

FACULTADES DE MEDICINA DE: ZARAGOZA, SALAMANCA,
NAVARRA, VALENCIA, SEVILLA, LA LAGUNA, AUTONOMA
DE MADRID, CORDOBA, BILBAO, MALAGA Y
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS



ANNALES

DE

ANATOMIA

Volumen XXV

Agosto 1976

Núm. 65

SUMARIO

	<u>Páginas</u>
<i>Trabajos originales:</i>	
EFFECTOS EN CRONICIDAD DE LAS LESIONES EN EL BRACHIUM CONJUNCTIVUM Y OTRAS ESTRUCTURAS CEREBELOSAS EN LOS ESTADOS DE VIGILIA Y DE SUEÑO, por <i>I. de Andrés</i>	237
ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA ADENOHIPÓFISIS EN GATOS TIROIDECTOMIZADOS, por <i>G. Bernal y G. Palomero</i>	267
PROYECCIONES ÓPTICAS DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL VENTRAL (UN ESTUDIO AUTORADIOGRÁFICO), por <i>M. Bouthelier Moreno y L. Martínez Millán</i>	277
ZONAS DE MESENCÉFALO DESTACABLES POR WALLERIANISMO EN RELACIÓN CON PROCESOS DE DESCEREBRACIÓN CLÍNICA, por <i>J. L. Bueno y C. Reblet</i>	285
SOBRE LA PARTICIPACIÓN DE LA SUPERFICIE DE CONTACTO HIPOFISARIA EN MECANISMOS METABÓLICOS (EXPRESIÓN EN EL GATO DE UNA DISTROFIA EXPERIMENTAL Y DE FENÓMENOS DE AUTOAGRESIÓN RENAL), por <i>J. Escolar, D. Gardeñes y M.^a A. Escolar-Castellón</i>	293

(*Sigue a la vuelta*)



	<u>Páginas</u>
MODIFICACIONES ESTRUCTURALES DEL SISTEMA ESQUELÉTICO EN CONDICIONES EXPERIMENTALES, por <i>C. Gascón</i>	309
MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS Y ALTERACIONES CROMOSÓMICAS PROVOCADAS POR LA ACCIÓN DE LA ADRIAMICINA SOBRE FIBROBLASTOS EN EMBRIÓN DE POLLO CULTIVADOS IN VITRO, por <i>J. L. Lancho Alonso</i>	347
CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LA VAGINA Y PORTIO VAGINALIS DEL ÚTERO EN RELACIÓN CON EL DE ZONAS DE POSIBLE FUNCIÓN INDUCTORA, por <i>M.^a F. Martínez Casamayor</i>	359
ORGANIZACIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN COBAYOS SUPRARRENALECTOMIZADOS, por <i>G. Palomero</i>	397
LA ENCRUCIJADA VENTRICULAR CEREBRAL ALTERADA EXPERIMENTALMENTE Y VÍAS DE DEGENERACIÓN WALLERIANA CONSECUENTE (REFERENCIAS A LAS CONEXIONES DEL HIPOCAMPO), por <i>C. Reblet</i>	407
DOES ATHEROSCLEROSIS BEGIN IN FETAL LIFE?, by <i>H. Sinzinger, Ch. Dadak, W. Feigl, Ch. Leithner and E. Cemper</i>	437
IMÁGENES ULTRAESTRUCTURALES DE UNA TELOFASE TARDÍA EN UNA CÉLULA TIROIDEA DE RATA ADULTA, por <i>R. Vázquez, P. Amat, L. Muñoz Barragán y J. L. Lancho Alonso</i>	443
<i>Noticias</i>	453
<i>Notas bibliográficas</i>	455

ANALES DE ANATOMÍA

CONSEJO DE REDACCIÓN:

P. Amat (Salamanca). - J. Astruc (Richmond, U.S.A.). - A. Dabelow (Mainz). - J. Escolar (Zaragoza). - R. Ferres Torres (Tenerife). - L. M. Gonzalo Sanz (Pamplona). - J. Jiménez Castellanos (Sevilla). - L. Jiménez González (Zaragoza). - A. Llamas (Madrid). - L. Martínez Millán (Zaragoza). - E. Martínez Moreno (Madrid). - G. Palomero (Salamanca). - F. Reinoso (Madrid). - S. Rodríguez García (Zaragoza). - J. Sandoval (Córdoba). - R. Sarrat (Bilbao). - J. Smith Agreda (Málaga). - V. Smith Agreda (Valencia). - D. Starck (Frankfurt). - E. Tonnuti (Ulm). - R. Vázquez (Salamanca). - J. L. Velayos (Cádiz). - A. Vera Gil (Zaragoza). - M. Wastzka (Mainz).

DIRECTOR:

J. Escolar.

SECRETARIO DE REDACCIÓN:

L. Martínez-Millán.

DIRECCIÓN, REDACCIÓN Y ADMINISTRACIÓN:

Cátedra de Anatomía "A". - Departamento Anatómico. - Facultad de Medicina. - Plaza de 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, LA LAGUNA, AUTONOMA
DE MADRID, CORDOBA, BILBAO, MALAGA Y
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

ANALES DE ANATOMIA

Volumen XXV

Agosto 1976

Núm. 65



Depósito legal Z, 15-1960

Imprenta "Heraldo de Aragón". - Calvo Sotelo, 9.- Zaragoza 21-V-76 - Ref. 1280



COLABORADORES EN ESTE NÚMERO

AMAT, P.	<i>Catedrático de Anatomía. Facultad de Medicina. SALAMANCA.</i>
ANDRÉS, I. DE	<i>Prof. adjunto de Biología. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. MADRID.</i>
BERNAL, G	<i>Prof. agregado de Anatomía. Facultad de Medicina. CORDOBA.</i>
BOUTHELIER MORENO, M.	<i>Doctorando del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
BUENO, J. L.	<i>Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
ESCOLAR-CASTELLÓN, M. ^a A. ...	<i>Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
ESCOLAR GARCÍA, J.	<i>Jefe del Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
GARDEÑES, D.	<i>Doctorando del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
GASCÓN, C.	<i>Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. BILBAO.</i>
LANCHO ALONSO, J. L.	<i>Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. SALAMANCA.</i>
MARTÍNEZ CASAMAYOR, M. ^a F.	<i>Doctorando del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
MARTÍNEZ MILLÁN, L.	<i>Colaborador del C.S.I.C. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
MUÑOZ BARRAGÁN, L.	<i>Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. SALAMANCA.</i>
PALOMERO, G.	<i>Prof. agregado de Anatomía. Facultad de Medicina. BILBAO.</i>
REBLET, C.	<i>Prof. ayudante. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. ZARAGOZA.</i>
SINZINGER, H.	<i>Department of Anatomy. Faculty of Medicine. University of VIENNA.</i>
VÁZQUEZ, R.	<i>Prof. agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. SALAMANCA.</i>

EFFECTOS EN CRONICIDAD DE LAS LESIONES EN EL BRACHIUM CONJUNCTIVUM Y OTRAS ESTRUCTURAS CEREBELOSAS EN LOS ESTADOS DE VIGILIA Y DE SUEÑO⁽¹⁾

POR

I. DE ANDRÉS

Introducción

La experiencia propia y la observación directa de los demás, nos hablan de que en la vida de todo individuo, existen dos situaciones comportamentales, aparentemente contrapuestas entre sí, que se suceden una a otra a lo largo de toda la existencia. Estas dos situaciones comportamentales básicas son el sueño y la vigilia.

Los aspectos comportamentales de estos dos estados son bien conocidos y evidentes: la vigilia se caracteriza por ser un estado abierto al mundo exterior en el que el individuo desarrolla la vida consciente, mientras que en el sueño el individuo se encuentra en un estado reversible, de relativa quietud, con un umbral muy alto para percibir los estímulos externos.

Hasta el momento, a pesar de las distintas manifestaciones somáticas y vegetativas de ambos estados, han sido las técnicas electroencefalográficas las que al poner de manifiesto las características bioeléctricas del sueño y de la vigilia, han permitido identificar clara y objetivamente las fases de este ciclo, así como diferenciarlas entre sí y conocer sus relaciones.

(1) Resumen de la Tesis doctoral "Influencia del cerebelo en la regulación del ciclo vigilia-sueño" leída el 2 de diciembre de 1975 en la Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Ciencias Biológicas), dirigida por el Prof. Reinoso-Suárez y que mereció la calificación de Sobresaliente "cum laude".

Este trabajo se realizó con una Ayuda de la Fundación Rodríguez Pascual (año 1972) y una beca del Plan de Formación de Personal Investigador del M.E.C. (años 1974-1975).

(2) Prof. adjunto de Biología. Departamento de Morfología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.

Según los criterios electroencefalográficos, mediante registros realizados en animales de experimentación (mamíferos, especialmente en el gato), la vigilia se corresponde con trazados de ondas rápidas de bajo voltaje, en la somnolencia (HESS y col., 1953) aparecen mezcladas con ondas rápidas, frecuentes grupos de ondas de alto voltaje de 8-12 ciclos/segundo, que dibujan "husos" muy característicos; cuando el animal exhibe un comportamiento de sueño, desde muy antiguo (BERGER, 1932; BREMER, 1935) se reconoció que el patrón electroencefalográfico se correspondía con trazados de ondas lentas de 1-4 ciclos/seg. de amplio voltaje (ondas delta) y con complejos característicos (complejos k). Durante mucho tiempo se tomó al trazado electroencefalográfico activado con ondas rápidas y de pequeño voltaje como la expresión bioeléctrica de la vigilia y el trazado sincronizado con ondas lentas de alto voltaje como la manifestación típica del sueño; pero DEMENT y KLEITMAN (1957) en el hombre y DEMENT (1958) en el gato, dieron a conocer que periódicamente durante el sueño, se podían recoger fases en las que aparecía una actividad rápida con ondas de bajo voltaje semejantes a las que se recogían durante la vigilia. A partir de 1959, JOUVET y su escuela demostraron que este estado, en efecto, constituía una fase del sueño, precisamente a la que correspondía al estado de sueño más profundo, ya que durante él se daba una atonía total de la musculatura antigravitatoria. JOUVET (1962) y su escuela, demostraron también que los movimientos oculares rápidos que se dan en esta fase son diferentes a los de la vigilia.

La aparente paradoja de que durante el estado comportamental de sueño más profundo se recogiera en el EEG una actividad semejante a la de la vigilia, dio nombre a esta fase del sueño: sueño paradójico. El trazado de EEG con ondas lentas y de alto voltaje dio nombre a la otra fase: sueño lento.

A pesar de que se ha querido demostrar que la aparición de las distintas fases del ciclo vigilia-sueño, viene determinada por la existencia de sustancias que actuarían por mecanismos humorales (MONNIER y HÖSLI, 1965; MONNIER y col., 1975), la aparición y la regulación de las fases de este ciclo se lleva a cabo a través de la actuación de sistemas neuronales encefálicos, como lo demuestran los registros poligráficos obtenidos en casos de gemelos craniópagos (LENARD y SCHULZE, 1972), o en los procedentes de implantes cefálicos (NAVA y col., 1973), a través de los cuales se puede observar que aunque haya una circulación común para ambas cabezas, se da una independencia total en el ritmo vigilia-sueño de cada una de ellas (ANDRÉS y col., 1975, 1976).

El estudio de la vigilia y del sueño desde el punto de vista neurofisiológico, para conocer en profundidad cuál es la participa-

ción de las distintas estructuras encefálicas en el ciclo vigilia-sueño, además de los criterios comportamentales requiere el uso combinado de las técnicas poligráficas y la estimulación o la destrucción de estructuras nerviosas, así como tiempo de trazados suficientemente largos para valorar estadísticamente los resultados.

De acuerdo con los hallazgos constantes y con la conformidad de los hallazgos obtenidos mediante técnicas de estimulación y de lesión de estructuras encefálicas, determinados centros y vías nerviosas que les unen juegan un papel preponderante en este ciclo, aunque no sea en esta sola manifestación de la conducta en la que intervengan, ni sean los únicos responsables de las relaciones entre las distintas fases del sueño y de la vigilia.

En este sentido caben destacarse (véase REINOSO-SUÁREZ, 1971, 1974): centros de naturaleza hipnogénica prosencefálicos como el hipotálamo anterior, la región preóptica o la región subtalámica que forman parte del sistema hipnogénico rostral (HESS, 1944; CLEMENTE y STERMAN, 1963; HERNÁNDEZ PEÓN y CHÁVEZ IBARRA, 1963; MADOZ y REINOSO-SUÁREZ, 1968; MADOZ, 1969). Por otra parte, existe el sistema hipnogénico caudal que comprende estructuras próximas al suelo del cuarto ventrículo (MAGNE y col., 1961; BERLUCCHI y col., 1964), así como al núcleo reticular caudal del puente y al núcleo gigantocelular (ZARRANZ y REINOSO-SUÁREZ, 1971; ZARRANZ, 1972). En medio de estos dos sistemas hipnogénicos, se encuentra el sistema reticular activador (MORUZZI y MAGOUN, 1949).

Los hallazgos de la escuela italiana (BATINI y col., 1959), hicieron suponer, gracias a hemisecciones o secciones realizadas a niveles pretrigeminales rostro y mediopontinas, que la región del tegmento pontino oral era la parte más caudal del sistema reticular activador. Sin embargo, la participación de las estructuras que se encuentran en esta zona en el ciclo vigilia-sueño, es un problema que aún se encuentra sin resolver.

La región oral del puente es una zona de encrucijada donde confluyen proyecciones procedentes de regiones más caudales. A este nivel se da la presencia de parte de los núcleos del rafe y del locus coeruleus y subcoeruleus de cuyo contenido en serotonina (núcleos del rafe) y noradrenalina (loc. coeruleus y subcoeruleos) dependerían, para JOUVET (1967, 1972, 1974) el sueño lento y el sueño paradójico. A este nivel del tronco cerebral se da la llegada de los pedúnculos cerebelosos superiores y por tanto de las proyecciones del cerebelo a través del brachium conjunctivum. Todos estos hechos determinan la necesidad de un análisis cuidadoso de esta zona mediante la producción de pequeñas lesiones lo más selectivas posibles para saber de hecho cuál es la participación de

cada una de las estructuras situadas a este nivel en el ciclo vigilia-sueño.

Es sabido gracias a los trabajos de JOUVET (1962) que el cerebelo no es necesario para que aparezcan las distintas fases del ciclo vigilia-sueño, ya que en los animales que han sufrido cerebelotomía se dan todas ellas, incluido el sueño paradójico. No obstante los trabajos de la escuela italiana, han puesto de manifiesto importantes variaciones cualitativas y cuantitativas en el ciclo vigilia-sueño seguidas a la producción de lesiones en estructuras cerebelosas. Así, GUGLIELMINO y STRATA (1971) dieron a conocer que en animales que habían sufrido cerebelotomía o ablación del lóbulo anterior cerebeloso o destrucción bilateral de los núcleos fastigios, no se daba una atonía total en la musculatura antigravitatoria durante el sueño paradójico. Tras la destrucción bilateral de los núcleos fastigios (GIANNAZZO y col., 1969) se siguen modificaciones estadísticamente significativas en el sentido de aumentar el sueño lento y disminuir la vigilia en condiciones agudas y a aumentar la vigilia y disminuir el sueño lento en condiciones crónicas. Tras las lesiones de las principales proyecciones aferentes al cerebelo, esto es, tras lesiones del brachium pontis, se siguen cambios en el ritmo vigilia-sueño en el sentido de aumentar el sueño lento y disminuir la vigilia (RAFFAELE y col., 1971).

Para la escuela italiana, la influencia del cerebelo en el ciclo vigilia-sueño, se haría exclusivamente a través de las formaciones paleocerebelosas. El neocerebelo no influiría sobre este ciclo, sólo estaría encargado de la coordinación motora.

Sin embargo, la participación del cerebelo en la regulación de la actividad eléctrica cortical a través de sus conexiones mediante el brachium conjunctivum fue reconocida muy tempranamente gracias a los trabajos de WALKER (1938) y posteriormente fue confirmada con los trabajos de numerosos autores (GONZALO SANZ, 1954; MORUZZI, 1958; KREINDLER y STERIADE, 1958; ARDUINI y HIRAO, 1959). La estimulación o la destrucción de formaciones neocerebelosas o en relación con el brachium conjunctivum, dan lugar a que se consigan fácilmente respuestas localizadas en corteza motora. Pero, también existen evidencias experimentales de que el cerebelo a a través de esta vía puede ejercer una acción sobre la actividad eléctrica difusa de la corteza cerebral (CREPAX y FADIGA, 1956; CAMACHO EVANGELISTA, 1962; CAMACHO EVANGELISTA y REINOSO-SUÁREZ, 1965; SNIDER y WETZEL, 1965).

Los hechos anteriores, junto con la problemática de la región oral del puente en la regulación del ciclo vigilia-sueño, nos llevó a preguntarnos por la posible participación del cerebelo a través de sus conexiones por el brachium conjunctivum en la regulación

del ciclo vigilia-sueño. Para ello hemos llevado a cabo un estudio estadístico de las variaciones presentadas en los estados de vigilia, somnolencia, sueño lento y sueño paradójico en gatos adultos, no anestesiados y libres, a los cuales se les practicó mediante diatermocoagulación la lesión del brachium conjunctivum y/o estructuras cerebelosas o troncoencefálicas vecinas.

Material y métodos

Las experiencias se han llevado a cabo en gatos adultos de uno y otro sexo, con pesos comprendidos entre 2'5 y 3'5 Kg.

Previo anestesia con Ketolar (7 mg/Kg) y nembutal sódico (25 mg/Kg) se procedió a la implantación de electrodos crónicos para registro de EEG, EMG de la musculatura de la nuca y EOG (movimientos oculares). Además, valiéndonos del atlas estereotáxico de REINOSO-SUÁREZ (1961) se introdujo en el mismo acto operatorio un electrodo profundo en la región donde el brachium conjunctivum aborda al tronco del encéfalo (plano — 3'5 del atlas). Para evitar la tienda del cerebelo, se entró con este electrodo mediante el eje vertical del aparato de strotaxis con una inclinación de 60° con la horizontal.

Todos los electrodos se fijaron al cráneo y se aislaron con cemento de dentista y sus terminales se soldaron a un enchufe de clavijas múltiples que a su vez quedó fijado al cráneo del gato mediante este mismo material.

En los bordes de la herida operatoria se depositó una mezcla de antibióticos y sulfamidas y se cerró mediante puntos sueltos de seda.

El animal recibió los cuidados postoperatorios necesarios para evitar posibles infecciones. Una vez recuperados del trauma operatorio, al cabo de 8 días se procedió a tomar registros mediante un electroencefalógrafo Alvar (modelo Minihuit) de 8 canales. En uno de sus canales se recogieron los movimientos oculares (EOG), en otro el electromiograma de la musculatura de la nuca (EMG) y los otros seis se utilizaron para recoger el electroencefalograma (11G) en las diversas zonas corticales.

El tiempo de duración de los registros fue para unos animales 8 horas y para otros 24 horas.

Para cada animal se han tomado registros con intervalos semanales repartidos de la siguiente forma: 3 registros previos a la lesión durante 3 semanas consecutivas (con los cuales se pudo obtener el comportamiento respecto al ciclo vigilia-sueño de estos animales intactos). A la cuarta semana se procedió a lesionar la región objeto de estudio, utilizando para ello el electrodo situado

en profundidad. La lesión se realizó mediante diatermocoagulación con un aparato Grass. Se utilizaron intensidades eficaces de 20-30 mA y tiempos de 30 a 60 segundos. Inmediatamente después de producir la lesión, a tomar el primer registro postlesional que nos indicaría el resultado de las lesiones en condiciones agudas. Durante 4 semanas consecutivas, se procedió a tomar otros tantos registros poligráficos con el fin de obtener los resultados tras las lesiones en cronicidad.

Todos los registros, tanto basales como postlesionales, se realizaron mediante las mismas condiciones ambientales: idéntica temperatura (20-22° C), oscuridad absoluta, dentro de una cámara insonorizada, en una jaula aislada eléctricamente que permitía por sus dimensiones que los animales se moviesen libremente. Durante los registros los animales tenían a su disposición agua y comida. Los registros de 8 horas se tomaron entre las 10 de la mañana y las 6 de la tarde.

Utilizamos otros animales como control en los que se realizó la experiencia en iguales condiciones. Estos animales, en unos casos no se produjo la lesión y en otros casos se dejó pasar a través del electrodo profundo corriente de 8 ó 10 miliamperios que no fueron eficaces para producir diatermocoagulación, pero sufrieron el fuerte estímulo provocado por el paso de corriente, como en el caso de los que resultaron con lesión.

Finalizada la experiencia neurofisiológica, se procedió a sacrificar a los animales mediante perfusión con suero salino y formol al 10 %. A continuación se extrajo su encéfalo, el cual, previa fijación total, se bloqueó y se realizaron cortes por congelación que se tiñeron por el método de Nissl. El examen bajo lupa y microscopio de estos cortes nos informó de la exacta localización del electrodo y de la extensión de las lesiones. Así mismo, en los animales que presentaron la lesión del pedúnculo cerebeloso superior fue estudiada la degeneración retrógrada en los núcleos profundos del cerebelo.

Los registros poligráficos se analizaron manualmente y se tabularon la duración de los períodos de vigilia, somnolencia, sueño lento y sueño paradójico de acuerdo a los patrones poligráficos de estos estados.

