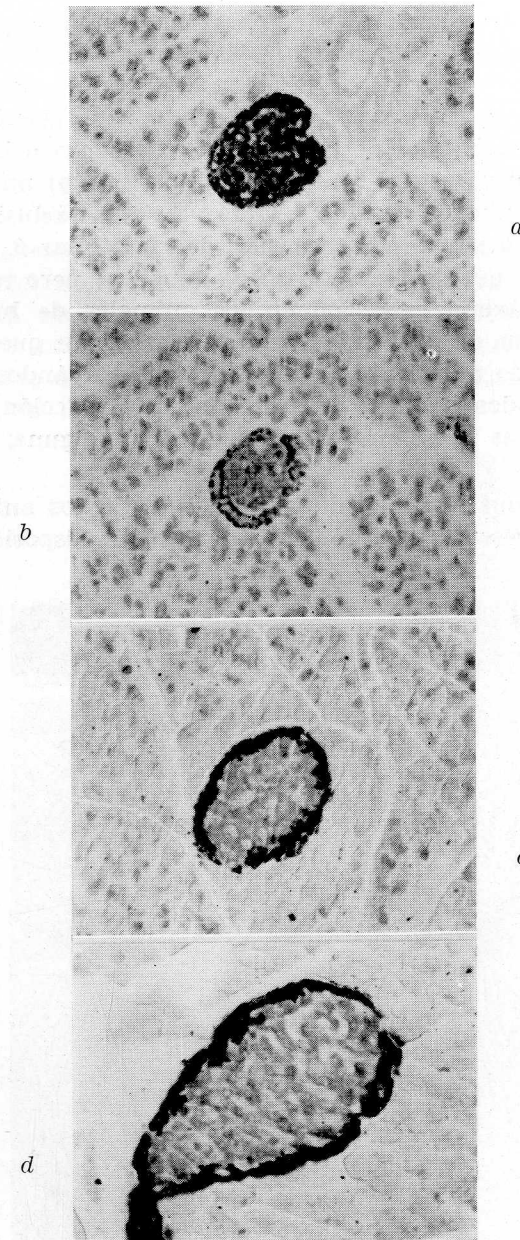


FIG. 1. — Islote de Langerhans. Rata. Técnica de TIMM. a) control, b) Dieta glucídica, c) y d) Hambre y sed (10 días). Obsérvese la diferente reacción según los casos de las células α y β . 320 \times .

ciones experimentales. En la mayor parte de los animales controles (a) las células insulares muestran un aspecto uniforme, quedando todo el islote contrastado por igual. Es de resaltar, sin embargo, que tampoco es raro ver la corona de células α un poco más oscuras que las β . El contraste entre ambos tipos celulares se acentúa en las situaciones experimentales de tipo carencial y tanto más cuanto más intenso y duradero sea el trastorno. Obsérvese (b) un islote perteneciente a un animal sometido a dieta glucídica exclusivamente, que muestra, junto a una escasa reacción de las células β , una reacción normal de las α que se destacan sobre aquéllas; pero este fenómeno adquiere su máxima expresión en los animales de hambre y sed, donde la reacción de las células α es tan masiva que quedan incluidas en el precipitado de sulfuro de zinc-plata, observándose (c y d) los islotes demarcados por una intensa banda de reacción, en cuyo interior las células β no presentan positividad alguna. (Ver detalle en la fig. 4.)

Suponemos que el hecho de tener que poner los animales carenciales toda la reserva glucogénica del hígado a disposición, obliga a

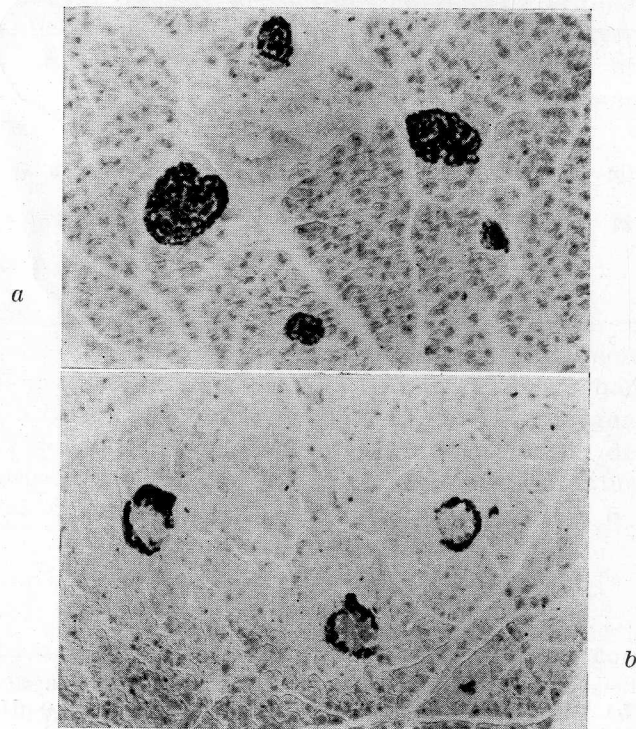


FIG. 2. — Islotes de Langerhans. Rata. Técnica de TIMM. a) Control, b) Hambre y sed (10 días). 125 \times .

las células α a una mayor actividad secretoria de glucagón y por ende a un mayor contenido de zin, ion que como es sabido, activa una serie de pasos bioquímicos, imprescindibles para la elaboración de esta hormona.