Los datos se procedió a perforarlos en cintas de papel modelo NCR. El análisis de los datos se hizo con un ordenador Intertec-nique (Multi-8) mediante un programa escrito en LEM que permitía (test de t) conocer si se dieron modificaciones estadísticamente significativas en la duración media por hora de registro en cada uno de los estados considerados.

En los distintos animales el análisis estadístico se llevó a cabo comparando los valores pre y postlesionales de la vigilia, de la somnolencia, del sueño lento y del sueño paradójico. Se consideraron los valores obtenidos en todos y en cada uno de los registros tras la lesión y en el conjunto formado por los valores obtenidos entre los 7 y 28 días después de la lesión (estado crónico).

El mismo estudio estadístico se realizó en los animales control y así mismo se compararon entre sí los registros basales de cada animal para conocer si había diferencias significativas entre ellos.

Se tomó un nivel de significación de p menor o igual a 0'05.

Conocidos los resultados electrofisiológicos de cada animal se correlacionaron con el tipo de lesión que presentaban.

Se intervinieron un total de 50 animales, de los cuales 30 se han considerado útiles para la experiencia, de los que se obtuvieron más de mil horas de registro con un total de 24.687 períodos de los distintos estados analizados.

Resultados

El estudio estadístico previo que se llevó entre los registros basales de cada animal para conocer si había cambios en el tiempo de permanencia por hora de registro en alguno de los estados considerados (vigilia, somnolencia, sueño lento y sueño paradójico) nos demostró que este parámetro del ciclo no se modificó en 17 de nuestros animales. Hubo en cambio animales (12) en los que las variaciones en este aspecto del ciclo vigilia-sueño alcanzó valores estadísticamente significativos en algún registro basal en comparación con los demás registros previos a la lesión. Ahora bien, como se puede observar en la figura 1, fueron variaciones aisladas que no presentaron una tendencia definida a producirse en alguna de las cuatro fases consideradas en nuestro estudio. Tomamos como punto de comparación los valores de cada estado en el conjunto de todos los registros basales de cada animal, aunque en alguno de ellos hubiera alguna variaciones estadísticamente significativa; de esta forma, quedaron mejor caracterizados los valores previos a la lesión, ya que estas modificaciones se produjeron espontáneamente, o al menos respondieron a factores no introducidos intencionalmente.

El comportamiento electrofisiológico de cada animal fue estudiado a lo largo del tiempo en que duró la experiencia. De esta forma dentro de nuestra casuística pudimos formar los siguientes grupos de animales de acuerdo a la respuesta obtenida en cronicidad (entre los 7 y 28 días después de realizada la lesión):

Grupo 1

Animales que no presentaron modificaciones estadísticamente significativas en el tiempo de permanencia en cada uno de los cuatro estados del ciclo vigilia-sueño. Este grupo comprendió 12 animales.

Grupo 2

Animales en los que en cronicidad sólo las variaciones de una fase alcanzaron valores estadísticamente significativos: 4 animales.

Grupo 3

Animales que en cronicidad presentaron modificaciones en su ciclo vigilia-sueño que afectaron al menos a dos fases.

GATO	v↑	s↑	sl↓	sp↓	v↓	s↓	sl↑	sp↑
BC-168								
BC-162								
BC-170								
BC-160								
BC-181								
BC-185								
BC-118								
BC-155								
BC-390								
BC-183								
BC-166								
BC-169								
BC-396								
BC-186								
BC-184								
BC-171								
BC-123								
BC-119								
BC-182								
BC-120								
BC-148								
BC-122								
BC-355								
BC-180								
BC-159								
BC-157								
BC-172								
BC-167								
BC-161								

Fig. 1. — Cuadro-resumen donde se exponen los resultados de comparar entre sí los distintos trazados basales (previos a la lesión) de cada animal. Las casillas rayadas corresponden a las variaciones estadísticamente significativas.

Por el signo de las modificaciones, este grupo se pudo, a su vez, dividir en tres subgrupos:

- A) Con aumento de vigilia y de somnolencia, acompañado de disminución de sueño lento y sueño paradójico: 8 animales.
- B) Con aumento de sueño lento y de sueño paradójico, acompañado de disminución de vigilia y de somnolencia: 4 animales.

C) Animales que presentaron características intermedias entre los grupos A y B: 2 animales.

En la figura 2 se expone la respuesta que se obtuvo en cada animal en cronicidad, así como las estructuras que quedaron afectadas por su lesión o la localización del electrodo profundo en los animales testigo.

	LESION													RESPUESTA EN CRONICIDAD													
	Int	V	SB	BP	CI	NBC	SCV	BC	Vest	STEG	FCT	MV	NBC _I	LC	SV	NB	RPC	v↑	s↑	sl↓	sp↓	v↓	s↓	sl↑	sp↑		
BC-166																											
BC-168																											
BC-162																											
BC-160																											
BC-161																											
BC-170																											
BC-181																											
BC-185																											
BC-118																											
BC-155																											
BC-390																											
BC-183																											
BC-386																											
BC-184																											
BC-186																											
BC-169																											
BC-171																											
BC-123																											
BC-119																											
BC-182																											
BC-120																											
BC-182																											
BC-124																											
BC-122																											
BC-148																											
BC-355																											
BC-166																											
BC-169																											
BC-396																											
BC-186																											
BC-184																											
BC-171																											
BC-123																											
BC-119																											
BC-182																											
BC-120																											
BC-148																											
BC-122																											
BC-355																											
BC-180																											
BC-159																											
BC-157																											
BC-172																											
BC-167																											
BC-161																											

Fig. 2. — Cuadro-resumen detallando las estructuras afectadas por la lesión en cada animal, así como los resultados obtenidos en cronicidad. Las casillas rayadas corresponden a las variaciones estadísticamente significativas. El número de triángulos negros es relativo al tamaño de la lesión. Los triángulos en blanco indican la localización del electrodo profundo en los animales testigo.

Abreviaturas: V, vigilia; S, somnolencia; SL, sueño lento; SP, sueño paradójico; Int., núcleo interpósito; V, vermis; SB, sustancia blanca cerebelosa; BP, brachium pontis; CI, colículo inferior; NBC_s, núcleos parabraquiales superiores; SCV, tracto espinocerebeloso ventral; BC, brachium conjunctivum; Vest., complejo vestibular; STEG, sustancia gris periacueductal; FCT, fascículo centrotectal; MV, tracto mesencefálico del nervio trigémino; NBC_I, núcleos parabraquiales inferiores; LC, locus coeruleus; SV, núcleo sensitivo del nervio trigémino; NB, núcleo de Barrington; RPC, núcleo reticular del puente caudal.

Del análisis del comportamiento electrofisiológico y del estudio histológico podemos observar que dentro de los grupos 1 y 2, donde no ha habido modificaciones estadísticamente significativas en el



ciclo vigilia-sueño que afectaran al tiempo de permanencia por hora de registro de los distintos estados (grupo 1) o bien donde la variación de una sola fase alcanzó niveles de significación estadística grupo 22), se encuentran animales con características histológicas muy diferentes.

En estos dos primeros grupos se encuentran los gatos, a los que sólo se les implantó electrodos superficiales de registro (BC-166) o con electrodo profundo sin paso de corriente (BC-161), o los que no se pudo observar lesión apreciable ya que se utilizaron intensidades muy bajas, no eficaces para la diatermocoagulación (BC-160, BC-162, BC-168, BC-169) (fig. 3). Llama la atención que precisamente entre estos dos grupos donde las variaciones del ciclo vigilia-

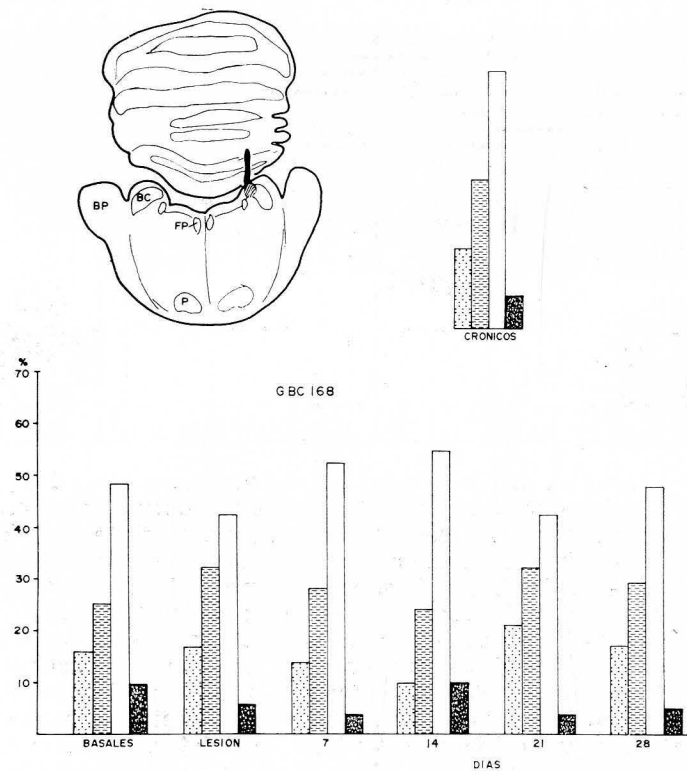


FIG. 3. — Situación del electrodo profundo en uno de los animales testigo y evolución de su ciclo vigilia-sueño a lo largo de la experiencia. Las variaciones en el ciclo vigilia-sueño con respecto a los trazados basales no alcanzaron valores estadísticamente significativos en los registros teóricamente postlesionales ni en el conjunto que correspondería al estado crónico (entre los 7 y 28 días). V, trazos punteados; S, trazos rayados; SL, en blanco; SP, en negro.

Abreviaturas: Las mismas que en la figura 2, y además, FP, fascículo longitudinal medial; P, haz piramidal.

sueño han sido mínimas y junto a estos animales nos encontramos reunidos a aquellos otros que han tenido las lesiones de mayor extensión (BC-183, BC-386, BC-184, BC-380, BC-186).

Las lesiones más amplias se han extendido rostralmente hasta la parte ventral del colículo inferior, afectando a los núcleos para-braquiales dorsales y al haz espinocerebeloso ventral (gato BC-386). Otros animales (BC-184, BC-183 y BC-380) han presentado lesiones afectando a la totalidad del pedúnculo cerebeloso superior, pero además se han extendido hacia atrás destruyendo los núcleos del complejo vestibular y a la sustancia blanca cerebelosa. En el tronco del encéfalo ventral al brachium conjunctivum, también han quedado afectados en los gatos BC-380 y BC-184 los núcleos para-

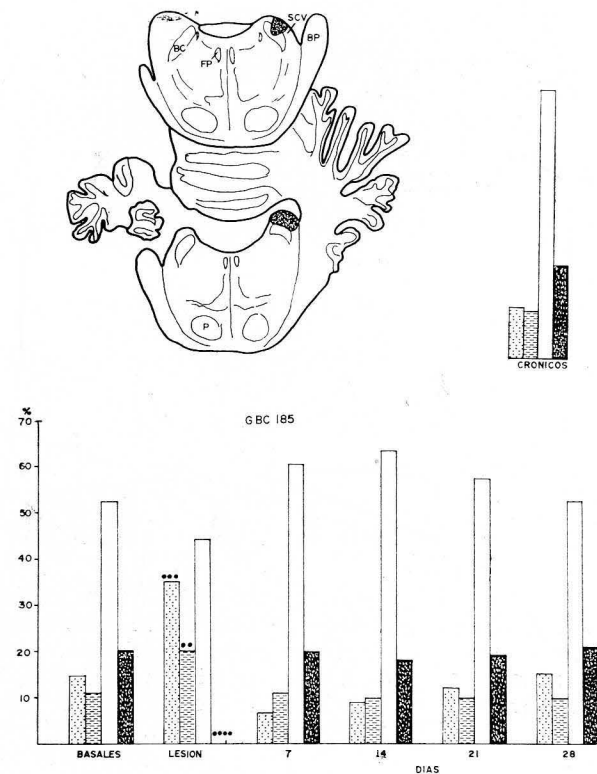


FIG. 4. — Lesión en el pedúnculo cerebeloso superior que respeta al haz del brachium conjunctivum. Evolución del ciclo vigilia-sueño en este animal. Nótese la estabilidad del ciclo en este caso; sólo el aumento de vigilia y de somnolencia y la ausencia de sueño paradójico en el primer registro postlesional alcanzaron valores estadísticamente significativos.

.. $P \leq 0.02$... $P \leq 0.01$ $P \leq 0.001$

Abreviaturas: Las mismas que en figuras anteriores.

braquiales y el polo posterior del locus coeruleus, así como el tracto mesencefálico y parte de los núcleos sensitivo y motor del trigémino.

El gato BC-186 (incluido en el grupo 2, puesto que presentó una disminución estadísticamente significativa de la somnolencia en cronicidad, atendiendo a las 8 primeras horas de sus registros, dis-

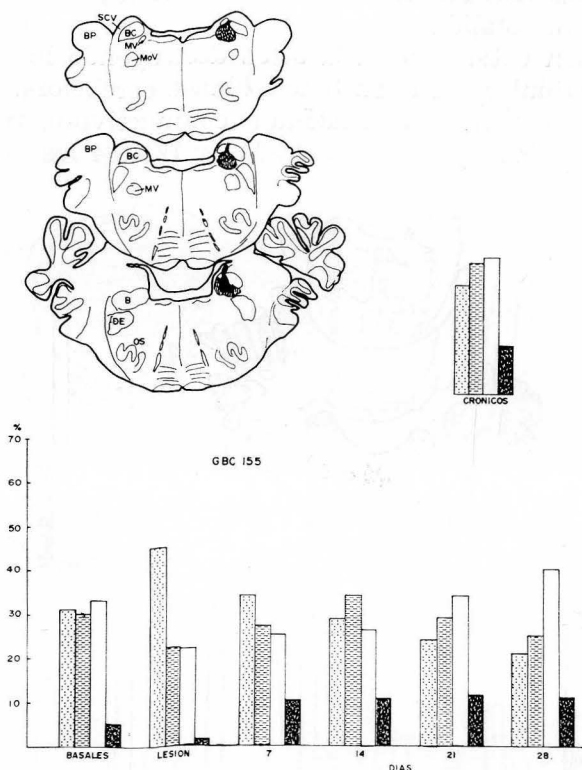


FIG. 5. — Lesión inmediatamente ventral al brachium conjunctivum. Evolución del ciclo vigilia-sueño en este animal. No hubo diferencias significativas a lo largo de la experiencia.

Abreviaturas: Las mismas de figuras anteriores, y además, MoV, núcleo motor del trigémino; B, núcleo de Bechterew; DE, núcleo de Deiters; OS, oliva superior.

minución que no alcanzó la significación estadística al considerar las 24 horas totales obtenidas en cada registro de este animal), presentó una lesión no tan amplia como los animales anteriores, puesto que no quedó afectada la sustancia blanca cerebelosa.

En el primer grupo nos encontramos también a animales que han presentado lesiones que respetando casi la totalidad del brachium conjunctivum, han afectado bastante selectivamente a es-

estructuras situadas dorsal o ventralmente a él; es el caso de las lesiones del haz espinocerebeloso ventral y del fascículo uncinatus de Russel en los gatos BC-185 y BC-181 (fig. 4), o de la lesión de los núcleos parabraquiales ventrales y el polo posterior del locus coeruleus y parte rostral del núcleo de Bechterew del animal BC-155 (fig. 5), o de la lesión que afecta a parte de la sustancia gris periacueductal o al fascículo centrotegmental del gato BC-118.

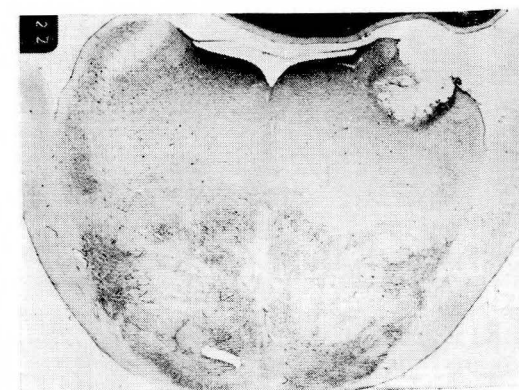


FIG. 6. — Microfotografía de la lesión en el pedúnculo cerebeloso superior de uno de nuestros animales (BC-120).

Por último está incluido en el primer grupo, sin presentar variaciones estadísticamente significativas en cronicidad, un animal, el BC-170, que tuvo modificaciones altamente significativas al aumentar la vigilia y la somnolencia, disminuir el sueño lento y desaparecer el sueño paradójico en las 8 horas de registro inmediatamente después de producir la lesión. Este animal presentó una pequeñísima lesión en el tercio intermedio del brachium conjunctivum.

Los animales del grupo 3A, que en cronicidad presentaron un aumento de vigilia y de somnolencia con disminución de sueño lento y de sueño paradójico (fig. 7). La mayoría de estos animales tienen como característica histológica común la lesión de gran parte o de la totalidad del brachium conjunctivum izquierdo (gatos BC-182, BC-171, BC-12, BC-119, BC-120) (fig. 6). En uno de estos animales también han quedado afectados por la lesión los núcleos parabraquiales ventrales, el polo posterior del locus coeruleus y el tracto mesencefálico del trigémino (BC-123, BC-120, BC-119, BC-182). El polo rostral del núcleo de Bechterew se lesionó en los ga-

tos BC-120, BC-119 y BC-182. El haz espinocerebeloso ventral quedó lesionado junto con el brachium conjunctivum en los animales BC-182 y BC-120.

La lesión de los gatos BC-120 y BC-119 también afectó al núcleo sensitivo principal del trigémino y en el animal BC-120 también quedó afectado el núcleo motor del trigémino.

Estos animales presentaron degeneración retrógrada en los núcleos interpósito y lateral homolaterales a la lesión y en el polo posterior del fastigio contralateral (fig. 8).

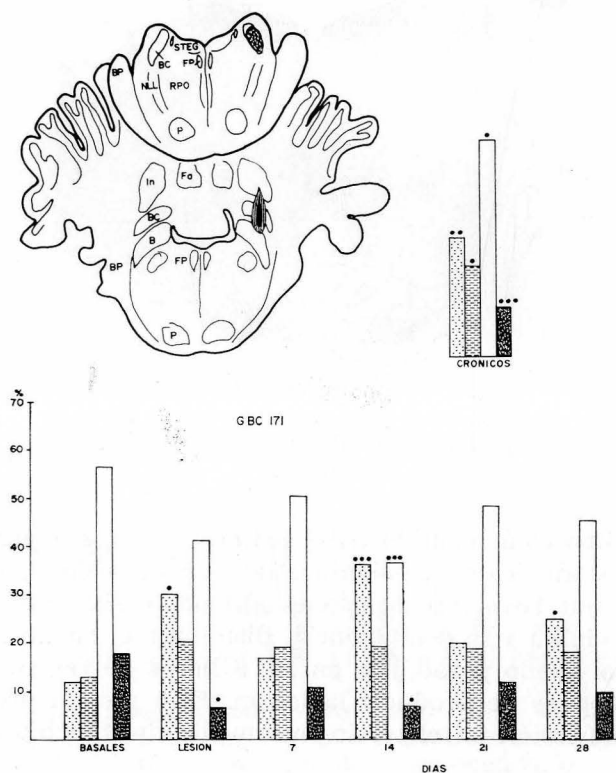


FIG. 7. — Lesión que afecta prácticamente a la totalidad del brachium conjunctivum. Evolución del ciclo vigilia-sueño en este animal. Nótese que a partir del primer registro postlesional los valores de V y S están notablemente aumentados con respecto a los valores de los registros basales, mientras que hay disminución de SL y SP. Aunque estas variaciones no alcanzan valores estadísticamente significativo en algún registro postlesional, los cambios son estadísticamente significativos en el conjunto de los valores correspondientes al estado crónico.

Abreviaturas: Las mismas que en las figuras anteriores, y además, Fa, núcleo fastigio; NLL, núcleo del lemnisco lateral; RPO, núcleo reticular oral del puente.

Los gatos BC-124, BC-148 y BC-122 también dieron modificaciones estadísticamente significativas en cronicidad en la misma línea que los anteriores. Sin embargo la evolución de su ciclo vigilia-sueño a lo largo de las distintas semanas de registro fue diferente. En los animales con lesión del brachium conjunctivum, las modificaciones se alcanzan a partir del primer registro postlesional y por lo general o se mantienen o se observa una tendencia a volver a los valores basales a medida que transcurre el tiempo (fig. 7). Por el contrario, en el gato BC-122 con una pequeñísima lesión en formación reticular del puente (núcleo detrusor de Barrington),

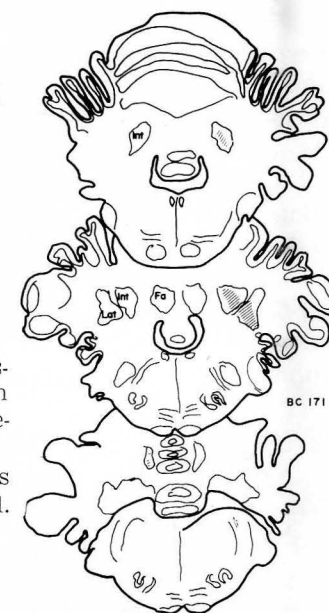


FIG. 8. — Esquemas de cortes sucesivos mostrando la localización de la degeneración retrógrada en los núcleos profundos del cerebelo del animal anterior.