En el material de páncreas revisado, se observa una relativa uniformidad en el comportamiento de los islotes como muestra la figura 2, en que (a) presenta una panorámica de un animal control y (b) de un animal sometido a hambre y sed. Advirtamos, sin embargo, que siempre en cualquier estadio se pueden observar islotes con reacciones diferentes, en dependencia del momento funcional en que se encuentran, aunque insistimos que la uniformidad de la reacción es la regla, y asimismo, que las observaciones deben recaer sobre cortes centrales del islote, ya que el corte tangencial puede dar una visión exclusiva de células α .

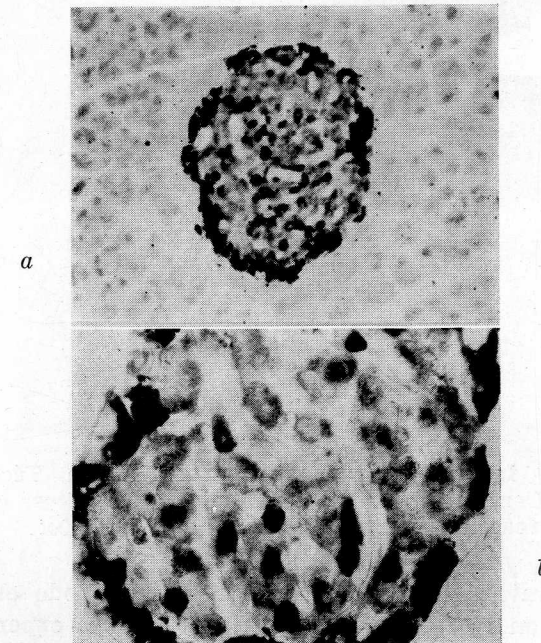


FIG. 3. — Islote de Langerhans. Rata. Técnica de TIMM. a) y b) Animales inducidos con coriogonadotropina. 320 y 500 \times , respectivamente.

La inducción hormonal con coriogonadotropina, figura 3 (a y b), da imágenes que aunque destaca en el islote la corona de células α , se ven células intensamente positivas también en el centro, circunstancia en la que no insistimos por no pertenecer este material al presente trabajo.

Aunque las imágenes que la técnica de TIMM da en *hipocampo* son ya clásicas (fig. 5), queremos destacar su valor cualitativo y cuantitativo en situaciones experimentales. En la figura 6 comparamos dos campos, tomados de h_1 de Ammon, observando cómo en el caso control (a) las células piramidales presentan una reacción en for-

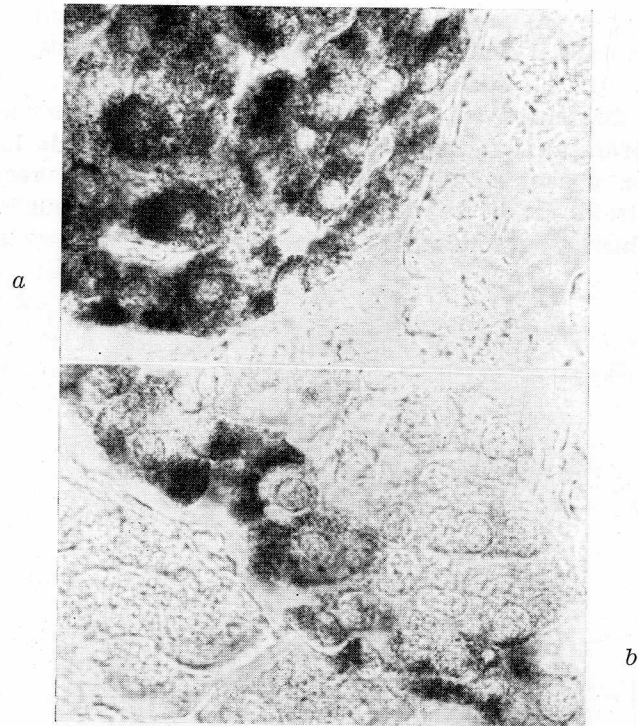


FIG. 4. — Islote de Langerhans (detalle). Rata. Técnica de TIMM. *a*) Control, *b*) Hambre y sed (10 días). Nótese en *b*) la reacción exclusiva de las células α . 1.250 \times .

ma de fino punteado que ocupa materialmente todo el citoplasma, en contraste con la falta de reacción del animal experimental (*b*).

Quizá uno de los órganos más directamente influidos por el trastorno carencial sea el *intestino* donde nuevamente con esta técnica podemos expresar imágenes relacionadas con su funcionalismo. Así, en la figura 7a vemos una vellosidad intestinal de un animal control, donde se observa una positividad selectiva del ribete en cepillo y de la zona de Golgi. Estos territorios han dejado de ser positivos en los animales carenciales (fig. 7b).

Queremos simplemente destacar junto a los hallazgos normales y experimentales de OTSUKA y col. (1962-65), OTSUKA e IBATA (1968),

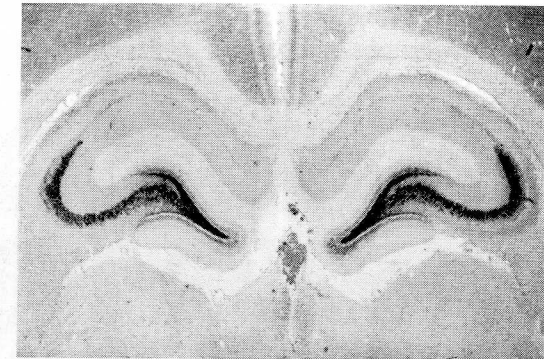


FIG. 5. — Hipocampo (corte frontal). Rata. Método de TIMM para metales pesados. 25 \times .

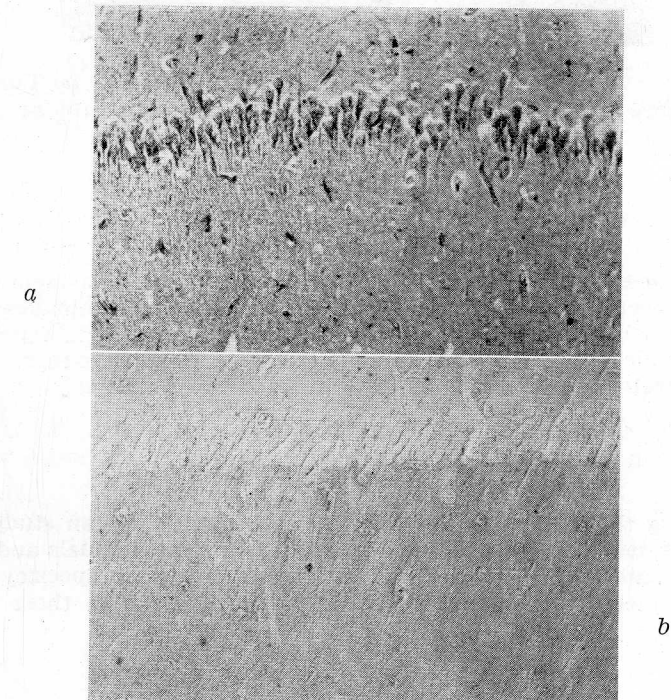


FIG. 6. — Hipocampo (h_1 de Ammon). Rata. Método de TIMM para metales pesados. *a*) Control, *b*) Hambre y sed (10 días). Nótese aquí la ausencia de reacción. 500 \times .

SARRAT (1969-70-71), que la técnica de TIMM nos brinda un nuevo recurso histoquímico de gran expresividad en la interpretación de las transformaciones de algunos substratos neuroendocrinos .

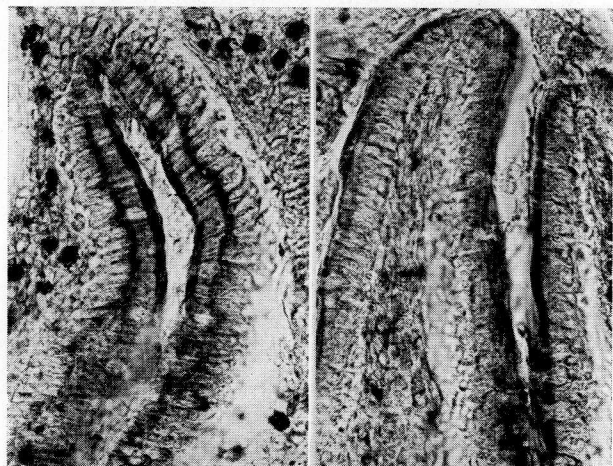


FIG. 7. — Vellosidad intestinal. Rata. Técnica de TIMM. a) Control, b) Hambre y sed (10 días). Nótese en a) la reacción intensa en la zona de Golgi, fue falta en b). 500x.

Resumen

Se realiza un estudio, mediante la técnica de TIMM para metales pesados, del hipocampo, páncreas endocrino e intestino, en animales normales y sometidos a hambre y sed, poniéndose de manifiesto la especificidad de esta técnica para detectar transformaciones progresivo-regresivas de estos substratos, en condiciones experimentales.

Summary

Following the TIMM technic for heavy metals we make an study of the hippocampus, endocrinepancreas and intestine in normal animals and in that have been submitted to hunger and thirst, becoming the specificity of this technic to recognise progresiv-regresiv transformations in these subjets.

Zusammenfassung

Man studiert an Hand der «Timmtechnik» für Schwermetalle, den Hypocampus, endocrin-Pankreas und Darm an normalen und Hunger und Durst ausgesetzten Tieren. Es erweist sich die Besonderheit dieser Technik um progresive-regresive Transformationen dieser Substrate zu be merken.

Resumé

Moyennant la technique de TIMM pour des métaux lourds, on étudie l'hippocampe, pancréas endocrine et intestin, dans des animaux soumis à faim et soif. On mit en évidence la spécificité de cette technique pour détecter des transformations progressif-régressives dans ces substrats.

BIBLIOGRAFÍA

- FLEISCHHAUER, K., y E. HORSTMANN (1957): Intravitale Dithizonfärbung homologer Felder der Ammonsformation von Säugern. «Z. Zellforsch.», **46**, 598-607.
- MASKE, H. (1955): Über den topochemischen Nachweis von Zink im Ammonshorn verschiedener Säugetiere. «Naturwissenschaften», **42**, 424.
- OTSUKA, N., T. ASAKO y A. KATAOKA (1965): Über den histotopochemischen Nachweis von Zink in der Hippocampusformation verschiedener Säugetiere. «Acta anat. Nippon», **40**, 267-273.
- Y. IBATA (1968): Über die Veränderungen des Zinkgehaltes in der Hippocampusformation der Ratte nach Dithizon-, Alloxan- und Oxinzufuhr. «Histochemie», **12**, 357-362.
- PETKOV, P., y R. GALABOVA (1969): Zinkverteilung im Pankreas einiger Säuger. «Acta histochem.», **32**, 93-109.
- SARRAT, R. (1970): Histochemische Aspekte des Ammonshorns unter experimentellen Bedingungen. «Anat. Anz.», **126**, 235-238.
- (1971): Transformationen des Allocortex und Hypothalamus nach experimentellen Stoffmangelstörungen. «Anat. Anz.», **128**, 147-151.
- STAMPFL, B. (1959): Die intravitale histochemische Darstellung des Zinks durch Dithizon. «Acta histochemica», **8**, 406-447.
- TIMM, F. (1958a): Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfid-Silberungsfahren. «Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.», **46**, 706-711.
- (1958b): Zur Histochemie des Ammonshorngebietes. «Z. Zellforsch.», **48**, 548-555.
- VOIGT, G. E. (1959): Das histologische Bild des Pankreas einiger Tiere nach Anwendung der Sulfidsilbermethode. «Acta histochem.», **8**, 84-96.