Abreviaturas: Las mismas que en figuras anteriores, y además, Lat, núcleo lateral.

los cambios estadísticamente significativos se obtienen a partir de los 14 días de haber realizado la lesión y tienden a acentuarse en las semanas siguientes. En el gato BC-148 con una lesión muy amplia que afectó a la totalidad de los núcleos vestibulares, núcleo y tracto espinal del trigémino, rodilla del séptimo par y núcleo reticular del puente, se observó un comportamiento muy irregular de cada una de las fases del ciclo a lo largo de las semanas de traza-postlesionales. En el gato BC-124 con una lesión que afecta a la parte lateral del haz espinocerebeloso ventral y a una pequeña porción del brachium pontis, la variación más constante la dio la somnolencia, que aumentó significativamente a partir de la semana siguiente de producirse la lesión; la disminución de sueño lento, que es estadísticamente significativa en cronicidad, no presentó va-

lores significativos en cada uno de los registros postlesionales considerados individualmente.

El grupo 3B corresponde a aquellos animales que en cronicidad presentaron modificaciones de signo contrario a los del grupo anterior, esto es, en ellos se registró un aumento de sueño lento y de sueño paradójico con disminución de vigilia y de somnolencia. Características comunes a las lesiones de los gatos BC-159, BC-355,

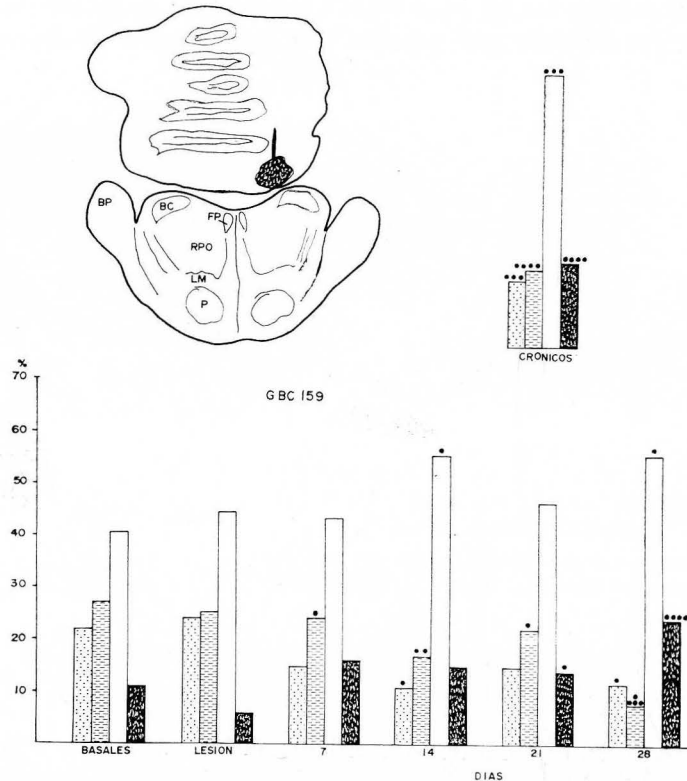


FIG. 9. — Esquema de una de las lesiones localizadas en la corteza cerebelosa del vermis y sustancia blanca subyacente que produjo variaciones en el ciclo vigilia sueño de signo contrario a los que mostraron las lesiones más selectivas del brachium conjunctivum.

Abreviaturas: Las mismas que en las figuras anteriores, y además, LM, lemnisco medial.

BC-180 y BC-157 de este grupo, son que todas ellas estuvieron situadas por encima del tronco del encéfalo y afectaron a la corteza cerebelosa del vermis (fig. 9). En el animal BC-355 la lesión se extendió en sentido posterior, afectando a la sustancia blanca subyacente y rozó ligeramente la parte más medial del brachium con-

conjunctivum izquierdo. En estos animales los cambios en su ciclo vigilia-sueño se registraron especialmente a partir de los 14 días después de haber realizado la lesión (fig. 9).

Los animales BC-172 y BC-167 (grupo 3C) presentaron modificaciones estadísticamente significativas en su ciclo vigilia-sueño que participaron de los grupos anteriores (3A y 3B). El gato BC-172 que experimentó un aumento de sueño lento y disminución de sueño paradójico estadísticamente significativos, presentó una ligerísima lesión en el centro del brachium conjunctivum, pero se observó que el electrodo profundo siguió un trayecto netamente diferente al del resto de los animales, dejando una profunda huella en el cerebelo durante su trayecto.

El animal BC-167 fue un animal testigo, puesto que no se realizó diatermocoagulación a través de su electrodo profundo, registró un aumento de vigilia con disminución de somnolencia en cronicidad, pero estos cambios se dieron fundamentalmente gracias al registro que teóricamente correspondería al tercero postlesional.

El electrodo estaba situado en el polo medial del brachium conjunctivum, rozando ligeramente al núcleo de Bechterew.

Por otra parte, los resultados obtenidos de los animales con 224 horas de registro (BC-181, BC-182, BC-183, BC-184, BC-185 y BC-186) fueron paralelos y en ningún caso contradictorios a los resultados obtenidos en estos mismos animales considerando las ocho primeras horas de sus registros.

Discusión

Los hallazgos que acabamos de exponer hablan a favor de que la participación del cerebelo en el ciclo vigilia-sueño no se hace única y exclusivamente a través de sus proyecciones fastigiales como sugieren GIANNAZZO y col. (1969) y RAFFAELE y col. (1971).

Hemos podido comprobar que la lesión unilateral del brachium conjunctivum, cuando no está asociada a la de otras formaciones cerebelosas tales como corteza vermal o sustancia blanca subyacente a los núcleos profundos, determina alteraciones significativas en el ciclo vigilia-sueño. Estas alteraciones han sido de signo opuesto a las presentadas por los animales que han sufrido lesión de la corteza vermal y sustancia blanca subyacente.

Nuestro trabajo se inscribe en la línea de utilizar animales con electrodos crónicos implantados, la observación prolongada con registros de EEG, EOG y la producción de lesiones lo más selectivas posibles.

Merecen comentario estos aspectos de la técnica empleada puesto que la participación de las distintas estructuras encefálicas en

el ciclo vigilia-sueño se puede poner de manifiesto mediante técnicas de estimulación o destrucción de las mismas.

Como ya señalaba JOUVET (1967), quizás sean demasiadas las estructuras encefálicas con capacidad hipnagógica que se hayan puesto de manifiesto con las técnicas de estimulación. Recordemos que estas técnicas presentan muchos inconvenientes, tales como la obtención de respuestas distintas según sea la frecuencia empleada, o la incertidumbre de conocer si tras la estimulación han respondido sólo y exclusivamente las estructuras en contacto con el electrodo, o la imposibilidad de poder contar con el experimento crónico.

Por el contrario, las lesiones permiten recoger la información del comportamiento seguido en estado agudo, como la constancia de los resultados en estado crónico. Por otra parte, se pueden establecer estudios histológicos cuidadosos y precisos de las estructuras que de hecho han sido afectadas.

La producción de pequeñas lesiones por diatermocoagulación de las proyecciones de una determinada estructura supone (REINOSO-SUÁREZ, 1974) el eliminar su influencia sin necesidad de la ablación de la misma; de esta forma queda superado el riesgo de que las posibles modificaciones sean producidas por causas ajenas a la lesión misma, tales como el stress operatorio, hemorragias, dolor o pérdida de líquido cefalorraquídeo; circunstancia esta última que como pusieron de manifiesto MASSION y col. (1965) al tratar precisamente de ablaciones cerebelosas, es por sí sola condicionante de cambios en el EEG.

Nuestras lesiones se han realizado gracias al electrodo profundo que se había insertado semanas antes en el acto operatorio y por diatermocoagulación a alta frecuencia, de esta forma los efectos acompañantes son prácticamente nulos. Además, aquellos animales en los que tras el examen de cortes histológicos se observó que como consecuencia de la introducción del electrodo habían sufrido hemorragia en el cerebelo, los desechamos del estudio.

Las lesiones han sido en todos los casos unilaterales, debido al hecho de que si en la práctica es muy difícil conseguir dos lesiones exactamente simétricas y que afecten a las mismas estructuras, en nuestro caso es casi imposible debido a su pequeño tamaño, ya milímetro de grosor en el gato. El hecho de que estuviéramos lesionando en una zona conflictiva y problemática en su significado respecto al sueño y a la vigilia, nos decidió a hacer este tipo de lesiones para evitar el riesgo de contar con lesiones que en uno u otro lado afectaran a estructuras distintas.

Como base de nuestro estudio hemos considerado los trazados poligráficos de las 8 horas, comprendidas entre las 10 de la mañana

y las 6 de la tarde. Estas horas coinciden con el tiempo de toma de registros de otros autores en experiencias similares (GIANNAZZO y col., 1969; RAFFAELE y col., 1971). En este plazo de 8 horas, el gato realiza varios ciclos completos de sueño (STERMAN y col., 1965; LUCAS y STERMAN, 1974). Por otra parte, dentro de nuestra casuística, los resultados obtenidos en los animales con 24 horas de registro son paralelos a los resultados obtenidos en estos mismos animales en las ocho primeras horas de sus registros.

Dentro de los registros basales hemos observado una notable variabilidad en el tiempo de permanencia en una fase u otra del ciclo de unos animales a otros; este hecho también ha sido descrito por diversos autores que han estudiado el ciclo-vigilia-sueño en gatos intactos (DELORME y col., 1964; STERMAN y col., 1965; URSIN, 1968; LUCAS y STERMAN, 1974).

Esporádicamente los animales testigo que en unos casos sólo presentaban la lesión debida a la introducción del electrodo y en otros casos no fue observada lesión apreciable en la región objeto de estudio, ya que se utilizaron intensidades muy bajas, no eficaces para la diatermocoagulación, tuvieron modificaciones estadísticamente significativas en alguno de sus registros teóricamente post-lesionales en distintas fases del ciclo. Esta circunstancia también fue observada al realizar el estudio estadístico entre los registros basales de cada animal. No obstante, ni en un caso ni en otro, las variaciones afectaron sistemáticamente a alguna fase del ciclo determinada. Por otra parte, la estabilidad de los animales testigo en el parámetro del ciclo vigilia-sueño considerado en nuestro estudio queda demostrada en el momento que las variaciones en la mayoría de los animales no alcanzaron niveles de significación estadística en el conjunto de registros que corresponderían al estado crónico; sólo en dos de nuestros animales testigo observamos una disminución estadísticamente significativa de vigilia (BC-169) y un aumento de este tamaño acompañado de disminución en la somnolencia (BC-167) en cronicidad.

Hemos podido observar de acuerdo con JOUVET (1962) que los animales con lesiones en relación con formaciones cerebelosas presentan todas las fases del ciclo vigilia-sueño, pero no obstante, tras estas lesiones se han producido importantes variaciones cuantitativas en relación con el tiempo total de permanencia en cada fase del ciclo.

Las lesiones que han afectado al brachium conjunctivum respetando otras formaciones cerebelosas, tales como la corteza vermal o la sustancia blanca subyacente a los núcleos profundos, han dado lugar a un aumento significativo de la vigilia y de la somnolencia acompañado de disminución en el tiempo de permanencia

en sueño lento y sueño paradójico. Estos cambios se han producido inmediatamente después de elevar a cabo la lesión y se han mantenido a lo largo de la experiencia, aunque en alguno de nuestros animales se observó una tendencia a volver a los valores de los registros basales a los 28 días después de haber practicado la lesión (5.º registro postlesional).

Por el contrario, las lesiones que han afectado a la corteza cerebelosa del vermis y a la sustancia blanca subyacente, respetando el pedúnculo cerebeloso superior, dieron lugar al fenómeno contrario: aumentó el tiempo de permanencia en sueño lento y en sueño paradójico y disminuyó el tiempo de permanencia en vigilia y en somnolencia. Estos cambios se observaron a partir de las dos semanas de haberse producido la lesión y se acentuaron con el transcurso del tiempo.

Concomitantemente junto con el brachium conjunctivum en la mayoría de los animales que presentaron modificaciones estadísticamente significativas en su ciclo vigilia-sueño, quedaron destruidos la totalidad del pedúnculo cerebeloso superior y otras estructuras vecinas del tronco del encéfalo. Sin embargo, creemos que las modificaciones encontradas deben atribuirse a la interrupción de las proyecciones del cerebelo a través del brachium conjunctivum, puesto que a pesar de ser distintas las estructuras asociadas a su lesión en unos animales y en otros, en cada uno de ellos se manifestaron los cambios señalados anteriormente. Por otra parte, en los animales en los que sólo se lesionó la parte dorsal del pedúnculo cerebeloso superior y por lo tanto al haz espinocerebeloso ventral, no se observaron modificaciones estadísticamente significativas en cronicidad en su ciclo vigilia-sueño y esta circunstancia también se dio en aquellos otros animales cuyas lesiones, sin afectar al brachium conjunctivum, quedaron restringidas a formaciones vecinas ventrales o posteriores a él (núcleos parabraquiales, formaciones subcoeruleas, sustancia gris periacueductal, tracto mesencefálico del trigémino, núcleo de Bechterew).

En todos los animales con lesión del brachium conjunctivum hemos observado degeneración retrógrada en los núcleos lateral e interpósito homolaterales a la lesión y en el polo posterior del fastigio contralateral. Nuestras lesiones, además de afectar a las eferencias de aquellos núcleos, han interrumpido al fascículo uncinatus de Russel, haz de fibras que cruzándose en el cerebelo proceden de la parte posterior del núcleo fastigio y una de sus ramas sale al tronco del encéfalo cabalgando sobre las fibras del brachium conjunctivum propiamente dicho (LAGO, 1975).

GIANNAZZO y col. (1969) se basan en afirmar que la influencia del cerebelo en el ciclo vigilia-sueño se hace solamente a través de

formaciones paleocerebelosas por el hecho de que en un animal practicarán la lesión unilateral del núcleo dentado y no observarán cambios en su ciclo. No obstante, además de la destrucción del núcleo dentado, destruyeron la corteza cerebelosa vermal y sustancia blanca subyacente. Es posible que en este animal se dieran efectos compensatorios, puesto que según nos demuestra el estudio estadístico, nuestros animales con lesión en corteza cerebelosa y sustancia blanca subyacente se dan las variaciones opuestas a la lesión del brachium conjunctivum. Por otra parte, dentro de nuestra casuística, los animales con lesiones extensas que han afectado al brachium conjunctivum y a la sustancia blanca cerebelosa no han presentado modificaciones estadísticamente significativas en el tiempo total de permanencia en cada fase tras la lesión o éstas han sido mínimas. (RAFFAELE y col., 1971, demuestran que tras las lesiones de las principales aferencias del cerebelo, esto es, del brachium pontis, se seguía una tendencia a aumentar el sueño lento y disminuir la vigilia.)

Los hallazgos tras las lesiones del brachium conjunctivum confirman los de CAMACHO EVANGELISTA (1962) y CAMACHO EVANGELISTA y REINOSO-SUÁREZ (1964), quienes tras lesiones uni y bilaterales en esta misma estructura encontraron un aumento de activación en el EEG y por tanto sugirieron que las formaciones neocerebelosas tenían una influencia sincronizadora sobre el electroencefalograma. Estas influencias sincronizadoras del cerebelo a través del brachium conjunctivum afectan a las manifestaciones del EEG sincronizado de sueño lento, ya que hemos observado que tras esta lesión se sigue una notable reducción en el tiempo de permanencia en este estado. Sin embargo, el tiempo de permanencia en somnolencia aumenta.

En nuestro estudio cuantitativo de las fases del ciclo vigilia-sueño, tras lesiones en relación con formaciones cerebelosas, hemos individualizado la fase de somnolencia de la fase de sueño lento, hecho que no fue realizado por GIANNAZZO y col. (1969) ni RAFFAELE y col. (1971). Sin embargo, la fase de somnolencia tiene características que la hacen merecer ser considerada en los estudios cuantitativos separada del sueño lento, ya que, comportalmente, corresponde a un estado de vigilia relajado (STERMAN y col., 1965; LUCAS y STERMAN, 1975), tiene características bioeléctricas propias (HESS y col., 1953) y por otra parte, el tálamo (núcleos específicos e inespecíficos) es necesario para las manifestaciones bioeléctricas de esta fase (DEMPSEY y MORISON, 1942; ANGELERI y col., 1969; VILLABLANCA y SALINAS-ZEBALLOS, 1972).

Es interesante destacar que tanto en nuestros animales con lesión del brachium conjunctivum como en los que presentaron lesión

en corteza cerebelosa, hemos observado una disociación constante entre el curso seguido por la fase de somnolencia y por el sueño lento. Esta disociación también se manifestó tras lesiones en el lemnisco medio y en el lemnisco lateral (ANDRÉS y col., 1975). Por su parte, VILLABLANCA (1972) observó una notable reducción de sueño lento sin que fuera acompañado de modificaciones en la somnolencia en gatos en los que se había extirpado la corteza cerebral y el estriado. Estos hechos parecen señalar la existencia de dos sistemas diferentes para la regulación del sueño lento y de la somnolencia (ANDRÉS y col., 1975).

Recientemente ELLIOT y STERMAN (1975) han demostrado que las características bioeléctricas de la somnolencia no varían de forma cualitativa tras lesiones en el núcleo dentado y en el lemnisco medio. Sin embargo, nuestro estudio cuantitativo crónico tras lesiones en el brachium conjunctivum nos ha demostrado que se da un aumento estadísticamente significativo en el tiempo de permanencia en este estado. Estos hechos parecen indicar que la ausencia de impulsos excitatorios de las dos principales vías aferentes a tálamo, representarían un fenómeno de disfacilitación y por tanto de potenciación de la acción de las interneuronas talámicas que producen fuertes procesos inhibitorios sobre las células de relay durante la fase de somnolencia (BREMER, 1970; STERIADE, y col., 1971).

Contrasta la persistencia de las modificaciones seguidas en el ciclo vigilia-sueño tras las lesiones en relación con formaciones cerebelosas que se mantienen al cabo de un mes, con la rápida recuperación (una semana o a lo sumo dos) de los trastornos motores ocasionados por las mismas.

Nuestros hallazgos permiten confirmar la hipótesis de que la influencia del cerebelo en el ciclo vigilia-sueño no se ejerce única exclusivamente a través de la actuación de formaciones fastigiales. Por otra parte, existen resultados que sugieren el diferente significado funcional —ya demostrado para otros aspectos de la fisiología del cerebelo (ECCLES y col., 1967)— de la corteza y de los núcleos profundos cerebelosos en su participación en los mecanismos responsables de los estados de vigilia y de sueño.

El cerebelo a través de sus amplias conexiones con tálamo y formación reticular (LAGO, 1975) ejercería una acción tónica que ayudaría a mantener el equilibrio entre los sistemas hipnogénicos y de vigilancia. La ausencia de impulsos de origen cerebeloso, como en el caso de nuestras lesiones —aunque sólo sean unilaterales— del brachium conjunctivum o la modificación de sus impulsos eferentes por lesiones de la corteza cerebelosa, serían factores suficientes para alterar de distinta forma el equilibrio entre las fases del ciclo vigilia-sueño presente en el animal intacto.

Resumen y conclusiones

Con el fin de estudiar la influencia del cerebelo a través de sus conexiones por el brachium conjunctivum en el ciclo vigilia-sueño, se ha llevado a cabo un análisis estadístico de las variaciones presentadas en las fases de este ciclo en gatos adultos que han sufrido lesiones estereotáxicas en el pedúnculo cerebeloso superior y/o formaciones cerebelosas y troncoencefálicas vecinas.

En 30 animales que llevaban electrodos crónicos implantados para registro simultáneo de EEG, EMG de la musculatura de la nuca y EOG, se tomaron con intervalos semanales 3 registros previos a la producción de la lesión y otros 5 postlesionales. La duración de los registros fue en unos casos de 8 horas y en otros de 24. Todos ellos se llevaron a cabo en las mismas condiciones ambientales: el gato permanecía libre dentro de una cámara insonorizada aislada eléctricamente en oscuridad absoluta con agua y comida.

Los registros se midieron de acuerdo a los patrones poligráficos de los estados de vigilia, somnolencia, sueño lento y sueño paradójico y mediante el estadístico *t*, en cada animal. Se comparó el tiempo de permanencia por hora de registro en los distintos estados, en cada uno de los registros postlesionales en el conjunto de valores correspondientes al estado crónico (entre los 7 y 28 días después de haber realizado la lesión), en relación con los valores de este parámetro del ciclo vigilia-sueño alcanzado en el conjunto de los registros basales. Se han considerado sólo las variaciones estadísticamente significativas con un valor de *p* menor o igual a 0'05.

Los resultados del presente estudio nos han permitido llegar a las siguientes conclusiones:

1.º No hemos encontrado resultados contradictorios entre los registros de 8 y de 24 horas.

2.º Los animales utilizados como testigo han presentado una notable estabilidad en el ciclo vigilia-sueño a lo largo de la experiencia.

3.º Las lesiones unilaterales que han afectado a formaciones parabraquiales, coeruleas y subcoeruleas y a la sustancia gris periacueductal, no han dado lugar a modificaciones significativas en el parámetro del ciclo vigilia-sueño considerado.

4.º Las lesiones unilaterales dorsales del pedúnculo cerebeloso superior y que por tanto han afectado fundamentalmente al fascículo uncinatus de Russel y al haz espinocerebeloso ventral, no han dado lugar a modificaciones estadísticamente significativas que

afectasen al tiempo total de permanencia en cada fase del ciclo en cronicidad.