Prof. R. SARRAT
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Bilbao (España)



TRANSFORMACIONES GONADALES PRODUCIDAS POR DIETAS CARENCIALES E INDUCCIÓN HORMONAL CORIOGONADOTRÓFICA (HCG)

POR

R. SARRAT y J. GÓMEZ-PERÚN

Antecedentes

SE conocen con precisión las modificaciones sufridas por la estructura del testículo ante trastornos generales del organismo y en particular por situaciones carenciales de la dieta. Desde los trabajos de STEFKO (1924), SŁOTOPOLSKI y SCHINZ (1924-25), SIMNITZKY (1926) y STIEYE (1930) como recopilador, SARRAT (1966); se describen alteraciones gonadales que repercuten en las 3 unidades funcionales del testículo: *a*) secuencia espermatogénica, *b*) células de Sertoli y *c*) islotes de Leydig. Más específicamente ESCOLAR y col. (1957); ONO (1969) mediante adrenalectomía; IGBOELI y FOOTE (1969) en criptorquidia experimental; FREHN y THOMAS (1969) utilizando exposición a bajas temperaturas; BISWAS (1970) por medio del calor; describen, entre otros, lesiones selectivas de las células de Sertoli, apareciendo en ellas inclusiones lipoideas, llegando a degenerar por completo en fases experimentales avanzadas; así como detenciones parciales o totales de la espermatogénesis.

En el campo de las inducciones hormonales PAUFLER y FOOTE (1969); SING y MATHUR (1969); GOSLAR, MEHRING y NEUMANN (1970); KAMBOJ y KAR (1970), resaltan transformaciones progresivo-regresivas del substrato gonadal, según el tipo de hormona empleada. Hace años MUSCHKE (1953) y actualmente, valiéndose del microscopio electrónico, RUSSO y SACERDOTE (1971), utilizando coriogonadotropina (HCG), expresan modificaciones del tamaño y estructura de la go-

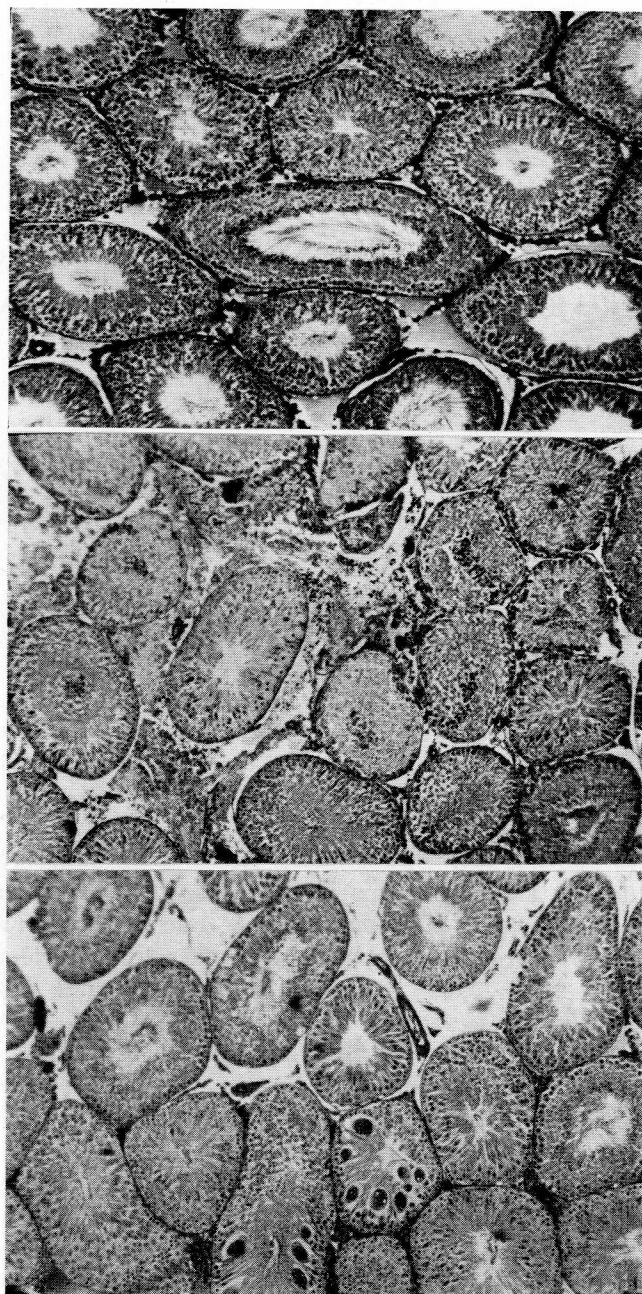


FIG. 1. — Testículo rata. *a*) Control, *b*) y *c*) Hambre y sed. Tricrómico de Martins. 125 \times . Obsérvese en *c*) un aspecto típico de degeneración tubular y en *b*) zonas sin túbulos sustituidos por tejido conjuntivo.

nada, aunque sin especificar las relaciones recíprocas entre los distintos tipos celulares.