5.° Las lesiones unilaterales del brachium conjunctivum cuando no han estado asociadas a otras formaciones cerebelosas tales como la corteza vermal o la sustancia blanca subyacente a los núcleos profundos han dado lugar a un aumento estadísticamente significativo en el tiempo total de permanencia en las fases de vigilia y de somnolencia. El sueño lento y el sueño paradójico disminuyen respectivamente.

6.° Los cambios tras las lesiones del brachium conjunctivum se han manifestado inmediatamente después de producir la lesión. Sin embargo en algunos casos se observa una tendencia a volver a los valores basales en los últimos registros postlesionales (28 días).

7.° Las lesiones en la corteza cerebelosa vermal y sustancia blanca subyacente han dado lugar a modificaciones de signo opuesto en el ciclo vigilia-sueño, registrándose un aumento en el tiempo total de permanencia en los estados de sueño lento y sueño paradójico acompañado de disminución en vigilia y en somnolencia.

8.° Los cambios en el ciclo vigilia-sueño tras las lesiones en la corteza cerebelosa se han manifestado fundamentalmente a partir de las dos semanas de haber producido la lesión y tienden a acentuarse en el transcurso del tiempo.

9.° Las lesiones más amplias que han afectado simultáneamente al pedúnculo cerebeloso superior, a la corteza vermal y a la sustancia blanca subyacente no han dado lugar a modificaciones estadísticamente significativas en el ciclo vigilia-sueño en cronicidad.

10.° Se ha puesto por tanto de manifiesto la participación del cerebelo a través de sus proyecciones por el brachium conjunctivum en la regulación de los estados de vigilia y de sueño. La influencia a través de esta vía sería de naturaleza hipnogénica. Por otra parte existen resultados que parecen sugerir el distinto significado funcional en este aspecto básico del comportamiento de la corteza cerebelosa.

Summary

The subject of this study was a quantitative analysis of the chronic modifications of sleep-wakefulness cycle after lesions in the tractus brachium conjunctivum and/or other neighbouring cerebellar and brain stem structures. Experiments involved thirty adult cats with implanted electrodes for EEG, EMG and EOG recording. At weekly intervals, three control recordings before, as well as five after producing the lesion, were taken from each animal. During the recording sessions (lasting in some cats eight hours, in others twenty four) the animals remained free, under the

same identical experimental conditions: in a dark acoustically isolated chamber with food and water. Differences between the pre- and postlesional means-hourly values of wakefulness, drowsiness, slow sleep and paradoxical sleep were checked for their statistical significance.

In a chronic state the unilateral lesions in the dorsal part of superior cerebellar peduncle produced no modifications on sleep-wakefulness cycle. These lesions destroyed the ventral spinocerebellar tract and Russel's uncinate fascicle. No modifications were observed also, when the lesions were located ventrally to the tractus brachium conjunctivum, and they damaged the locus coeruleus and subcoeruleus, parabrachial formations, periaqueductal grey matter and rostral part of vestibular complex.

The unilateral lesions of tractus brachium conjunctivum if they were not associated with other cerebellar structures such as vermal cortex or underlying white matter, produced an increase of wakefulness and drowsiness and a decrease of slow sleep and paradoxical sleep. On the contrary, small lesions located on the vermal cortex and underlying white matter gave rise to an increase of slow sleep and paradoxical sleep with a decrease of wakefulness and drowsiness.

The cerebellum may, therefore, exert hypnogenic influences on sleep-wakefulness cycle through their brachium conjunctivum connexions. On the other hand, results suggest a different functional significance of the cerebellar cortex regulating the sleep-wakefulness cycle.

Zusammenfassung

Ein statistisches Studium der Veränderungen des Wach-Schlaf Zyklus ist an Katzen vorgenommen worden, nach einseitigen Verletzungen im Brachium Conjunctivum und/oder in benachbarten Kleinhirn- oder Hirnstammstrukturen zugefügt wurden.

Nach Ausschaltung des B.C. einer Seite, ergab eine Verlängerung des Wach- und Somnolenz Zustands mit Abnahme des langsamen und paradoxalen Schlafes.

Nach Kleinen Verletzungen in der vermalen Kleinhirnrinde und darunterliegenden weissen Substanz des Lobulus anterior zeigte sich eine Zunahme des langsamen und paradoxalen Schlafes und eine Abnahme des Wach- und Somnolenz Zustands.

Das Kleinhirn vermag insofern hypnogenen Einfluss zu üben mittels seiner Verbindungen durch den B.C. Diese Ergebnisse, zeigten andererseits den andersartigen funktionellen Einfluss der Kleinhirnrinde in der Regelung des Wach- Schlaf Zyklus.

Résumé

On a réalisé une analyse statistique des modifications du cycle veille-sommeil chez des chats ayant souffert des lésions unilatérales dans le brachium conjunctivum et/ou structures cérébelleuses et du tronc cérébral voisines.

Les lésions du brachium conjunctivum que n'étaient pas associées à celles d'autres structures cérébelleuses telles que l'écorce vermale ou substance blanche sous-jacente, ont produit, en chronicité, une augmentation de veille et somnolence et une diminution de sommeil lent et sommeil paradoxal.

Des petites lésions localisées dans l'écorce cérébelleuse vermiennne et substance blanche susjacent, du lobe antérieur, ont produit modifications de signe contraire, c'est à dire, une augmentation de sommeil lente et paradoxal et une diminution de veille et somnolence.

Le cervelet, donc, peut influer de façon hypnogénique à travers ses connexions du brachium conjunctivum. D'ailleurs, il y a des résultats que semblent indiquer la différente signification fonctionnelle de l'écorce cérébelleuse en la régulation du cycle veille-sommeil.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDRÉS, I. DE, E. GUTIÉRREZ-RIVAS y F. REINOSO-SUÁREZ (1975): Modifications of the sleep-wakefulness cycle after lesions at the level of oral pontine tegmentum and superior cerebellar Peduncle. In: Sleep, 1974. Tnd Europ. Congr. Sleep Res., Rome 1974, pp. 235-238. Ed. Karger, Basel.
- , B. E. NANA, E. GUTIÉRREZ-RIVAS y F. REINOSO-SUÁREZ (1975): Comparative study of sleep-wakefulness cycle between a dog's implanted head and its receptor. In: Sleep Research 4, pp. 26. Ed. The Brain Inf. Serv. Univ. California. Los Angeles.
- , E. GUTIÉRREZ-RIVAS, E. NAVA y F. REINOSO-SUÁREZ (1976): Independence of sleep-wakefulness cycle in an implanted head «Encephale isolé». Neurosci. Letters (en prensa).
- ANGELERI, F., G. F. MARCHESI and A. QUATRINI (1969): Effects of chronic thalamic lesions on the electrical activity of the neocortex and on sleep. «Arch. ital. Biol. », **107**, 633-667.
- ARDUINI, A., and T. HIRAO (1959): On the mechanism of EEG sleep patterns elicited by acute visual deafferentation. «Arch. ital. Biol.», **97**, 140-155.
- BATINI, C., F. MAGNI, M. PALESTINI, G. F. ROSSI and A. ZANCHETTI (1959): Effects of complete pontine transections on the sleep-wakefulness rhythm: the midpontine pretrigeminal preparation. «Arch. ital. Biol.», **97**, 1-12.
- BERGER, H. (1932): Das Elektkephalogramm des Menschen und seine Bedeutung fur die Psychophysiologie. «Ztschr. f. Psychol.», **126**, 1-13.
- BERLUCCHI, G., L. MAFFEI, G. MORUZZI and P. STRATA (1964): EEG and behavioral effects elicited by cooling of medulla pons. «Arch. ital. Biol.», **102**, 372-392.
- BREMER, F. (1935): Cerveau isolé et physiologie du sommeil. «C. R. Soc. Biol. Paris», **118**, 1235-1242.
- (1970): Inhibitions intrathalamiques récurrentielles et physiologie du sommeil. «EEG clin. Neurophysiol.», **28**, 1-16.
- CAMACHO-EVANGELISTA, A. (1962): Modificaciones del electrocorticograma tras coagulaciones uni y bilaterales en el pedúnculo cerebeloso superior. «An. Anat.», **11**, 1-43.
- y F. REINOSO-SUÁREZ (1964): Activating and synchronizing centers in cat brain: Electroencephalograms after lesions. «Science», **146**, 268-270.
- (1965): Effects on EEG of lesions in the tractus brachium conjunctivum (TBC). Proc. 6th. Internat. Cong. of Electroencephalog. and clin. Neurophysiol., pp. 467-470. Ed. Wiener Med. Akademie, Vienna.
- CLEMENTE, C. D., and M. B. STERMAN (1963): Cortical synchronization and sleep patterns in acute restrained and chronic behaving cats induced by basal forebrain stimulation. «EEG Clin. Neurophysiol.», supp. **24**, 172-187.
- CREPAX, P., e E. FADIGA (1956): La stimolazione chimica della corteccia cerebellare. «Arch. di Sc. Biol.», **40**, 66-80.
- DELORME, F., P. VIMONT et D. JOUVET (1964): Etude statistique du cycle veille-sommeil chez le cat. «C. R. Soc. Biol. Paris», **158**, 2128-2130.
- DEMENT, W. (1958): The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. «EEG Clin. Neurophysiol.», **10**, 291-296.
- and N. KLEITMAN (1957): Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility and dreaming. «EEG Clin Neurohpsiol.», **9**, 673-690.
- DEMPSEY, E. W., and R. S. MORISON (1942): The production of rhythmically recurrent cortical potentials after localized thalamic stimulations. «Amer. J. Physiol.», **135**, 293-300.
- ECCLES, J. C., M. ITO and J. SZENTAGOTHAÏ (1967): The cerebellum as a neuronal machine. Ed. Springer-Verlag. Berlín, Heidelberg, New York.
- ELLIOTT, R., and M. B. STERMAN (1975): Effects of lemniscal and dentate lesions on sensorimotor EEG rhythms in the cat. «Anat. Record.», **181**, 352.
- GIANNAZZO, E., T. MANZONI, R. RAFFAELE, S. SAPIENZA and A. URBANO (1969): Effects of chronic fastigial lesions on the sleep-wakefulness rhythm in the cat. «Arch. ital. Biol.», **107**, 1-18.
- GONZALO SANZ, L. M. (1954): Aportaciones al estudio de la influencia cerebelosa en la actividad bioeléctrica del encéfalo. «An. Anat.», **5**, 275-296.
- GUGLIELMINO, S., and P. STRATA (1971): Cerebellum and atonia of desynchronized phase of sleep. «Arch. ital. Biol.», **109**, 210-217.
- HESS, W. R. (1944): Das Schlafsyndrom als Folge Dienzephaler Reizung. «Helv. Physiol. Acta», **2**, 305-344.
- HESS, R. Jr., W. P. KOELLA and K. AKERT (1953): Cortical and subcortical recordings in natural and artificially induced sleep in cats. «EEG Clin. Neurophysiol.», **5**, 75-90.
- HERNÁNDEZ PEÓN, R., y G. CHÁVEZ IBARRA (1963): Sleep induced by electrical or chemical stimulation of the forebrain. «EEG Clin. Neurophysiol.», suppl. **24**, 188-198.
- JOUVET, M. (1962): Recherches sur les structures et les mécanismes responsables des diverses phases du ommeil physiologique. «Arch. ital. Biol.», **100**, 125-206.
- (1967): Neurophysiology of the states of sleep. «Physiol. Rev.», **47**, 117-177.
- (1972): The role of monoamines and acetylcholine containing neurons in the regulation of sleep-waging cycle. «Ergebn. der Physiol.», **64**, 166-307.
- (1974): Le reve. «La recherche», **5**, 515-527.
- , F. MICHEL et J. COURJON (1959): Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. «C. R. Soc. Biol. Paris», **153**, 1024-1028.
- KREINDLER, A., et M. STERIADE (1958): La physiologie et la physiopathologie du cervelet. Ed. Masson. París.
- LAGO, J. F. (1975): Proyecciones del cerebelo a través del pedúnculo cerebeloso superior. Estudio de una nueva técnica para poner de manifiesto estructuras terminales degeneradas. Tesis doctoral. Fac. Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.

- LENARD, H. G., and F. J. SCHULZE (1972): Polygraphic sleep study in craniopagus twis. (Were is the sleep transmitter?). «Journ. Neurol. Neurosurg. Psychiat.», **35**, 756-762.
- LUCAS, E. A., and M. B. STERMAN (1974): The polycyclic sleep-wake cycle in the cat: effects produced by sensori rhythm conditioning. «Exp. Neurol.», **42**, 347-368.
- MADOZ, P. (1969): Influencia de la región preóptica en la regulación de la actividad eléctrica cerebral. «An. Anat.», **18**, 477-537.
- y F. REINOSO-SUÁREZ (1968): Influence of lesions in preoptic region on the states of sleep and wakefulness. «Proc. Internat. Union of Physiol. Sci.», pp. 7. Washington.
- MAGNES, J., G. MORUZZI and O. PONFELIANO (1961): Synchronization of EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary trac. «Arch. ital. Biol.», **99**, 33-67.
- MASSION, J., P. ANGAUT et D. ALBE-FESSARD. Etude des facteurs impliqués dans l'accroissement des activités corticales observé apres cérébellectomie. «EEG Clin. Neurophysiol.», **18**, 455-463.
- MONNIER, M. and L. HOSLI (1965): Humoral regulation of sleep and wakefulness by hypnogenic and activating dialysable factor. «Progr. in Brain Res.», **18**, 118-123.
- , G. A. SCHOENENBERGER, A. GLATT, L. DUDLER, W. MEHLHOSE, R. GACHTER and L. KNAPPOVA (1975): Distribution of physiological sleep factor delta in blood and cerebrospinal fluid. Proc. 2nd Internat. Sleep Res. Cong. pp. 147. Edinburgh.
- MORUZZI, G. (1958): Relations between the cerebellum and other central structures: Effects on the electrocorticogram. In: The Physiology and Pathology of the cerebellum, pp. 323-333. Ed. The Univ. Minnesota Press. Minneapolis.
- and H. M. MAGOUN (1949): Brain stem reticular formation and activation of the EEG. «EEG Clin. Neurophysiol.», **1**, 455-573.
- NAVA, B. E., J. CARBONEL, J. A. GUTIÉRREZ, M. ARCE y S. OBRADOR (1973): Implantes cefálicos en perros. II. Estudios neurológicos y electroencefalográficos. «Rev. Clín. Esp.», **130**, 301-306.
- RAFFAELE, R., F. SANTANGELO, S. SAPIENZA, A. URBANO and M. VENTURA (1971): Changes in the level of the diffuse electrocortical activity following interruption or activation of ponto-cerebellar system in the cat. «Arch. ital. Biol.», **109**, 338-356.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): Topographischer Hirnatlas der Katze. Ed. Merck AG. Darmstadt.
- (1971): Centros reguladores de la vigilia y del sueño. «Rev. Esp. de Oto-neurol. oftal. y neurocirug.», **169**, 111-119.
- (1974): Estructuras cerebrales y sueño. 1.º Simp. Internat. de Sueño y EEG. Madrid.
- SNIDER, R. S., and N. WETZEL (1965): Electroencephalographic changes induced by stimulation of the cerebellum of man. «EEG Clin. Neurophysiol.», **18**, 176-183.
- STERIADE, M., V. APOSTOL and G. OAKSON (1971): Control of unitary activities in Cerebello-thalamic pathway during wakefulness and synchronized sleep. «J. Neurophysiol.», **34**, 398-413.
- , —, — (1971): Clustered firing in the cerebello-thalamic pathway during synchronized sleep. «Brain Res.», **26**, 425-432.

- STERMAN, M. B., T. KNAUS, D. LEHMANN and C. D. CLEMENTE (1965): Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. «EEG Clin. Neurophysiol.», **19**, 509-517.
- URSIN, R. (1968): The two stages of slow wave sleep in the cat and their relation to rem-sleep. «Brain Res.», **11**, 347-356.
- VILLABLANCA, J. (1972): Permanent reduction in sleep after removal of cerebral cortex and striatum in cats. «Brain Res.», **36**, 463-468.
- y M. E. SALINAS-ZEBALLOS (1972): Sleep-wakefulness, EEG and behavioral studies of chronic cats without the thalamus: the «athalamic» cat. «Arch. ital. Biol.», **110**, 383-411.
- WALKER, A. E. (1938): An oscillographic study of the cerebro-cerebellar relationships. «J. Neurophysiol.», **1**, 16-23.
- ZARRANZ, J. J. (1972): Nuevas experiencias sobre la región caudal del puente y su influencia en los mecanismos neurofisiológicos del sueño. «An. Anat.», **21**, 583-611.
- y F. REINOSO-SUÁREZ (1971): The pontine tegmentum and sleep-wakefulness states. Proc. XXV Internat. Cong. Physiol. Sci. Munich, **8**, 315.

I. DE ANDRÉS
 Departamento de Morfología
 Facultad de Medicina Autónoma
 Madrid (España)

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA ADENOHIPÓFISIS EN GATOS TIROIDECTOMIZADOS

POR

G. BERNAL⁽¹⁾ y G. PALOMERO⁽²⁾

EN la adenohipófisis del gato normal, AMAT (1975) describe al microscopio electrónico seis tipos de células que contienen gránulos y que enumera del I al VI, sin darles ningún matiz funcional.

Son únicamente criterios histofisiológicos los que permiten establecer una nomenclatura funcional. Analizando las hipófisis de animales en condiciones fisiológicas y experimentales se puede llegar a poner en relación cada tipo celular con la secreción de una determinada hormona.

Con el fin de identificar, con relación a su función, algunos de estos adenocitos, hemos estudiado sus modificaciones ultraestructurales en gatos tras un período de tiempo más o menos prolongado de extirpación parcial o subtotal de la glándula tiroides.

Material y métodos

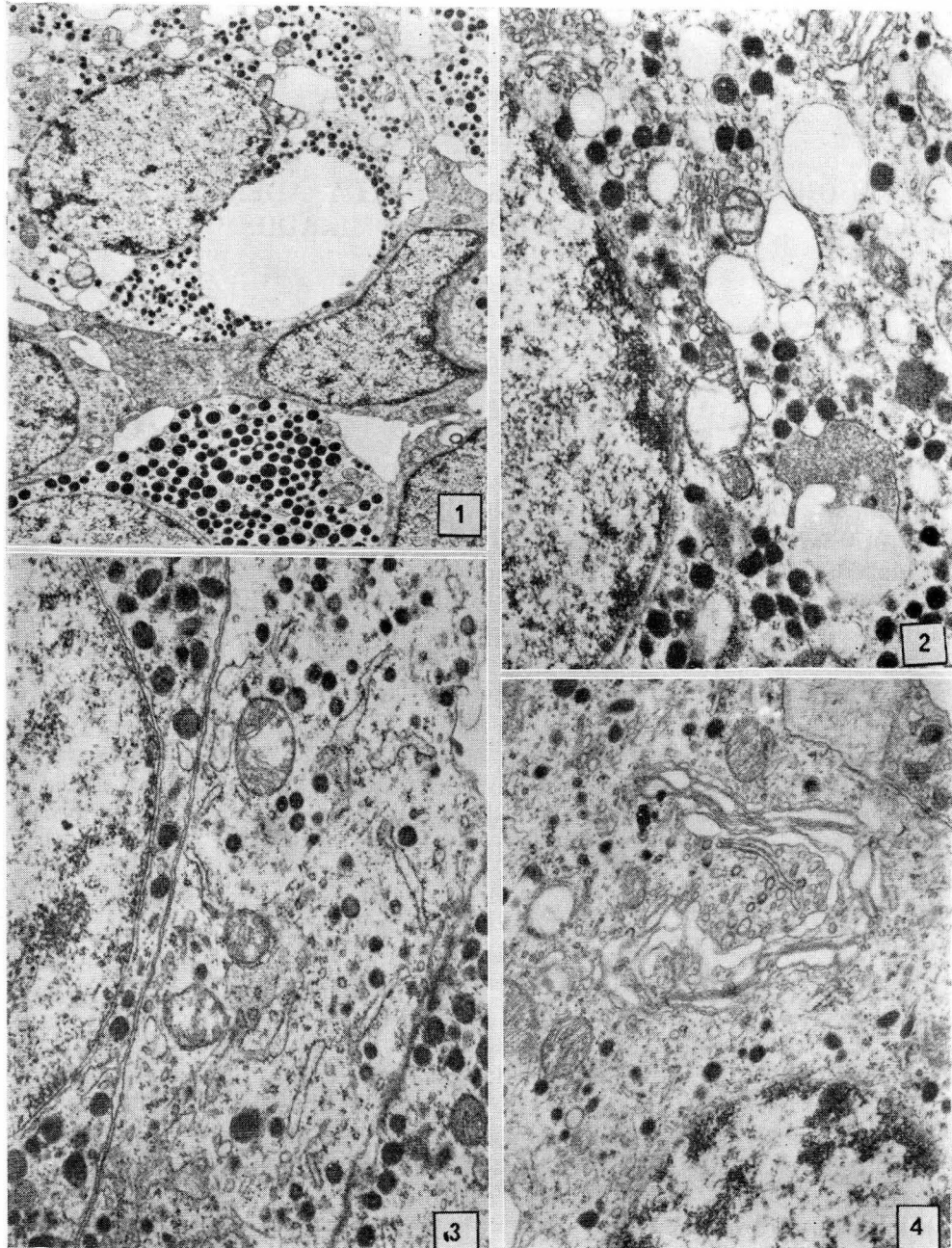
Hemos utilizado gatos adultos normales, machos y hembras, de pesos comprendidos entre 2.300 y 2.700 g.

La tiroidectomía parcial (extirpación de un lóbulo tiroideo y mitad del otro) ha sido practicada solamente en hembras, las cuales fueron sacrificadas desde las dos semanas hasta los 40 días.

La hemitiroidectomía o tiroidectomía subtotal (extirpación de un lóbulo tiroideo dejando "in situ" el otro) ha sido llevado a cabo tanto en machos como en hembras, con tiempos de evolución desde los 21 hasta los 42 días.

(1) Prof. agregado de Anatomía de la Facultad de Medicina de Córdoba.

(2) Prof. agregado de Anatomía de la Facultad de Medicina de Bilbao.



Sometidos los animales a narcosis profunda con pentobarbital, las glándulas extraídas se fijaron directamente en osmio, o bien se hizo una perfusión previa con glutaraldehído al 5 %, en un tampón fosfatado de pH 7.4 y ulterior fijación en tetraóxido de osmio al 1 %. Las piezas fueron fijadas en bloque por el acetato de uranilo-acetona al 2 % e incluidas en araldita. Los cortes ultrafinos (300 Å), tratados según el método de Reynolds, han sido examinados con el microscopio electrónico Philips EM201.

Resultados obtenidos

El estudio de la ultraestructura de la adenohipófisis de los gatos a los que se ha practicado la subtiroidectomía demuestra la existencia de distintos tipos de adenocitos.

El examen con el microscopio electrónico ofrece campos en donde se ven adenocitos con una gran cantidad de gránulos de los tipos I y II, junto con otros adenocitos de gránulos menores. Son frecuentes las células estrelladas o foliculares, agranulares. En la figura 1 se pueden ser dos de ellas.

Hemos de destacar que en algunos campos son muy abundantes los adenocitos tipo II, sobre todo de la variedad de gránulos de menor tamaño. Una gran parte de los adenocitos tipos I y II presentan signos ultraestructurales de hiperactividad a lo largo de todo el período de evolución de la subtiroidectomía. En efecto, hemos encontrado aparatos de Golgi bien desarrollados en muchos de estos tipos celulares.

Pero el hecho más llamativo es la existencia de cisternas muy dilatadas del retículo endoplásmico en adenocitos que, por las características de los gránulos y del citoplasma, corresponden al tipo V de AMAT. Se trata de células con escaso retículo endoplásmico rugoso. En la parte superior de la figura 1 se ofrece un ade-

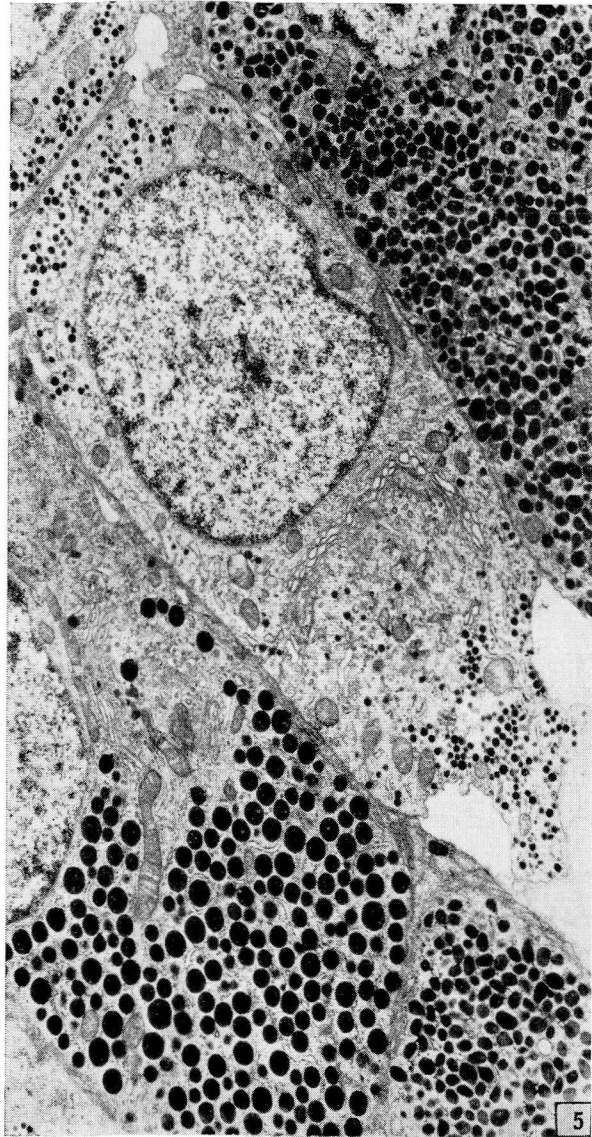
Gata. Tiroidectomizada parcial. 28 días.

FIG. 1. — Panorámica donde se pueden observar distintos tipos de células adenohipofisarias. Destaca la existencia de dos células agranulares, estrelladas. 1.490×.

FIG. 2. — Detalle de la célula superior de la fotografía 1. Cisternas del retículo muy dilatadas y sin contenido. Granos redondos, densos y homogéneos, cuyos diámetros oscilan entre 125 y 190 nm. 4.380×.

FIG. 3. — Larga prolongación de un adenocito, con gránulos de 133 a 170 nm. Cisternas del retículo ligeramente dilatadas. 4.380×.

FIG. 4. — Marcado desarrollo del aparato del Golgi de un adenocito cuyos granos son de 114 a 152 nm. 4.380×.



Gato. Hemitiroidectomía. 21 días.

FIG. 5. — Adenocito de tipo V, de granulaciones inferiores a 100 nm. y con un aparato de Golgi muy desarrollado. Se pueden observar asimismo otros tipos de adenocitos. En la parte superior de la figura, un adenocito tipo II! en la parte inferior, un adenocito de tipo I, ambos sobrecargados de granos de secreción. 2.240x.

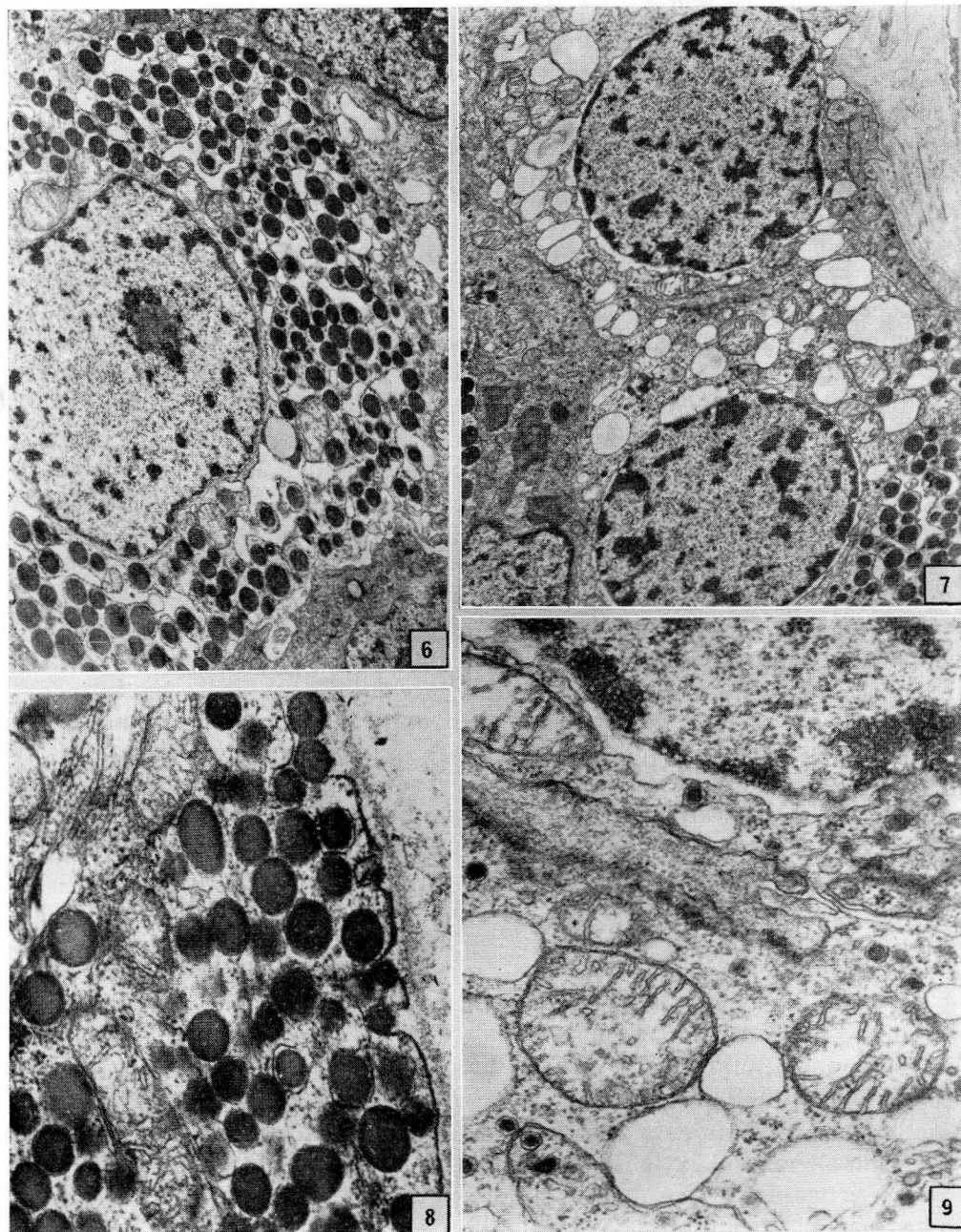
nocito de este tipo con cisternas del retículo extraordinariamente dilatadas, pero sin contenido. Una de estas cisternas es enorme, abundando otras cuyos diámetros alcanzan los 500 a 750 nm. Sus gránulos son densos, redondos y homogéneos, oscilando su diámetro entre 125 y 190 nm. Tal célula es difícil de catalogar dentro de los tipos descritos por AMAT, pero es posible encuadrarla entre el adenocito tipo IV y el tipo V, aunque nosotros nos inclinamos a pensar se trate de una célula de tipo V.

A los 28 días de la subtiroidectomía son frecuentes las células de tipo V. La figura 3 muestra en su parte media el fragmento de una célula de este tipo, en donde se ven los polisomas, alguna mitocondria, algún microtúbulo y cisternas de retículo endoplásmico rugoso, pequeñas, alargadas, con tendencia a dilatarse y con un contenido de una sustancia poco densa. Sus gránulos son pequeños, redondos, con membrana y halo perceptibles, densos; su talla es, por término medio, de 150 nm.

A los 40 días de la subtiroidectomía, las características ultraestructurales de la adenohipófisis son semejantes. Se observan adenocitos con una cantidad enorme de gránulos y con signos de hiperactividad, sobre todo los adenocitos de tipo I. Asimismo vemos otros de forma irregular, teniendo sus gránulos las características del adenocito de tipo V, destacando particularmente el desarrollo extraordinario del aparato de Golgi (fig. 4).

La adenohipófisis de los gatos a los que solamente se ha extirpado un lóbulo tiroideo ofrece también imágenes que denotan hiperactividad de muchos tipos celulares. De nuevo encontramos adenocitos de tipo I y II sobrecargados de granos de secreción, tanto a los 21 días de la hemitiroidectomía (fig. 5) como a los 40 días. Ciertamente es que en la adenohipófisis normal las células de tipo I suelen poseer una gran cantidad de granos uniformemente distribuidos por el citoplasma y que, incluso, en algunas aparece un aparato de Golgi con granos en formación. Sin embargo, no es frecuente observar en los gatos normales, en estos tipos de adenocitos, dilataciones del retículo endoplásmico rugoso (fig. 6). En algunos de estos adenocitos el aparato de Golgi está muy desarrollado, pero, más notable aún, son las frecuentes imágenes de extrusión granular que hemos visto (fig. 8).

Más sorprendente todavía que la extrusión de gránulos y las dilataciones del retículo endoplásmico rugoso es la existencia de imágenes no observadas en el gato normal; nos referimos a la presencia de gránulos de muy distinto tamaño en el citoplasma de algunos de estos adenocitos. Son muy frecuentes estas imágenes en los adenocitos de tipo I, donde en alguna ocasión, junto a gránulos



normales aparecen otros gigantes que pueden alcanzar diámetros de hasta 630 nm.

En las adenohipófisis de nuestros gatos de hemitiroidectomía de mayor tiempo de evolución se aprecian adenocitos de tipo VI con gránulos menores de 100 nm, con un halo claro y ancho en relación con el diámetro, pero con características tampoco observadas en el gato normal. Estas características se refieren a dilataciones de la membrana perinuclear y, particularmente, a la presencia de vesículas grandes del retículo endoplásmico liso y sin contenido (figs. 7 y 9).

Todos estos hechos enmascaran la identificación de un posible adenocito de los descritos por AMAT (1975), como responsables de la secreción de TSH. No obstante, tanto en los gatos subtiroidectomizados como en los hemitiroidectomizados que ahora estamos estudiando, existe el adenocito de tipo V que muestra signos de hiperactividad. En este sentido, la célula completa que aparece en la figura 5, con gránulos de talla pequeña, sin llegar a medir 100 nm, con un aparato de Golgi extraordinariamente desarrollado, es la que más constantemente nos presenta signos de hiperactividad, tanto en los subtiroidectomizados como en los hemitiroidectomizados. Bien es cierto que hiperactividad tienen, en ambos grupos de animales, otros tipos de adenocitos, especialmente los adenocitos tipo I y II.

Discusión

En estudios de la ultraestructura de la adenohipófisis, la célula tireotropa ha sido descrita en muy diversas especies de mamíferos (rata: KUROSUMI y OOTA, 1966; ratón: BARNES, 1963; cobaya: MARESCAUX y REBEL, 1966; hamster: GIROD y col., 1966; conejo: SALAZAR, 1963; delfín: YOUNG y HARRISON, 1970; hombre: LAWZEWITSCH y col., 1971; etc.).

En relación con los gránulos de secreción de la célula tireotropa, todos los autores citados, en las especies anteriormente enun-

Gato. Hemitiroidectomía. 35 días.

FIG. 6. — Adenocito de tipo I. Cisternas del retículo endoplásmico dilatadas. 2.240×.

FIG. 7. — Adenocito de tipo VI con cisternas del retículo endoplásmico rugoso. Espacio conjuntivo perivascular. 2.240×.

FIG. 8. — Imagen de extrusión granular de un adenocito tipo I. 9.100×.

FIG. 9. — Detalle de la figura 7. Se puede observar la membrana perinuclear dilatada. Gránulos de 90 nm con un pequeño halo. Vesículas del retículo. 9.100×.

ciadas, los consideran de talla pequeña a mediana. Por ejemplo, BARNES (1963), para el ratón los cataloga de una talla de 50 a 100 nm; GIROD y col. (1966), de 75 a 130 nm, en el hamster; en el delfín, según YOUNG y HARRISON (1970), llegan a alcanzar los 220 nm. Ciertamente es que gran parte de estos autores describen transformaciones notables de la célula tireotropa, referentes sobre todo a dilataciones del retículo, cuyo contenido es denso y a veces grumoso.

Cuando planteamos el experimento de la subtiroidectomía y de la hemitiroidectomía en el gato, pensamos que estos tipos celulares iban a ser abundantes. Somos conscientes de la limitación que supone un estudio de la ultraestructura de la glándula por varias razones, y, quizás, la principal sea la de los pequeños campos que se manejan.

Nosotros nos hemos encontrado con la sorpresa de que la subtiroidectomía y la hemitiroidectomía han determinado una hiperactividad de otros tipos celulares. No debemos descartar la posibilidad de que la adenohipófisis pueda ser activada, en los animales de nuestra casuística, desde otras glándulas subsidiarias. En el control del ovario que hemos realizado en las gatas, hemos hallado siempre imágenes de folículos ováricos, algunos de un diámetro muy grande.

Nos es difícil de explicar hechos tales como la aparición de gránulos de secreción enormes en los adenocitos de tipo I y la extrusión granular.

Hemos visto células en las que aparecían vesículas enormes con gránulos cuya talla corresponde a los de mayor tamaño de tipo V, o de los menores de tipo IV. Pero tales vesículas están completamente vacías, no ajustándose así a las células de la tiroidectomía. Por ello, como hemos dicho ya en los resultados, las células presentadas en las figuras 3, 4 y 5, escasas en retículo, con gránulos diseminados de talla alrededor de 150 nm, algunas de ellas con cisternas del retículo ligeramente dilatadas y de contenido poco denso y poco abundante (fig. 3), y otras con un gran desarrollo del aparato de Golgi en cuyo citoplasma abundan los ribosomas agrupados en polisomas, nos inclinarían a considerarlas como las células tireotropas, pero sin una certeza absoluta.

Estas células corresponden al adenocito tipo V de AMAT. Sabemos que aún hay otro adenocito de gránulos más pequeños, el adenocito tipo VI, que en nuestros casos de hemitiroidectomía se ha hecho vesiculoso, pero esto solamente ha ocurrido en los de mayor tiempo de evolución, no habiéndolo visto en los subtiroidectomizados.

Resumen

En gatos de ambos sexos hemitiroidectomizados, y en gatas subtiroidectomizadas (extirpación de 3/4 partes de la glándula) hemos estudiado la adenohipófisis al microscopio electrónico.

La identificación de los tipos celulares se ha hecho de acuerdo con el trabajo de AMAT (1975). En todos estos casos hemos observado que los adenocitos tipo I, II y V muestran signos de hiperactividad. No obstante, por detalles ultraestructurales, tales como un desarrollo extraordinario del aparato de Golgi, presumimos que el adenocito tipo V, de gránulos densos con una talla de 150 nm, pueda relacionarse con la función tireotropa.

Summary

In order to attempt the identification of the thyrotropic cells, an ultrastructural study of the adenohypophysis has been done on hemithyroidectomized cats of both sexes and in subthyroidectomized female cats (removal of 3/4 of the gland).

The identification of the cellular types has been done according to AMAT (1975). In all these cases we have observed that the adenocytes type I, II and V show signs of hyperactivity. However, due to ultrastructural details such as the extraordinary development of the Golgi complex, we presume that the adenocytes type V, with dense granules, with a size around 150 nm, may be related with the thyrotropic function.

Zusammenfassung

Es wird in hemithyroidectomized Katzen von beiden Geschlecht und in subthyroidectomized Katzen (ein Drittel Schilddrüse angezogen), die adenohypophyse untersucht mit Elektronische Microscopie.

Die verschiedene Zelltypen sind wie Arbeit von AMAT (1975) festgestellt. In alle unseren Fälle haben wir Hyperfunktion Zeichen in adenocytan Type I, II, und V beobachtet. Dessenungeachtet, auf den ultrastructure Zeichen wie die vergrößert der Golgi Aparat, es ist zu vermuten dass die adenocytan V, mit einem Wuchs von 150 nm, von tireotropen Funktion abhängen.

Résumé

Chez des chats des deux sexes avec une hémithyroidectomie, et chattes avec une subthyroidectomie (extirpation des 3/4 de la glande) nous avons étudié l'adénohypophyse au microscope électronique.

L'identification des types cellulaires s'est faite d'après et en accord du travail d'AMAT (1975). Dans tout ces cas-là nous avons observé que les adenocytes type I, II y V montrent des signes d'hyperactivité. Néanmoins, grâce à des détails ultrastructurels, tels que développement extraordinaire de l'appareil de Golgi, nous supposons que l'adenocyte du type V, de granules denses, d'une taille de 150 nm puisse se relationner avec la fonction thyrotrope.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1975): Étude ultrastructurale de l'adénohypophyse chez le chat. «Bull. Ass. Anat.», **58**, 455-466.
- BARNES, B. G. (1963): The fine structure of the mouse adenohypophysis in various physiological states. En: Cytologie de l'Adénohypophyse. Ed. J. BENOIT et C. DA LAGE. Edts. du C.N.R.S., 91-109 (París).
- GIROD, C., M. CURE y P. DUBOIS (1966): Un exemple d'analyse morphologique et histiophysique du lobe antérieur de l'hypophyse: Recherches personnelles chez le Hamster doré. «Rev. Lyonnaise de Méd.», **15**, 127-140.
- KUROSUMI, K., y Y. OOTA (1966): Corticotrophs in the anterior pituitary glands of gonadectomized and thyroidectomized rats as revealed by electron microscopy. «Endocrinology», **79**, 808-814.
- LAWZEWITSCH, I. VON, G. H. DICKMANN, L. AMEZÚA y C. PARDAL (1971): Estudios morfológicos de la adenohipófisis humana. «An. Anat.», **20**, 295-321.
- MARESCAUX, J., y R. REBEL (1966): Modifications ultrastructurales de la pars distalis de l'hypophyse du cobaye après thyroidectomie. «C. R. Biol.», **160**, 190-193.
- SALAZAR, H. (1963): The pars distalis of the female rabbit hypophysis: An electron microscopic study. «Anat. Rec.», **147**, 469-497.
- YOUNG, B., y R. J. HARRISON (1970): Ultrastructure of the Dolphyn adenohypophysis. «Z. Zellforsch.», **103**, 475-492.

G. BERNAL
 Departamento de Anatomía
 Facultad de Medicina
 Córdoba (España)

PROYECCIONES ÓPTICAS DEL NÚCLEO GENICULADO LATERAL VENTRAL

(Un estudio autorradiográfico)

POR

M. BOUTHELIER MORENO y L. MARTÍNEZ MILLÁN

Introducción

EN el estudio de Anatomía Comparada que NIMI y otros (1963) que efectuaron en el núcleo ventral del geniculado lateral en mamíferos lo consideran como una estructura talámica ventral cubierta lateralmente por el tracto óptico, del cual recibe fibras ópticas y subdividido en una capa interna y otra externa en todos los mamíferos estudiados. En comparación con los animales más evolucionados, el geniculado ventral ofrece en el conejo un buen desarrollo y diferenciación. El tamaño relativo de dicho núcleo disminuye en los primates.