Se pretende en el presente trabajo indicar las transformaciones que el hambre prolongado de una parte, y la inducción HCG por otra, producen en el testículo, relacionando ambas alteraciones a nivel de los tres eslabones fundamentales de su constitución anatómica (función espermatogénica, células de sostén, islote intersticial).

Material y métodos

25 rata blancas, adultas, machos (entre 200 y 240 gr) fueron sometidas: 10 a hambre y sed por espacio entre los 7 y 14 días; a 10 se les inyectó intramuscularmente 500 U.I. de HCG en días alternos durante 20 días, quedando las 5 restantes como controles. Terminada la experiencia, decapitación, extracción del testículo, bouin, parafina, 7 μ . H-E. Tricrómico de Martins.

Resultados

Los animales carenciales muestran una marcada reducción de la espermatogénesis, pues aunque algunos túbulos conserven apariencia casi normal, la mayoría se hallan vacíos, observándose arrugamiento y retracción hacia la basal de las células de Sertori, degeneración de espermátidas y espermatoцитos e incluso en fases avanzadas grumos hielinos y dispositivos esféricos multivesiculares, resultado de la reunión de células vacuolizadas intensamente, en vías de destrucción (fig. 1c y 2c). Al desaparecer el dispositivo tubular, una proliferación conjuntiva invade el hueco (fig. 1b y 2b), perdiendo gradualmente el testículo su tejido noble. Excusamos decir que esta invasión conjuntiva afecta igualmente al islote de Leydig, cuyas células pierden su ordenación en grupos, quedando dispersas entre los fascículos colágenos y los elementos sanguíneos extravasados. Compárese todo ello con la imagen control que muestra la figura 1a y 2a.

Tras la inyección de HCG (fig. 3 y 4), se produce un intenso edema y un cuadro regresivo brusco de los tubos seminíferos que pierden su organización, disminuye por degeneración de las células el grosor de la pared, quedando ésta en muchos casos reducida a una sola fila de células germinales pegadas a la basal y con escasas mitosis. Las células de Sertoli quedan reducidas a su núcleo, recubierto por una escasa capa concéntrica de protoplasma. Es evidente que no todos los túbulos están igualmente afectados, puesto que su propio funcionalismo normal es ondulante, y precisamente en la figura 4, mostramos la panorámica (*a*) y el detalle (*b*) de 3 secciones tubulares en distintos estadios de regresión.

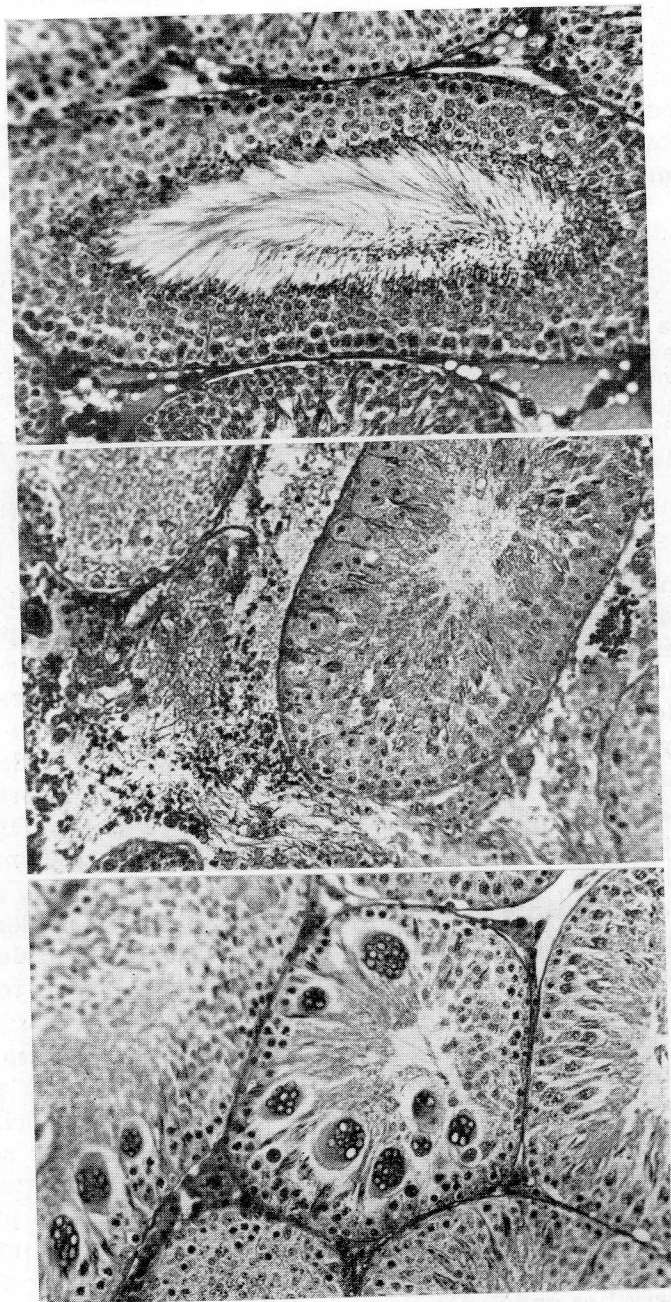


FIG. 2. — Idem a figura 1. 320×.

Simultáneamente se produce una marcada hiperplasia del tejido insular de Leydig, viéndose (fig. 3a y b) cómo destaca éste entre los túbulos atróficos y cómo se observa un aumento de vascularización e intenso edema.