En el adulto normal existen en ocasiones la dificultad de delimitar las subdivisiones de este núcleo. La posible facilidad que supone el material procedente del recién nacido y el poder precisar las conexiones retinianas aferentes a este núcleo mediante métodos autorradiográficos nos han inducido a realizar el presente trabajo.

Material y métodos

Para nuestro estudio hemos utilizado 6 conejos adultos y un recién nacido. Uno de ellos fue perfundido intracardiamente con formol neutro al 10 %; su cerebro se incluyó en parafina, obteniéndose cortes de 15 micras que se procesaron mediante el método de Klüver-Barrera. Los otros 5 conejos adultos fueron inyectados con leucina tritiada (5 μ l equivalentes a 150 μ Ci) en cámara posterior; tras un tiempo de sobrevivencia que osciló entre 3 días y una se-

mana fueron sacrificados, perfundiéndose intracardiamente con formol neutro al 10 %. Los cerebros fueron incluidos en parafina, cortados a 15 micras y sometidos al proceso autorradiográfico con tiempo de exposición de 3 semanas.

El conejo recién nacido fue perfundido intracardiamente con el líquido fijador de Carnoy, su cerebro incluido en parafina, siendo cortado a 15 micras para ser teñido según el método de Klüver-Barrera.

Resultados

En el conejo adulto (fig. 1) es posible distinguir claramente a lo largo de toda la serie frontal las dos porciones del núcleo geniculado lateral. Utilizando el método de Klüver-Barrera, el núcleo



FIG. 1 (15×)

geniculado lateral ventral aparece delimitado en su porción infero-lateral por las fibras ópticas que integran el tracto. En su porción supero-interna aparece separado mediante una línea de fibras del núcleo geniculado lateral dorsal. A mayores aumentos (fig. 2) nos aparece el núcleo geniculado ventral del lado opuesto al de la figura anterior, adoptando una forma triangular. En el recién nacido se diferencia, mediante el mismo método de Klüver-Barrera, de forma especialmente clara la clásica subdivisión en dos sectores de este núcleo geniculado ventral. Desde el principio de la serie (fig. 3),

así como en su parte media (fig. 4) y final (fig. 5) se aprecia una franja longitudinal externa correspondiente al sector Alfa separada por una porción estrecha algo más clara del sector Beta-Gamma más internos.

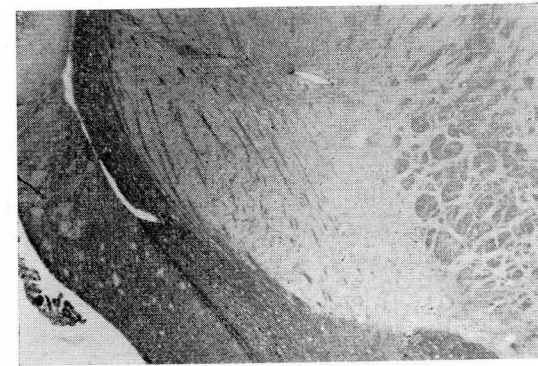


FIG. 2 (40×)

En el material procesado para autorradiografía es posible seguir las proyecciones que este núcleo recibe desde la retina. Al principio de la serie (fig. 6) aparece el núcleo geniculado ventral de pequeño tamaño junto al intenso marcado del tracto óptico y separado por una línea oblicua del geniculado ventral; a este nivel

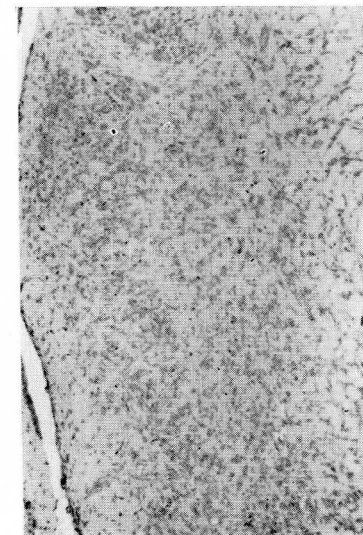


FIG. 3 (100×)

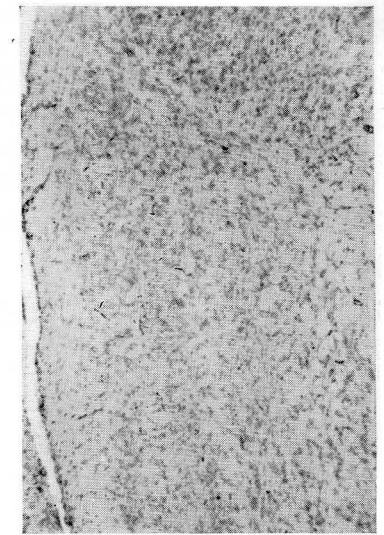


FIG. 4 (100×)

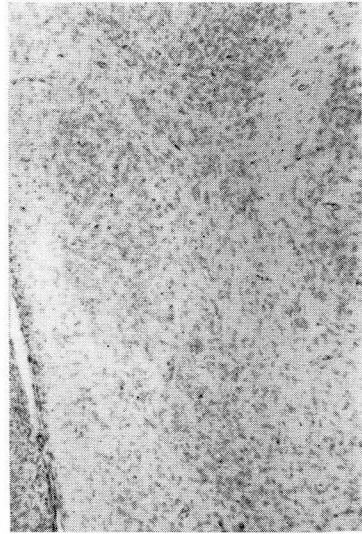


FIG. 5 (100×)



FIG. 6 (40×)

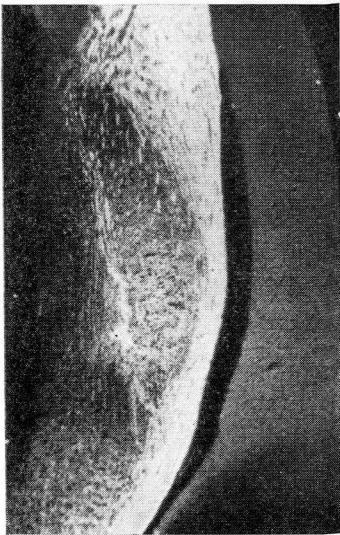


FIG. 7 (40×)

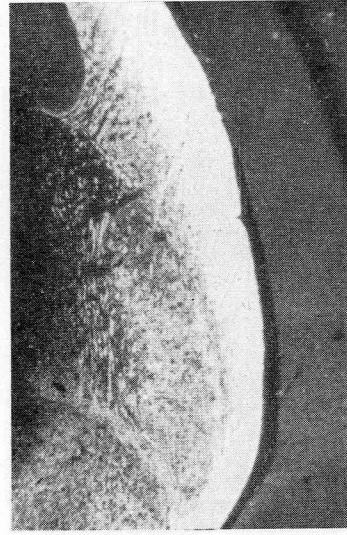


FIG. 8 (40×)

el marcaje en el geniculado ventral se acumulan en la parte superior de sus dos sectores. Avanzando posteriormente dentro del núcleo (fig. 7) nos aparece una mayor extensión del marcaje que se distribuye por los dos tercios superiores de los sectores de este núcleo. A niveles algo más posteriores el marcaje parece concentrarse fundamentalmente en el sector Alfa (fig. 8) y en la porción más posterior (fig. 9 se observa un marcado más escaso de todo el núcleo que corresponde a una serie de tractos fibrosos que lo atra-



FIG. 9 (40×)

viesan procedentes del tracto óptico. En toda la serie se distingue con gran nitidez el intenso marcado del tracto óptico con sus fibras que se dirigirán al geniculado dorsal y al colículo superior. Por encima del geniculado ventral apreciamos el intenso marcado del geniculado dorsal, especialmente en los niveles medios y posteriores de la serie (figs. 8 y 9).

Discusión

La estructura, límites y subdivisión del núcleo geniculado lateral ventral en el conejo fue descrita por WINKLER y POTTER (1911), ROSE (1935) y NIIMI y otros (1963). ROSE lo divide en un sector lateral Alfa y otro medial Beta-Gamma. Estos sectores lateral y medial se corresponden claramente con las capas externa e interna de NIIMI y con las divisiones a y b de WINKLER y POTTER. En nues-

tro material procedente del recién nacido observamos la subdivisión citoarquitectónica del geniculado lateral ventral de una forma mucho más clara que en el material adulto.

Utilizando métodos de impregnación argéntica para poner de manifiesto los axones degenerados, GIOLLI y GUTHRIE (1969) estudiaron las proyecciones ópticas primarias en el conejo tras enucleación unilateral y observaron que únicamente al sector lateral o Alfa del geniculado ventral recibe aferentes retinianos. En contraste, hemos apreciado en nuestro material que sobre todo en las partes medias del núcleo (considerando la serie antero-posterior) se acumula un marcaje autorradiográfico tanto en el sector Alfa como en el Beta debido a las aferencias retinianas. Esto nos lleva a afirmar que mediante el método utilizado por nosotros en este trabajo conseguimos objetivar la mayor extensión de las aferencias ópticas primarias en el núcleo geniculado ventral del conejo.

Resumen

Hemos comprobado la facilidad que ofrece el material del recién nacido para establecer la subdivisión del núcleo geniculado lateral ventral. Mediante autorradiografía se observa una mayor extensión de las aferencias retinianas a este núcleo en comparación con las establecidas mediante métodos de impregnación argéntica.

Summary

We have realized the facility that the material of the new born shows to establish the subdivision of the lateral ventral geniculate nucleus. By autorradiography was observed one greater extension of the retinian afferences to this nucleus in comparison with those established by the argentic impregnation methods.

Zusammenfassung

Wir haben festgestellt dass das Studium der Einteilung des Nucleus geniculatum laterale ventral an das Material des neugeborenen einfacher ist. Mittels der Autorradiographie wurde beobachtet, dass die Ausdehnung der retinale Afferenzen zu diesem Nucleus grösser ist, besonders wenn man vergleicht mit den Ergebnissen von dem Studium mit Methoden von Silver-impregnation.

Résumé

Nous axons éprouvé la facilité qui montre le matériel du nouveau né pour établir la subdivision du noveau genouillé lateral ventral. La autorradiographie montre une plus grande extension des afferences retiniennes à cet noveau en comparaison avec les établies par méthodes d'impregnation argentique.

BIBLIOGRAFÍA

- GIOLLI, R. A., and MARY D. GUTHRIE (1969): The Primary optic projections in the rabbit. An experimental degeneration study. «J. Comp. Neur.», **136**, 99-126.
- NIIMI, K., T. KANASEKI and T. TAKIMOTO (1963): The comparative anatomy of the ventral nucleus of the lateral geniculate body in mammals. «J. Comp. Neur.», **121**, 313-324.
- ROSE, M. (1935): Das Zwischenhirn des Kaninchens. «Mém. Acad. Pol. Sc. Lett.», Série B, 1-108.
- WINKLER, C., and A. POTTER (1911): An Anatomical Guide to experimental Researchs on the Rabbit's Brain. W. Versluisy. Amsterdam.

M. BOUTHELIER MORENO
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

ZONAS DE MESENCÉFALO DESTACABLES POR
WALLERIANISMO EN RELACIÓN CON PROCE-
SOS DE DESCEREBRACIÓN CLÍNICA

POR

J. L. BUENO⁽¹⁾ y C. REBLET⁽²⁾

Antecedentes

LA descerebración clínica hecha experimentalmente (ESCOLAR-CASTELLÓN, 1967) distingue una serie de partes que se relacionaron con los trabajos de recopilación y sistematización sobre descerebraciones clínicas humanas hechos por PIA en 1952 y 1967:

- Serrado mesencefálico de un solo lado (parangonable con procesos clínicos de desplazamientos laterales de masas), con manifestaciones hemipléjicas diferentes de las originadas por alteración en la cápsula interna, puesto que se añade en aquel caso desequilibrios por lesión en braquioconjuntivo. Da lugar a vías wallerianas que descienden por las áreas piramidales del neuroeje y por las áreas reticulares mediales y laterales.
- Serrado de pies pedunculares, con proyecciones wallerianas exclusivas por áreas piramidales del neuroeje y parálisis distales completas de las extremidades.
- Serrado colicular. Desorganización de reflejos de alerta y apretamiento y alteraciones vegetativas.
- Serrado transversal de calota, tangencial al pie peduncular (sin parangón clínico): Aporta proyecciones wallerianas a lo largo de la médula, que podrían corresponder tanto al haz rubroespinal

(1) Prof. adjunto interino. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina de Zaragoza.

(2) Prof. ayudante de Clases Prácticas. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina de Zaragoza.

como a fibras procedentes de la sustancia negra. Se observa una disarmonía en los movimientos.

— Serrado en plena calota (afectando al núcleo rojo y braquioconjuntivo) (sin parangón clínico): Aporta proyecciones wallerianas a lo largo del área reticular medial y lateral. Es causa de trastorno estático postural y ataxia, más acusada en las extremidades anteriores cuando se afecta la cinta de Reil, y en las posteriores cuando se afecta el braquioconjuntivo.

La afectación de la sustancia blanca periependimaria (en cualquiera de las lesiones próximas a ella) se acompañaba siempre de trastornos vegetativos (micción y defecación) y muerte a corto plazo. Trastornos en la micción y defecación también se observaron en los casos con afectación colicular.

A algunas de estas zonas mesencefálicas lesionadas experimentalmente por ESCOLAR-CASTELLÓN, en su citado trabajo, podemos referir vías wallerianas cuyo origen fue precisado por BUENO (1974) y REBLET (1976). BUENO, lesionando el área mamilar, encontró degeneración terminal en las áreas reticulares mediales y laterales mesencefálicas (puesto que el haz mamilar de la calota, eferente, se agotaba en conexiones con la formación reticular troncoencefálica en todos sus niveles. A estas conexiones atribuyó la influencia del área mamilar en funciones vitales). REBLET, lesionando la encrucijada ventricular, encontró degeneración en los colículos superiores y vías calcarin-cuadrigeminales (por lesión del cuerpo geniculado externo); en rafe mesencefálico, sustancias perforada interpeduncular y locus ceruleus (por lesiones en la fimbria propagadas a través del tegmento y zonas yuxtamamilar); en áreas reticulares junto a vías piramidales (que puede obedecer también a lesiones en la fimbria propagadas a lo largo del tegmento y por los axones de ella que engrosan directamente el haz mamilar de la calota sin hacer sinapsis en los cuerpos mamilares); en vías piramidales (cuando la lesión de la encrucijada se propaga a la profundidad) (homolateralmente hasta la decusación, heterolateralmente por debajo de la misma y, por encima, algunas fibras heterolaterales aberrantes no descritas. Esta degeneración piramidal es más manifiesta en la parte más medial del pie peduncular).

Hallazgos

Así pues, podemos considerar algunas vías wallerianas originadas a distancia, en relación con las lesiones experimentales de BUENO y REBLET, topografiadas en la zona mesencefálica afectada en las descerebraciones clínicas y experimentales:

- La formación reticular mesencefálica, medial y lateral (figs. 1, 2 y 3) se ve afectada tanto en las lesiones del área mamilar (fig. 9), por propagación a lo largo del haz mamilotegmental (figuras 10 y 11) como en lesiones de la encrucijada, por propagación por axones que desde la fimbria y fórnix se incorporan directamente al haz mamilotegmental sin recambiar en el cuerpo mamilar, acompañándose de alteraciones imprecisas e

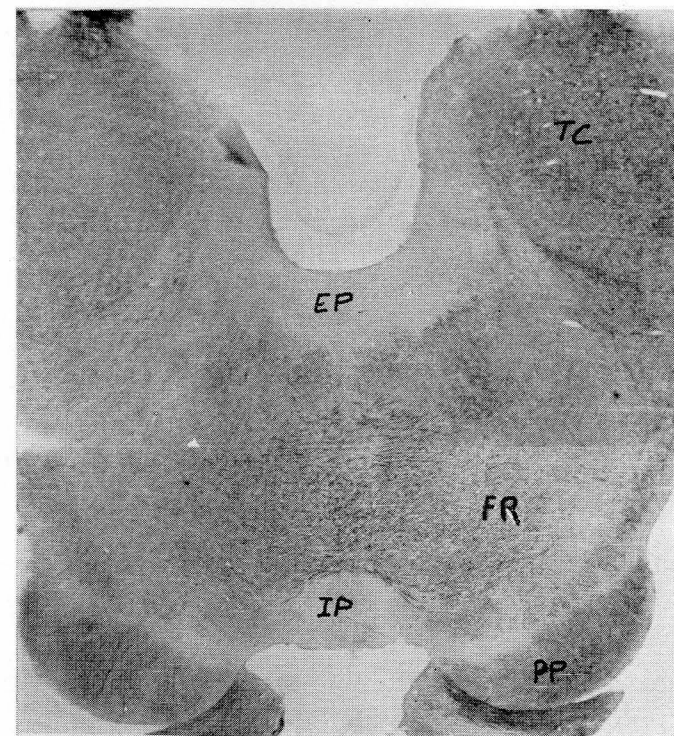


FIG. 1. — Corte correspondiente a la zona de descerebración mesencefálica típica. Se aprecian los pies pedunculares (PP), el núcleo interpeduncular (IP), zona yuxtaependimaria (EP), tubérculos cuadrigéminos (TC) y formación reticular (FR).

inestables de las funciones vitales; igual aspecto ofrece en la descerebración experimental por serrado en plena calota o hemiserrados mesencefálicos, acompañándose en estos casos de ataxia y trastornos estático-posturales, achacables a la participación de la cinta de Reil y haz braquioconjuntivo.

- Las vías piramidales (figs. 1, 2, 3 y 4) se ven afectadas en la lesión de la encrucijada, por extensión de la lesión hacia la

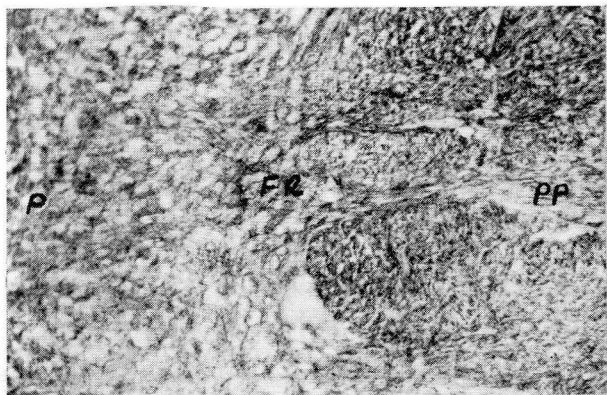


FIG. 2

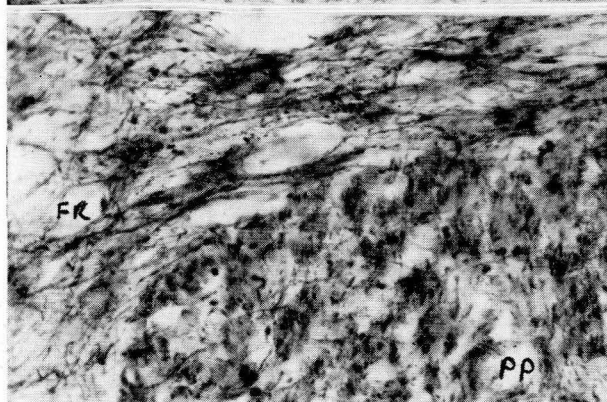


FIG. 3

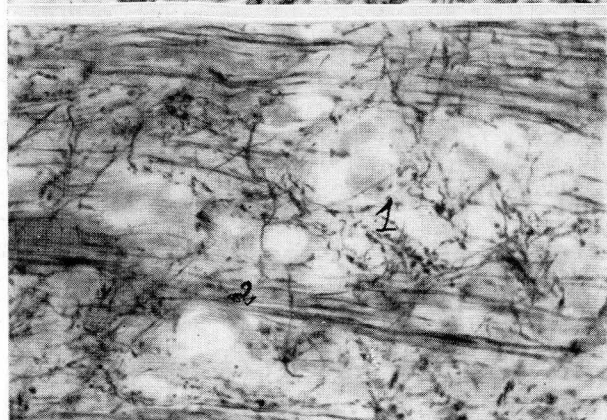


FIG. 4

FIG. 2. — Pie piramidal izquierdo (PP) con su zona reticular adyacente (FR) y puente (P).

FIG. 3. — A mayores aumentos, pie piramidal izquierdo (PP) y zona reticular adyacente (FR).