Discusión

A la vista de estos resultados, en relación con los antecedentes de MUSCHKE (1953) y de RUSSO y SACERDOTE (1971), referidos a inyecciones de HCG, hallamos concordancia en lo que a regresión tubular se refiere y en concreto en la afectación de las células de Sertoli, pero queremos destacar nosotros la respuesta de los islotes de Leydig y el intenso componente vascular. Creemos que la histoquímica enzimática, como han realizado con otras hormonas GOSLAR, MEHRING y NEU-

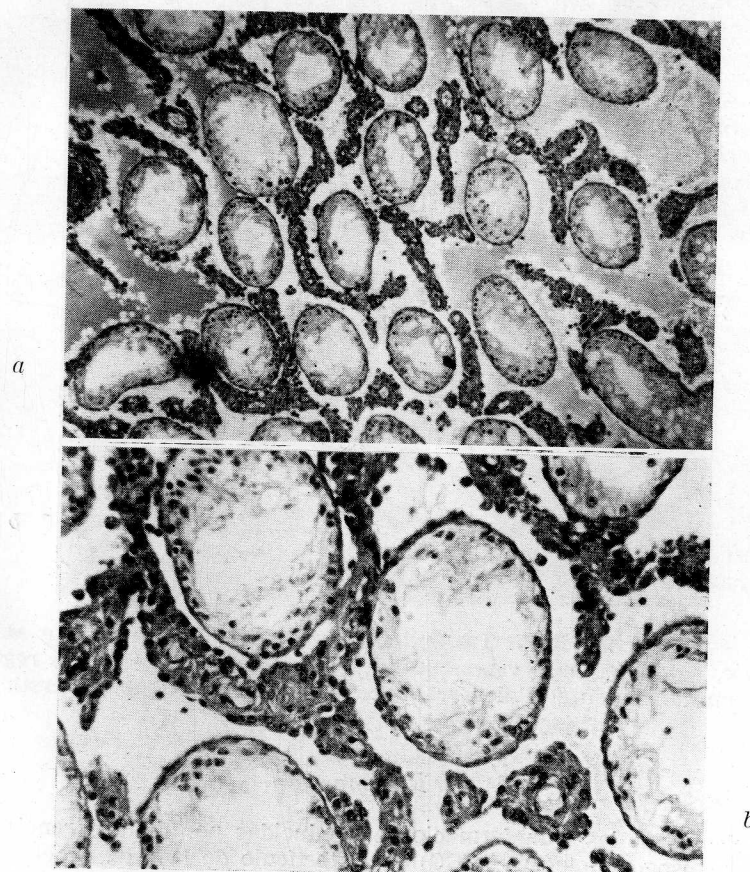


FIG. 3. — Testículo. Rata. Tratamiento con HCG. Tricrómico de Martins. a) 125×, b) 320×. Obsérvese el intenso edema que disgrega la estructura, la atrofia tubular y la hiperplasia de los islotes de Leydig.

MANN (1970), aportará en el caso de la HCG valiosas referencias, e insistimos que vistos nuestros controles y bibliografía sobre inducciones con estrógenos y progesterona, ninguna hormona produce tan intensa y rápida transformación de la gonada masculina como la HCG.

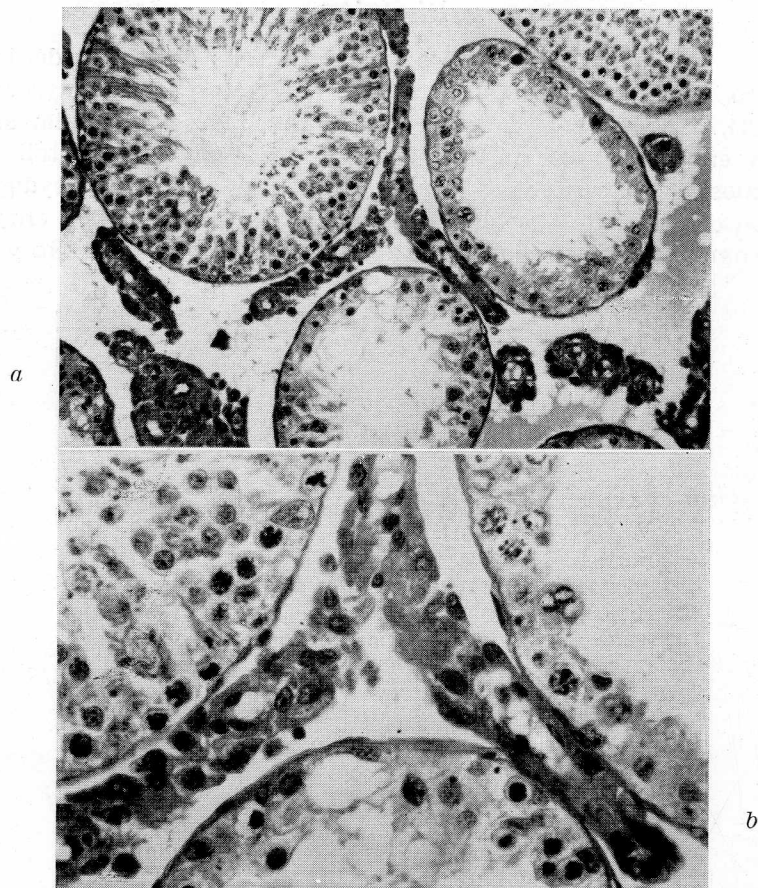


FIG. 4. — Testículo. Rata. Tratamiento con HCG. Tricrómico de Martins. a) 320×, b) 500×. Obsérvese 3 túbulos en distintos estadios de regresión y simultáneamente el desarrollo considerable del tejido intersticial.

Resumen

Se describen las transformaciones producidas por dieta carencial e inducción coriogonadotrófica (HCG) en el testículo de la rata. Se observa en los animales carenciales una regresión sistemática de todos los componentes, mientras que en la inducción hormonal con HCG se observa simultáneamente una brusca regresión tubular, acompañada de una hiperplasia de los islotes de Leydig con intensa congestión y edema.

Summary

The transformation produce en the testicles of rats by hunger and by the treatment with choriogonadotrophic hormone (H.C.G.) can be describe. In the animals with hunger, a regressive process of the testicles esturcture can be notice. On the contrary, on those animals treated with HCG we can notice a tubular regressive prócess with a hyperplasia of Leydig's cells. It can also be notice an intensive congestion and edema.

Zusammenfassung

Man beschreibtdie Veränderungen am Hoden der Ratte, erzeugt durch Hurger und Koriogonadotropin-Hormoneninjktierung (H.C.G.).

Bei den hungernden Tieren beobachtet man eine systematische Rücknahme der ganzen Hodenstruktur. Dagegen bei den mit H.C.G. behandelten Tieren besteht eine jähe, tubuläre Regretion mit einer Hiperplasia der Leydig-Inseln. Man beobachtet gleichzeitig eine starke Stauung und Oedem.

Resumé

On decrit des transformations produites, dans le testicule chez la rat mâle, moyant du faim et moyant le traitement avec d'hormone choriogonadotrophique (H.C.G.). Chez les animaux affamés on remarque de retrogradation sistematique de toute l'estructure du testicule. Au contrair chez les animaux traités par l' H.C.G. coexiste la retrogradation tubulaire brusque avec d'une hiperplasia des ilots de Leyding. On remarque aussi de congestion intense et de l'oedeme.

BIBLIOGRAFÍA

- BISWAS, N. M. (1970): Histochemical changes in the testes of head exposed toads. «Acta histochem.», **37**, 363-368.
- ESCOLAR, J., y cols. (1957): Aportaciones a la dinámica neuroendocrina expresada en transformaciones del substrato anatómico. «An. Anat.» **6**, 5-110.
- FREHN, J. L., y J. A. THOMAS (1969): Effects of cold exposure and hibernation on the liver, brown fat, and testes from golden hamster. «J. exp. zool.», **170**, 107-116.
- GOSLAR, H. G., M. MEHRING y F. NEUMANN (1970): The effect of the antiandrogens cyproterone and its acetate on the interstitial cells of juvenile and adult rat testes was studied histochemically. «Histochemie», **23**, 51-58.
- IGBOELI, G., y R. H. FOOTE (1969): Changes in epididymal spermatozoa and in the testes of rabbits after experimental cryptorchidisms. «J. exp. zool.», **170**, 489-497.
- KAMBOJ, V. P., y A. B. KAR (1970): Effect of progesterone on biochemical composition of rat seminiferous tubules. «Indian J. exp. biol.», **8**, 68-70.

- MUSCHKE, E. (1955): Histometrische Untersuchungen an Rattenhoden nach Hypophysektomie und nach Choriogonadotropinzufuhr. «Endocrinology», **30**, 231-242.
- ONO, S. (1969): Cytological observations on the rat testis within 24 hours after total bilateral adrenalectomy. «J. Tokio wom. med. coll.», **39**, 461-471.
- PAUFLER, S. K., y R. H. FOOTE (1969): Effect of (TEM) and cadmium chloride on spermatogenesis in rabbits. «J. Reprod. Fertil.», **39**, 309-319.
- RUSSO, J., y F. L. SACERDOTE (1971): Ultrastructural changes induced by HCG in the Leydig cell of adult mouse testis. «Z. Zellforsch.», **112**, 363-370.
- SARRAT, R. (1966): Modificaciones del substrato adrenal, tiroideo y gonadal producidas por alteraciones metabólicas. «An. Anat.», **15**, 213-223.
- SIMNITZKY, W. S. (1926): Beiträge zur Frage über das Interstitialgewebe des Hodens als Resorptionsorgan (Testes bei Avitaminose B). «Virchows Arch.», **261**, 265-286.
- SINGH, K., y R. S. MATHUR (1969): Effect of lut ovacyclin on some testicular enzymes of the Indian Desert gerbil *Meriones hurvianae* Jerdon. «Endocr. Jap.», **16**, 149-155.
- SLOTOPOLSKI, B., y H. R. SCHINZ (1924): Experimentelle und histologische Untersuchungen am Hoden. «Dtsch. Z. Chir.», **188**, 76-100.
- (1925): Histologische Hodenbefunde bei Sexualverbrechern. «Virchows Arch.», **257**, 294-355.
- STEFKO, W. H. (1924): Über die Veränderungen der Geschlechtsdrüsen des Menschen beim Hunger. «Virchows Arch.», **252**, 342-353.
- STIEVE, H. (1930): Harn- und Geschlechtsapparat. «Hand. mikr. Anat. Mensch. W. v. Möllendorf», VII/2. Springer-Verlag. Berlin.

Prof. R. SARRAT
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Bilbao (España)

NOTICIAS

PROXIMA REUNION DE LA SOCIEDAD ANATOMICA DE LENGUA ALEMANA (ANATOMISCHE GESELLSCHAFT)

La reunión núm. 68 de la Sociedad Anatómica de Lengua Alemana se celebrará en Lausana (Suiza) desde el 8 al 12 de abril de 1973. El Presidente es el Prof. A. F. HOLSTEIN (Hamburg). El Comité Organizador local lo preside el Prof. BUCHER. Instituto de Histología y Embriología. Calle de Bugnon, 9. Lausanne.