FIG. 4. — Fibras aferentes a los núcleos del puente degeneradas (1), contrastadas con fibras pontocerebelosas (2) no degeneradas.

cápsula interna, de igual forma que en el serrado de los pies pedunculares. Las alteraciones ocasionadas son sobradamente conocidas, teniendo que destacar que REBLET describió zonas de cruzamiento piramidal aberrantes por encima de la decusación. Sin embargo, cuando fueron lesionadas por hemiserrados me-

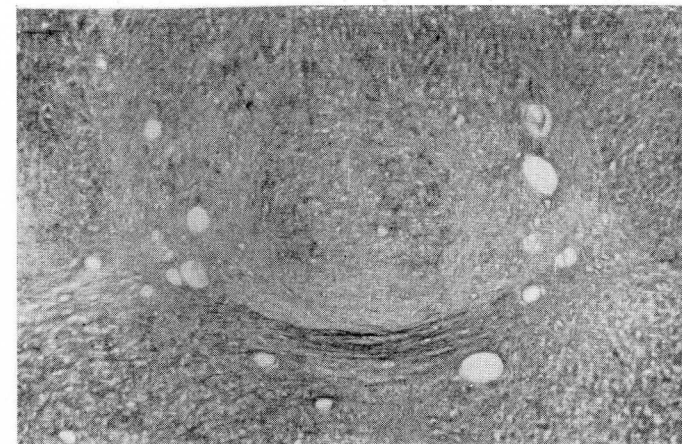


FIG. 5

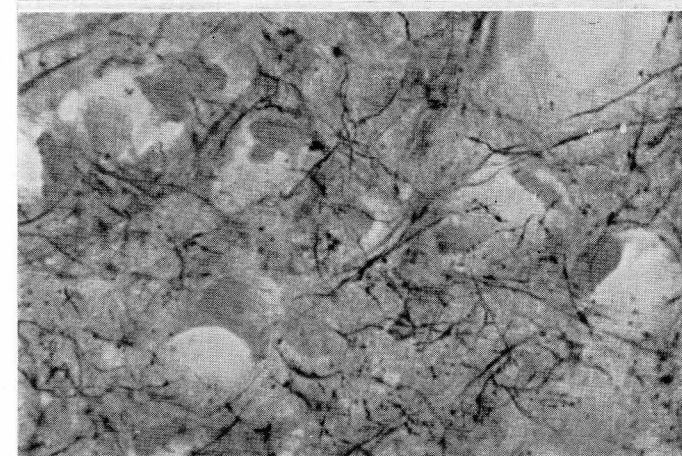


FIG. 6

FIG. 5. — Núcleo interpeduncular, a nivel de la sustancia perforada.

FIG. 6. — A mayores aumentos, el núcleo interpeduncular.

sencefálicos, las alteraciones motoras fueron diferentes, por afectación coincidente del braquioconjuntivo, de las producidas en lesión en la cápsula interna o en los pies pedunculares.

— El núcleo interpeduncular (figs. 5 y 6) no se afecta en lesiones del cuerpo mamilar, pero sí, junto al rafe mesencefálico y el

locus ceruleus (fig. 7), cuando la lesión se localiza en la encrucijada ventricular, lo que indica que las fibras que acaban en ellos vienen directamente del fórnix sin recambiar en cuerpos mamilares. Del núcleo interpeduncular, después de hacer sinapsis, estos estímulos ascenderían al cuerpo mamilar por el haz pedúnculo-mamilar. Tanto la destrucción de la encrucijada como del fórnix o del núcleo interpeduncular (este último en la descerebración) alteraría este circuito. La llegada de degeneración al locus ceruleus no ocasiona los trastornos descritos por

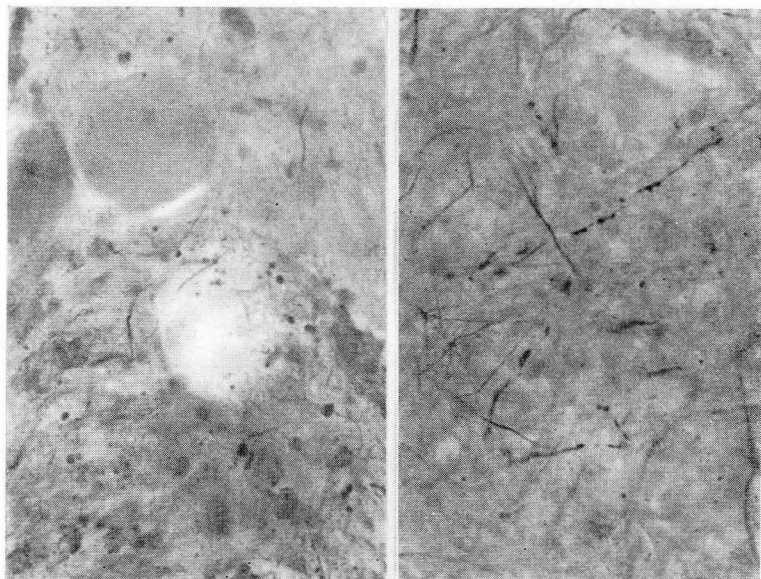


FIG. 7

FIG. 7. — Zona periependimaria en el locus ceruleus.

FIG. 8

FIG. 8. — Tubérculo cuadrigémino izquierdo.

ESCOLAR-CASTELLÓN en las descerebraciones experimentales que afectaban a la sustancia blanca periependimaria.

- A los tubérculos cuadrigéminos (fig. 8) llegaba degeneración desde la encrucijada cuando resultaba lesionado el cuerpo geniculado lateral. Por el tegmento, supraacueductal sin penetrar en los colículos, se apreciaba degeneración por lesión en la zona mamilar. Sin embargo, en ninguno de estos dos casos se observó trastornos de la micción y defecación como cuando eran afectados en las descerebraciones experimentales.

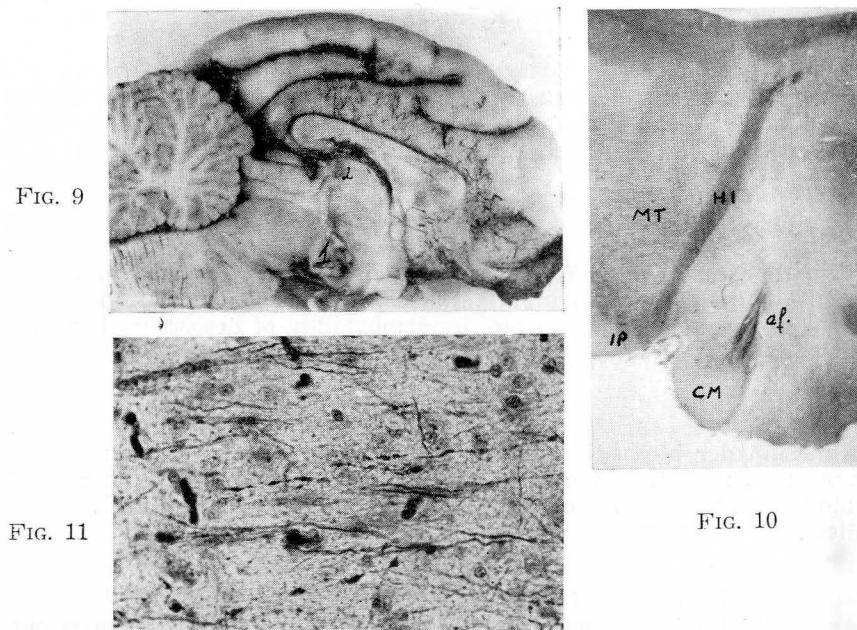


FIG. 9

FIG. 11

FIG. 10

FIG. 9. — Lesión en región mamilar (1). Nótese coagulación en cuerpo mamilar, y, al paso de la aguja, en la habénula (2).

FIG. 10. — Zonas críticas, haz habenuointerpeduncular (HI), haz mamilotegmental o mamilar de la calota (MT), haz común eferente (af) cuerpo mamilar (CM), núcleo interpeduncular (IP). La lesión afectó a la calota mesencefálica, medial e internamente a este panorama.

FIG. 11. — En detalle, el haz mamilotegmental.

Consideraciones

Destaca, en la línea de nuestros trabajos, la constatación del circuito que comenzando en asta de Ammon llegaría por la fimbria y haz mamilar de la calota al núcleo interpeduncular (rafe), bien directamente o bien con recambio en cuerpo mamilar. Del núcleo interpeduncular retornaría a los cuerpos mamilares. Otras salidas de este circuito serían las clásicas conexiones de los cuerpos mamilares con núcleo rojo (CAJAL) y con la formación reticular mesencefálica o en casos de afectación de asta de Ammon por hemorragias interventriculares, hidrocefalias, etc., siendo quizás la causa de las alteraciones en funciones vitales (respiratorias, cardiacas) en el sentido de las descritas por VALDIZÁN, ESCOLAR, etc., aunque de carácter más inestable.

Resumen

Por degeneración walleriana y el método de Nauta se realiza un estudio recopilativo relacionando el asta de Ammon, cuerpos mamilares, núcleo interpeduncular (rafe) y sus vías de conexión con procesos clínicos fundamentalmente de tipo descerebrativo.

Summary

With the Nauta's method we have studied the correlations between the Ammon's horn, corpora mamillaria nucleus interpeduncularis, their connections and the clinical processes, fundamentally of descerebrative type.

Zusammenfassung

An Hand der Methode von Nauta wurden die Beziehungen zwischen dem Ammon's horn, corpora mamillaria, nucleus interpeduncularis ihren Verbindungen und klinische Bilder, hauptsächlich von descerebrativen Typ studiert.

Résumé

Avec la dégenération wallerienne et la methode de Nauta, on réalise un études recopilatif relationnent le Corne d'Ammon, les Corps mamilaires et le Noyau Interpedunculaire (raphe), et les voies de connexion, avec des procés cliniques fondamentalement de type descerebratif.

BIBLIOGRAFÍA

- BUENO, J. L. (1974): Aportaciones al conocimiento del área mamilar (Con referencia especial a los haces mamiloeferentes). «An. Anat.», 23, 60, 315-339.
- ESCOLAR, J. (1950): Aportaciones al estudio de las vías piramidales y extrapiramidales, campos corticales de la proyección centrífuga en el gato por el método de Marchi y Randolsky. «Actualidad Médica». Granada.
- , J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN y J. R. VALDIZÁN (1973): Subthalamus and circulatory apparatus, 3th. European Anatomical Congress, Manchester.
- ESCOLAR-CASTELLÓN, J. L. (1967): Enclavamientos experimentales parcelarios del mesencéfalo (Aportaciones al síndrome clínico humano de descerebración). «An. Anat.», 16, 39, 445-523.
- PIA, H. W. (1952): Die Klinik der Schläfenlappengeschwülste. «Zbl. Neurochir.», 12, 217.
- (1957): Die Schädigung des Hirnstammes bei den raumfordernden Prozessen des Gehirns. «Acta Neurochirurgica». Suppl. IV, Wien/Springer.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1904): Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Imprenta y Librería Nicolás Moya. Madrid

J. L. BUENO LÓPEZ
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

**SOBRE LA PARTICIPACIÓN DE LA SUPERFICIE DE CONTACTO HIPOFISARIA EN MECANISMOS METABÓLICOS**

(Expresión en el gato de una distrofia experimental y de fenómenos de autoagresión renal)

POR

J. ESCOLAR, D. GARDEÑES y M.^a A. ESCOLAR-CASTELLÓN

LA neurosecreción liberada en el tracto hipotálamo-hipofisario (BARGMAN, 1949), una vez que ha sido transformada por la glía es absorbida en parte por la circulación a través del endotelio capilar, sirviendo así a la producción de vasopresina, adiuiretina y oxitocina, cuyos clásicos mecanismos y problemas de acción caen en el campo de la Fisiopatología. Otra parte de la neurosecreción es transportada y acumulada en la misma superficie de contacto neuroadenohipofisaria (SPATZ, 1951, 52, 53, 55, etc.; DIEPEN, 1962). A través de esta superficie de contacto se suceden fenómenos de transporte normal, tanto de la neurosecreción hacia el lóbulo medio como de células basófilas y neutrófilas desde dicho lóbulo hacia el posterior, sobre todo en casos de alteración metabólica por hambre y sed (SARRAT, 1967) a la par que la cantidad global de neurosecreción depositada puede alterarse en estos estados de privación (ORTMANN, 1951). En tales condiciones las variaciones de la neurosecreción obedecen a un estado especial de alarma (por el posible déficit de hidrocarbonados), lo que obligará a la participación de la suprarrenal en un mecanismo de neoglucogénesis a expensas del metabolismo de proteínas y lípidos, desencadenado en la adenohipofisis con la producción de ACTH o bien por otros mecanismos menos conocidos.

La superficie de contacto, como es clásico (SPATZ, 1951), ofrece al máximo estos mecanismos de transporte de neurosecreción, a nivel del pars infundibular, que establece el "Relay" apropiado en la producción de TSH, ACTH y FSH. En esta zona y nivel es don-

de resulta quedar localizado aquel tejido inductor precordial de WEISS (1934) que en un principio había atraído emigraciones de la caverna adenohipofisaria durante el desarrollo del primordium embrionario. Después, dicho tejido inductor actuaba secundariamente para organizar nuevas matrices de proliferación que producían sucesivamente células neutrófilas y basófilas, resultando las acidófilas en último término (ESCOLAR-CASTELLÓN, M.^a A., 1976).

La zona matriz de nuestra referencia pudo ser dislocada experimentalmente en el gato adulto (ESCOLAR y col., 1976) y también coagulada (ESCOLAR y col., 1956-57; DANIEL y col., 1956-57), resultando alteraciones metabólicas, expresables en cuadros clínicos diversos donde dominaba la distrofia adiposa genital tipo FRÖHLICH (1901), si bien menos frecuentemente se advertían casos de diabetes insípida, llegando en fin a algunas distrofias más raras de definir con apariencia de la autoagresión renal, como refieren clásicamente ANDERSON (1966), GUYTON (1971), FARRERAS (1972), etc.

Ello mueve a analizar una vez más el abundante material experimental y de desarrollo embrionario que se va acumulando desde hace tiempo por los autores de este trabajo, pues ahí se ofrecen significaos fisiopatológicos relacionables con el metabolismo.

Material y métodos

Todo ello se refiere a actuaciones experimentales en la superficie de contacto adenoneurohipofisaria, que puede ser despegada por distorsión (ESCOLAR y col., 1976), que puede ser coagulada (ESCOLAR y col., 1956), que puede, en fin, ofrecer aspectos de desarrollo que expliquen algunas de sus capacidades en estado adulto (ESCOLAR-CASTELLÓN, M.^a A., 1976). Del material empleado, pues, ya se habló en los trabajos referidos.

En cuanto al *despegamiento de la superficie de contacto por distorsión*, se requiere un cuchillo (HALASZ y col., 1965) cuyo vástago en forma de aguja ofrece un extremo oblicuo cortante (fig. 1) (X), que aplicado con las apropiadas medidas del aparato estereotáxico (ESCOLAR, 1954), llega al área hipofisaria, alrededor de la cual, por rotación del dispositivo, puede realizar una transección cónica que aisle el bloque de los componentes hipofisarios respecto del resto del hipotálamo. Como el cuchillote no puede seccionar fácilmente algunos tejidos consistentes, como ocurre fundamentalmente a la adenohipófisis, ésta queda empujada y un tanto dislocada (fig. 7), despegándose la superficie de contacto en una cierta extensión y nivel, como puede referirse en un patrón normal (figura 3). Dicha técnica ha conseguido lesiones más sencillas y cla-

ras que con la electrocoagulación clásica, pues con ésta resulta un problema determinar la amplitud y lugar de la lesión hipofisaria producida, sobre todo el estado funcional de los tejidos hipofisarios que circundan la coagulación. La distorsión de la zona hipofi-

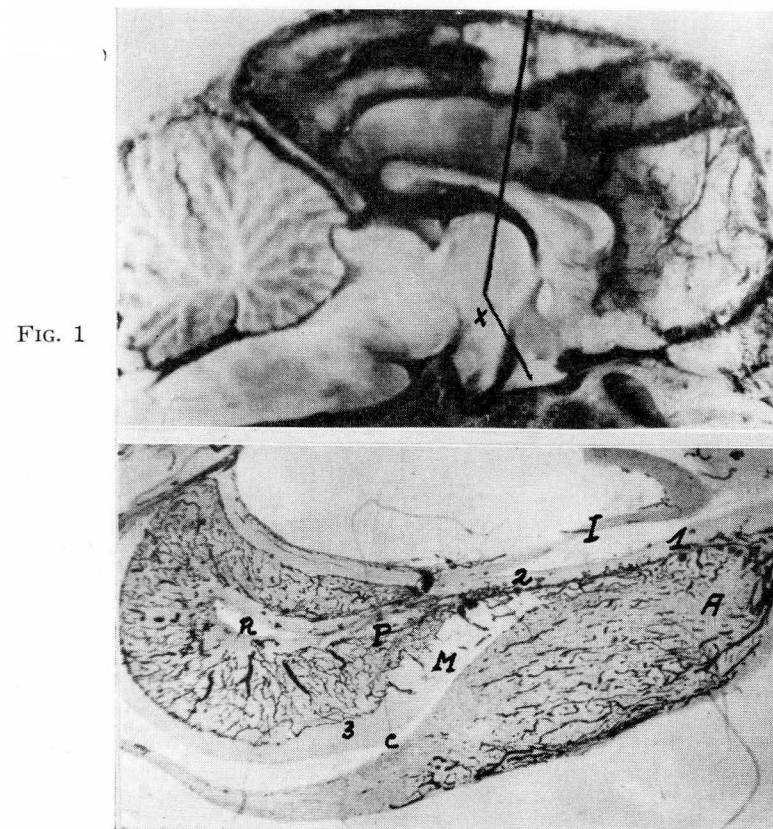


FIG. 1

FIG. 2

FIG. 1. — Cuchillote de transección (X) in situ.

FIG. 2. — Superficie de contacto normal, perfundida a la tinta china, ofreciéndose en distintos niveles: (1) Pars infundibular. (2) Confluencia vascular de los tres lóbulos. (3) Superficie circunvalar para el lóbulo medio. (En cualquiera de estos tres niveles la dislocación es factible). (I) Infundíbulo. (R) Receso infundibular. (C) Caverna adenohipofisaria. (A) Lóbulo anterior. (M) Lóbulo medio. (P) Lóbulo posterior. (60×).

saria fue realizada en 15 gatos jóvenes. El lóbulo anterior fue distorsionado en 7 casos, resultando rota la caverna hipofisaria. De estos casos, 3 presentaban además la superficie de contacto claramente separada y una neovascularización regenerante. El lóbulo

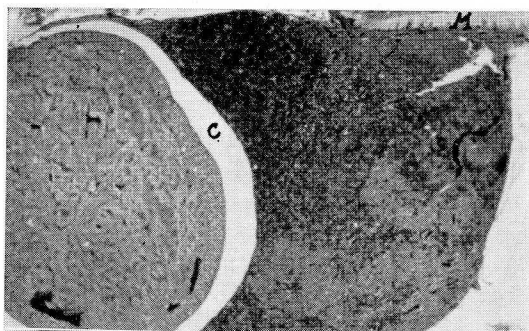


FIG. 3



FIG. 4

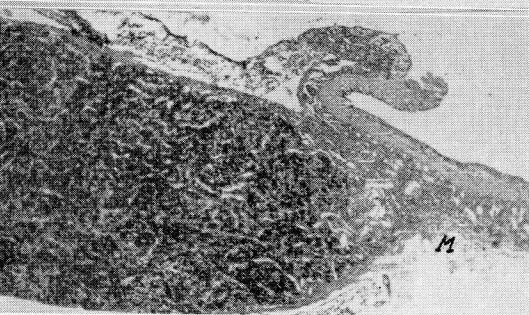


FIG. 5



FIG. 6

medio estaba más o menos fragmentado, pero siempre muy engrosado (fig. 7). Este material se detalló en Comunicación (ESCOLAR, GARDEÑES y ESCOLAR-CASTELLÓN, 1976) a Rostock (D.D.R.) en la 71 Reunión de la Sociedad Anatómica de Habla Alemana.

La *coagulación a nivel de la superficie de contacto* hace tiempo que fue puesta en evidencia por DANIEL y col. (1956-57), así como por ESCOLAR y col. (1956-57). La superficie de contacto quedaba así destruida a nivel del pars infundibular hipofisario y lo mismo la matriz de la adenohipófisis. El transporte de la neurosecreción quedó dificultado, pues el cabo distal perdía en los casos crónicos su capacidad neurosecretora (aunque el cabo proximal la exacerbaba en principio). Por ello, el transporte a través de dicha coagulación era posible. En consecuencia, se producía allí un acúmulo neurosecretor y proliferación de cabo proximal que aparentaba una regeneración neurohipofisaria que acababa fallando, pues no iba acompañada de la paralela regeneración adenohipofisaria donde acabase la arborización, como en otras ocasiones también se demostró (GONZÁLEZ-CARRASCOSA, 1958).

El *desarrollo de la superficie de contacto* así como sus capacidades, tanto inductoras como proliferantes, quedaban en manifiesto en el material de estudio embriológico utilizado por ESCOLAR-CASTELLÓN, M.^a A. (1976), donde en primeras fases se aprecia el aspecto de la zona precordial inductora de WEISS (1939), que queda entre la adeno- y la neurohipófisis a nivel del pars infundibular, que recibe las emigraciones de la caverna adenohipofisaria en fase de primordium, apreciando después en fases más avanzadas como si esta zona inductora estimulase esas emigraciones allí acumuladas, para que sirvan de matriz proliferadora de células fundamentalmente neutrófilas y basófilas, resultando en último término las acidófilas.

FIG. 3. — Los grupos acidófilos están alejados de la matriz (M) y en contacto con la caverna (C). Los grupos basófilos son más claros, permitiendo destacar la oscuridad de los acidófilos. La distribución de este caso se ajusta a un patrón normal con un cierto dominio basófilo (60×).

FIG. 4. — Se cortó totalmente el infundíbulo observándose la cicatriz (X), el encapsulamiento de la matriz (M), la retracción del lóbulo posterior (P), con hipertrofia del medio (Gato 14) (60×).