El tema principal corresponde a Espermatogenesis, de la que se hablará en la primera reunión. En las reuniones siguientes se expondrán los temas que se anuncien, debiendo los interesados enviar con la antelación debida un pequeño resumen de su contenido para su mejor clasificación en el programa.

Las demostraciones también deberán ser discutidas. A estos efectos, siempre sería recomendable una posible relación con algún tema que pudiera figurar en las comunicaciones.

A efectos de disponer de los instrumentos ópticos y medios espaciales de demostración, y sobre todo el envío de los Temas y resúmenes de comunicaciones y demostraciones, se ruega se notifique lo más tarde el 15 de diciembre de 1972, al Prof. WATZKA. Anatomisches Institut. Mainz.

ANATOMISCHE GESELLSCHAFT

Die 68. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft findet in der Zeit von Sonntag, den 8 April (Begrüßungsabend) bis Donnerstag, den 12 April 1973 in Lausanne/Schweiz

Statt.

Vorsitzender ist Priv. Doz. Dr. A. F. Holstein, Hamburg, örtlicher Organisator Prof. Dr. O. Bucher, Institut d'Histologie et d'Embryologie, CH-1.011 Lausanne, Rue du Bugnon, 9.

Das Hauptthema des Kongresses lautet: *Spermatogenese*.

In der 1. Sitzung werden eingeladene Referenten sprechen. Bei der Gestaltung des übrigen Programms werden zunächst Kurzvorträge mit Vorzug berücksichtigt, die sich auch im weiteren Rahmen mit dem Hauptthema beschäftigen (z. B. Sertolizellen, Leydigzellen, Nebenhoden, Samenleiter, akzess. Geschlechtsdrüsen, Capacitation, etc.). Anschließend folgen

die zu anderen Themen gemeldeten Kurzvorträge von 10 Minuten. Um eine thematisch sinnvolle Zusammenstellung des Kongreßprogrammes vornehmen zu können, wird bei der Anmeldung wieder um eine kurze Inhaltsangabe des Vortrages gebeten.

Auf der 67. Versammlung in Köln wurde beschlossen, daß auch in Lausanne Zeit für das Betrachten und für die Diskussion von Demonstrationen in das Kongreßprogramm eingegliedert wird. Durch die guten Erfahrungen des letzten Kongresses bestärkt, empfiehlt der Vorstand, wieder von dieser Möglichkeit der wissenschaftl. Kommunikation Gebrauch zu machen.

Anmeldungen für freie Vorträge und Demonstrationen (mit Angabe der benötigten optischen Instrumente, des erforderlichen Platzes sowie anderer Wünsche) müssen bis spätestens

15. Dezember 1972

beim Schriftführer, Herrn Prof. Dr. M. Watzka, Anatomisches Institut, 65 Mainz, Saarstr. 19 eingegangen sein. Angemeldete Vorträge, die aus irgendwelchen Gründen hinfällig werden, sollen vor dem 1. April 1973 beim Schriftführer abgemeldet worden sein.

Aus gegebenem Anlaß möchte der Vorstand noch einmal an die Satzung der Anatomischen Gesellschaft erinnern, in deren Absatz 12 festgelegt wurde, daß Kurzvorträge nach Möglichkeit nicht von einem Manuskript abgelesen, sondern frei gehalten werden sollen. Vortragende, die in einer Fremdsprache reden, sind von dieser Regelung ausgenommen.

Mit freundlichen kollegialen Grüßen
 der Schriftführer der Vorsitzende
 M. Watzka A. F. Holstein

NOTAS BIBLIOGRÁFICAS

ASPECTS OF NEUROENDOCRINOLOGY, 5.º International Symposium on Neurosecretion. W. BARGMANN and B. SCHARRER. Springer Verlag. Berlin. Heidelberg. New York, 1970.

Se trata de la publicación de los temas del 5.º Symposium sobre Neurosecreción, celebrado en Kiel en el año 1969. El contenido se agrupó de la siguiente manera:

- 1.º *Neurosecreción en los invertebrados*, por ser el grupo de más fácil demostración. En este capítulo se empieza dando preferencia a las posibilidades de representación de las células neurosecretoras, por técnicas de fluorescencia.
- 2.º *Neuronas adrenérgicas*, lo mismo por técnicas de fluorescencia como de microscopía electrónica, deteniéndose en el hipotálamo de las aves, médula espinal, *tuber cinereum*, hipotálamo y neurohipófisis.
- 3.º *Mecanismo de producción de las secreciones neurohipofisarias*, unas veces desencadenadas por descargas eléctricas y otras deteniéndose en la ultraestructura de la fibra terminal y en concreto de las vesículas sinápticas, referido todo, naturalmente, a la neurosecreción.

4.º *Estudio del control hipotalámico de la secreción adenohipofisaria*, relacionable con las neuronas dopamínicas, lo mismo para la secreción de la hormona del crecimiento o de las hormonas gonadales.

5.º y último capítulo. En él se reúnen diversos problemas de neurosecreción, cuyo número imposibilita resumirlos aquí.

Aunque los distintos temas se refieren a concretos problemas de investigación, sus referencias en el presente tratado pretenden dar cierta unidad que, estimamos, puede ser captada fácilmente por el que investiga en estas mismas líneas de trabajo y de gran utilidad por su importancia actual y por el manejo de algunas técnicas, como la microscopía electrónica, la fluorescencia y la auto-radiografía, que pueden ser combinables en un mismo caso de estudio.