FIG. 5. — Se seccionó totalmente el tracto supraóptico hipofisario. La matriz (M) se encuentra infiltrada y atrófica (Gato 1) (60×).

FIG. 6. — Se seccionó parcialmente el tracto supraóptico-hipofisario a nivel del pars infundibular (I) con separación de la superficie de contacto, destrucción de buena parte del lóbulo anterior (A), retracción del lóbulo posterior (P), e hipertrofia del lóbulo medio (M) (60×).

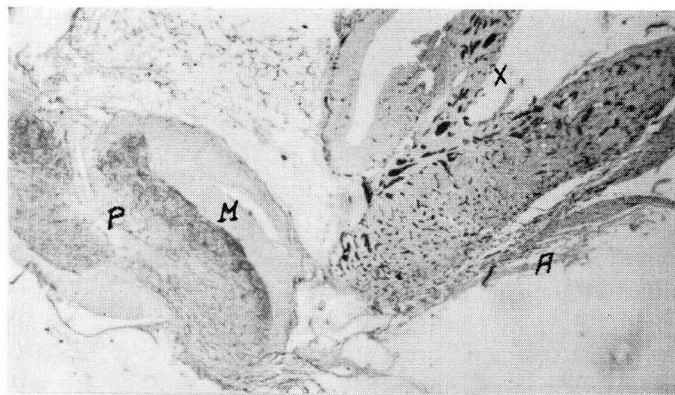


FIG. 7

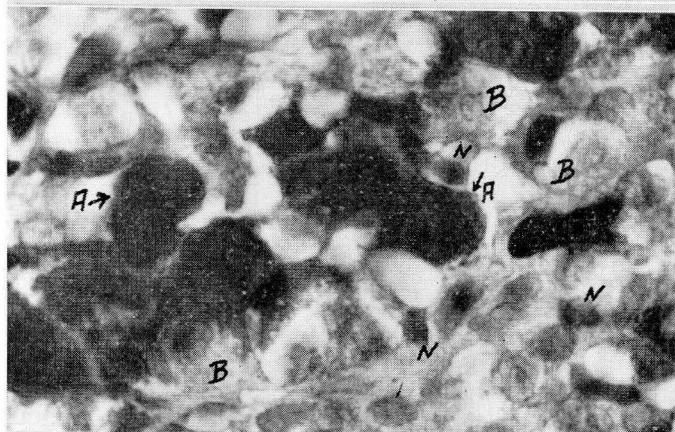


FIG. 8

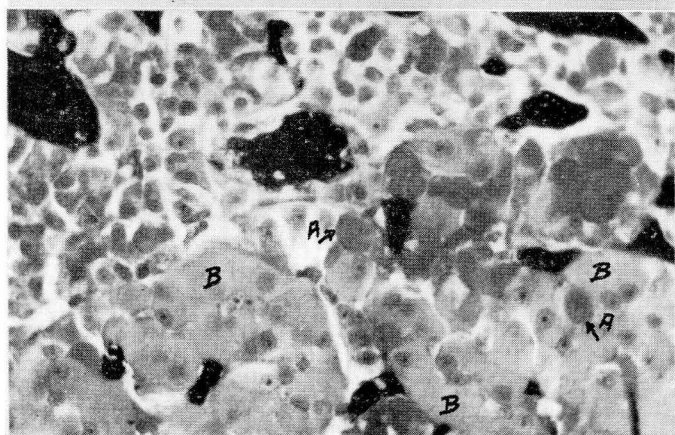


FIG. 9

Hallazgos

En la distorsión referida resultaba que el tracto hipofisario estaba cortado totalmente en 2 casos a nivel del pars infundibular; en otros 6 casos dicho tracto era cortado parcialmente y se complicaba a veces con trastornos circulatorios de la superficie de contacto a nivel del pars infundibular, lo que repercutía en la nutrición de la adenohipófisis, que quedaba infartada (fig. 6). Las alteraciones de la neurosecreción fueron estudiadas a lo largo del trayecto del tracto infundíbulo-hipofisario. Cuando la interrupción era total, la pérdida de la neurosecreción era absoluta y el lóbulo posterior aparecía totalmente atrófico (fig. 4). En contraste, la reacción "Gabe" existía en algunas células del lóbulo anterior. En cuanto a la interrupción parcial del tracto se ofrecía una neurosecreción disminuida (fig. 7), si bien a nivel de la superficie de contacto es donde más se conservaba, con un discreto transporte hacia el lóbulo medio, algunas de cuyas células ofrecían esta reacción "Gabe". A nivel del "pars" este fenómeno también podía observarse.

Las células adenohipofisarias ofrecen en el lóbulo anterior una topografía patrón referida a la matriz (M) de la superficie de contacto por una parte y a la caverna adenohipofisaria por otra. Los grupos acidófilos (A) están alejados de la matriz (M) y en contacto con la caverna (C). Los grupos basófilos son más claros, permitiendo destacar la oscuridad de los acidófilos. Aunque la distribución en este caso se ajuste a un patrón normal, hay un cierto dominio basófilo, quizá relacionable con un estado de ligera irritación de la matriz (¿por rasgadura?). En caso de una distorsión hipofisaria (fig. 4) con cicatriz (X) que corta totalmente el tracto y encapsula la matriz, privándola prácticamente de efecto migratorio, apenas existen células basófilas, dominando las acidófilas en oscuro.

En el caso de matriz atrófica (M) (fig. 5) por circunsección completa del infundíbulo, está prácticamente ausente la agrupación celular basófila. En el caso, en fin, de gran distorsión del lóbulo anterior (fig. 7), la matriz adenohipofisaria apenas se lesionó, ex-

FIG. 7. — Se dislocó el lóbulo anterior (A), con separación de la superficie de contacto (X). El lóbulo posterior (P), ofrece aún algo de neurosecreción en la superficie de contacto con el lóbulo medio (M), que aparece hipertrofiado (80×).

FIG. 8. — Células acidófilas (A), basófilas (B) y neutrófilas (N) de un patrón normal (700×).

FIG. 9. — Células acidófilas (A). Células especiales de apariencia basófila (B) y neutrófilas (N), en una adenohipófisis (500×) muy distorsionada (Gato 15).

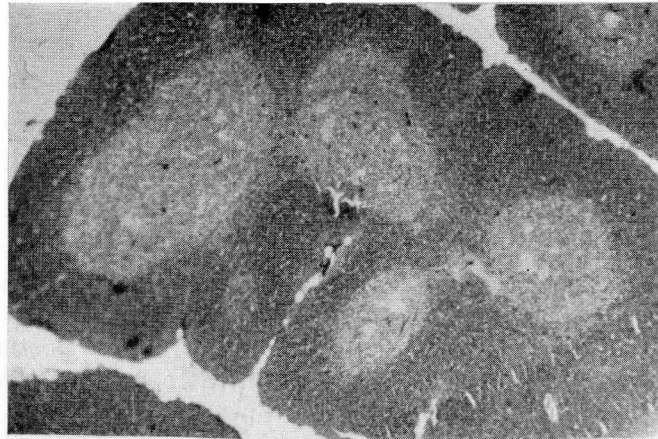


FIG. 10

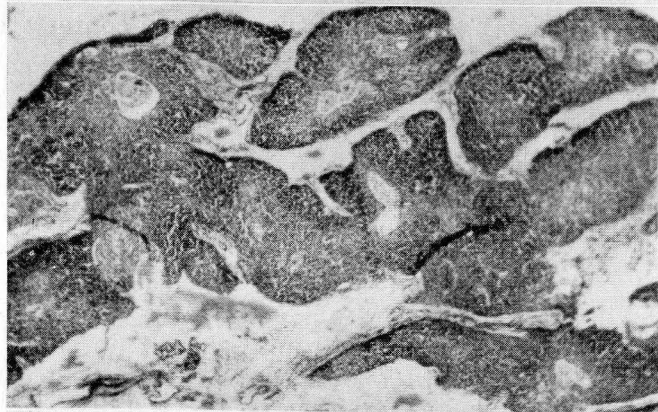


FIG. 11

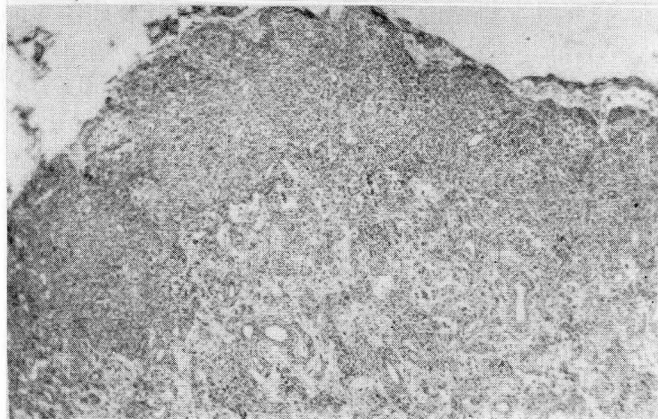


FIG. 12

FIG. 10. —Timo en patrón normal (80×).

FIG. 11. —Timo en estado regresivo (80×).

FIG. 12. —Timo proliferante muy alterado del gato 1 (100×).

cerbándose como se puede apreciar, por el dominio de células neutrófilas (fig. 9), algunas acidófilas (A) escasas, contrastando con un dominio de células de gran protoplasma de aspecto especial y apariencia basófila (B) que recuerdan el mismo aspecto de células que existían en la cicatriz de coagulación de la superficie de contacto (ESCOLAR, 1956) y que correspondían a cuadros encontrados de distrofia adiposo-genital.

La *columna vertebral en crecimiento* ofrece su matriz entre sus dos núcleos proliferantes de osificación primario y secundario del cuerpo vertebral, que infiltran dicha matriz mediante radiaciones vasculares previas. En dos casos (en que la neurosecreción faltaba completamente) la infiltración vascular de la matriz parecía detenida en una línea separatoria; pero estos datos no pueden tenerse en cuenta mientras no se disponga de más material.

El *timo* se ofrece en casi todos estos casos de gatos jóvenes con lóbulos gruesos repletos de linfoblastos y cuerpos de Hassall (fig. 10). En los dos casos que acabamos de señalar, donde faltaba la neurosecreción se ofrecía un timo en atrofia precoz con considerable disminución de sus linfoblastos (fig. 11). Hemos de mencionar también un caso de profunda alteración tímica proliferativa (fig. 12) rellenable con signos de autoagresión renal.

Las *suprarrenales* ofrecen en casi todos los casos transformación regresiva. No obstante, uno ofrecía transformación progresiva intensa relacionable con aquellos signos referidos de autoagresión renal.

El *tiroides* domina en su aspecto normal. En tres casos en que la superficie de contacto estaba separado, ofrecía cierta transformación regresiva, coincidiendo en dos de ellos con el cuadro de distrofia, tipo Fröhlich. Hay un caso de regresión tiroidea intensísima (fig. 18) donde habían desaparecido todas las células epiteliales, conservándose sin embargo la luz, coincidiendo con el caso referido de autoagresión renal.

El *riñón* ofrece aspectos diferentes de alteración: (A) alteración masiva de autoagresión glomerular (ANDERSON, 1966); (B) alteración del glomérulo renal y del asa de Henle manifiestas; (C) alteraciones manifiestas y de vacuolización del asa de Henle, y (D) sin alteraciones.

En el único caso observado de alteración masiva de autoagresión glomerular (fig. 17) todos los glomérulos ofrecen profundos grados de alteración; unos, sin asas vasculares ya, aparecen repletos de grandes células parenquimatosas oscuras, posibles podocitos (fig. 13); otros glomérulos han quedado completamente reabsorbidos dejando una señal de cicatriz clara (fig. 17). El aparato yuxtglomerular ha desaparecido en todos. La adrenal en transforma-

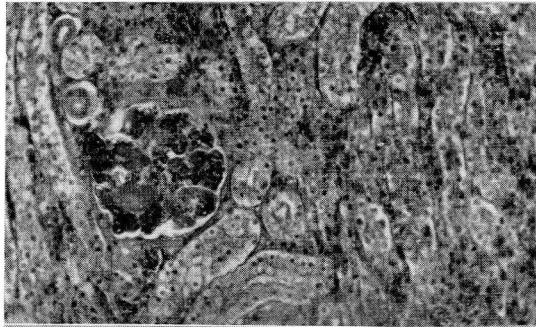


FIG. 13

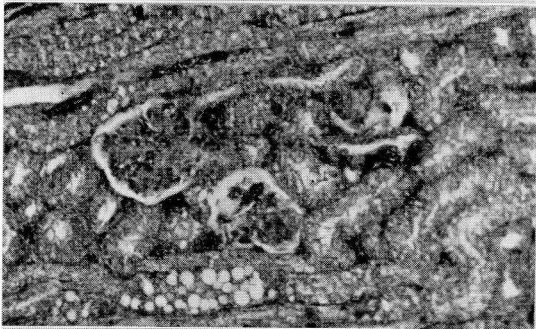


FIG. 14



FIG. 15

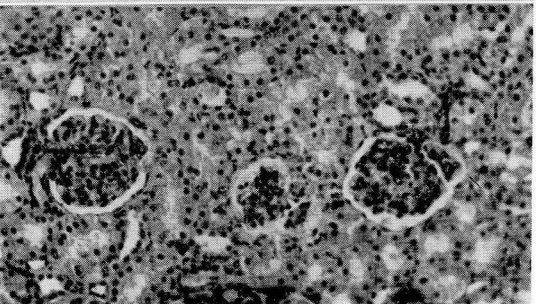


FIG. 16

ción progresiva, no ofrece capa glomerular alguna. El tiroides tiene sus luces vesiculares, pero ha desaparecido todo vestigio epitelial (fig. 18). El timo ofrece una intensa alteración proliferativa destructiva (fig. 12). No hay neurosecreción y la matriz de WEISS (1939) está francamente atrofiada (fig. 5).

En el segundo grado de alteraciones glomerulares y asa de Henle (fig. 14) el aparato yuxtaglomerular es difícil de reconocer. La capa glomerular de la adrenal es ya observable, aunque menos gruesa que en el caso de la adrenal normal. El tiroides ofrece ligera transformación regresiva. El timo, cierto estado de atrofia. La neurosecreción escasea. La matriz de WEISS (1939) en la superficie de contacto ofrece cierto estado proliferativo y en algún caso rodea a la adenohipófisis (fig. 9). En el caso de alteraciones vacuolares limitadas al asa de Henle, el aparato yuxtaglomerular es perfectamente reconocible, mientras que la adrenal glomerular se ofrece muy manifiesta, lo cual está en relación con las observaciones que en otras circunstancias pudo hacer RODRÍGUEZ (1970).

Consideraciones y discusión

El síndrome de FROEHLICH (1901) y NETTER (1970) estaba muy claramente expresado en dos de aquellos casos donde se separó la superficie de contacto por distorsión; además, en nuestro material antiguo de coagulación (ESCOLAR y col., 1956) había dos casos más de distrofia de FRÖHLICH (1901) cuando esta coagulación se refería a la superficie de contacto. En unos y otros casos la superficie de contacto queda separada y el transporte de la neurosecreción a través de ellas se hace prácticamente imposible. La separación que indicamos en la superficie de contacto perturba la actividad de la matriz adenohipofisaria de WEISS (1939), lo que explica que en unos casos ésta está atrófica (fig. 5), encapsulada por cicatriz (figura 4), ligeramente estimulada (fig. 3) o bien exacerbada atípicamente, dando lugar al dominio de células gigantes de reacción aparentemente basófila (fig. 9), lo cual está en relación con el cuadro adiposo-genital de Fröhlich.

FIG. 13. — Glomérulo (500 ×) muy alterado (Gato 1).

FIG. 14. — Glomérulo (500 ×) apreciablemente alterado y asas de Henle con enorme vacuolización.

FIG. 15. — Glomérulo (500 ×) bastante conservado con aparato yuxtaglomerular reconocible. Asas de Henle muy vacuolizadas.

FIG. 16. — Aspecto normal del parénquima renal con glomérulo (500 ×), aparatos yuxtaglomerulares, túbulos y asas, sin alteración ostensible.

En este material de distorsión de 15 casos no hemos tomado datos postoperatorios sobre posibilidad de diabetes insípida, aunque sí existían datos de dicha enfermedad en los casos experimentales de coagulación (ESCOLAR y col., 1957).

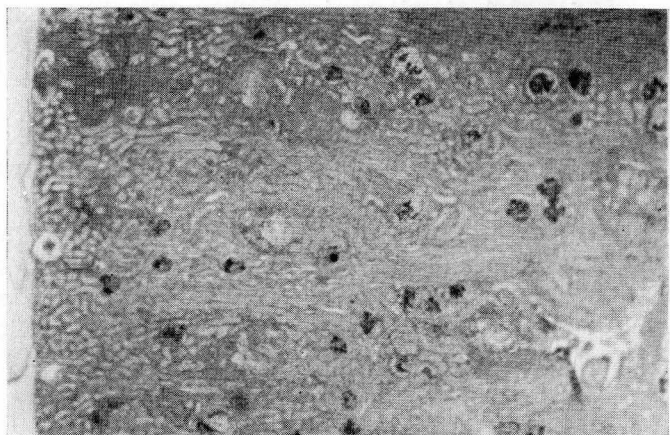


FIG. 17

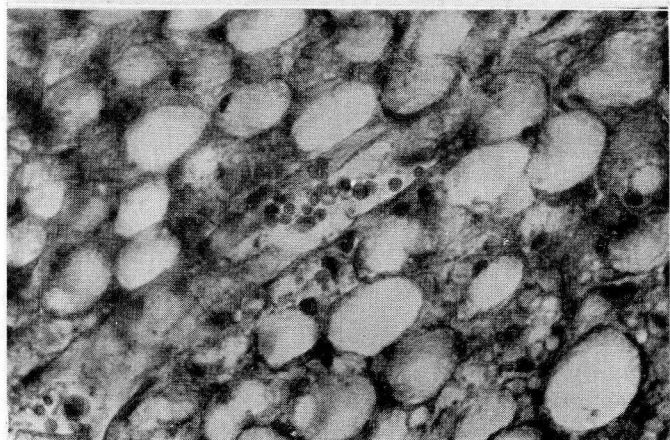


FIG. 18

FIG. 17. — Parénquima renal (80 ×) ofreciendo preferente alteración de todos sus glomérulos (Gato 1).

FIG. 18. — Tiroides (1.000 ×) en intenso grado regresivo donde ha desaparecido prácticamente todo el epitelio de sus vesículas, conservándose sin embargo las luces (Gato 1).

Alteraciones glomerulares del riñón también son observables. No sólo el caso referible de autoagresión renal (ANDERSON, 1966), en el que junto a una glomerulonefritis selectiva y generalizada existía irritación tímica y destrucción del tiroides. También había casos de alteración glomerular menor intensa, si bien no en su-

ficiente proporción para ser considerados aquí, pero como incentivo de futuros trabajos.

Conclusiones

El que la superficie de contacto se separe experimentalmente significa que se perturba el transporte de la neurosecreción a su través (aparte que se haya podido también seccionar el tracto supraóptico-hipofisario que fundamenta su producción). También significa que la matriz adenohipofisaria de Weiss se perturbe, bien alterándose y produciendo células gigantes con reacción de apariencia basófila coincidentes en la distrofia de Fröhlich, o bien atrofiándose y coincidiendo con algunos casos de alteración renal entre los que se cita un sólo caso con un cuadro de autoagresión cuyo mejor estudio obliga a sucesivos planteos.

Summary

The classic method of partial coagulation in the hypophysis was replaced, by the distortion knife of HALASZ (1965), whose oblique end produces one conic transection surrounding the hypophyseal area. After this intervention was performed the anterior lobe results to be dislocated in many cases. Meanwhile, the contact surface between both lobes was separated and the adenohipophyseal matrix was altered. The hypothalamic-hypophyseal tract was sectioned in many cases too.

In this situation the transport of the neurosecretion throughout the separated contact surface was difficulted, and also the cellular proliferation in the anterior lobe. A Syndrome of Fröhlich-distrophy was also shown in relationship to hyperproliferated basophyle cells. There are also different alterations of the nephrons, thymus and thyroid gland to be related with the atrophy of the Matrix of adenohipophyseal cells.

Zusammenfassung

Die Neurosekretions-Mangel und die zerstörte Hypophysenmatrix nach Weiss, in einer getrennten Kontaktfläche, gründet tiefe Veränderungen der basophylen Zellen, was Stoffwechselsstörungen, nach der Literatur verursachen. Die riesige basophilen Zellen, oder die Mangel solcher Zellen, können zu einem «Fröhlich» oder zu einem «Autoagressions-Syndrom» führen. Die Antwort ist blöss ein Grund um diese Arbeit zu verfolgen.

Résumé

Les altérations de la matrice hypophysaire de Weiss et du transport de la neurosecrétion, motivées par la séparation expérimentelle de la surface de contact interhypophysaire, fondamentent les profonds changements de les cellules basophyles (les quelles, selon l'actuelle littérature, participent dans le métabolisme). La production de cellules basophyles géantes, ou la

disparition de tout vestige cellulaire, peut conduire bien vers le syndrom dystrophique de Fröhlich ou bien vers le syndrom d'autoagression de Anderson. On a besoin plus encore de matériel pour préciser de conclusions.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, W. (1966): Autoinmunidad. Tratado de Patología. 5.^a edición. 493-496.
- BARGMANN, W. (1949): Über die neurosekretorische Vernüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. «Z. Zellforsch.», **34**, 610-634.
- DANIEL, P. M., and M. L. PRICHARD (1956): Anterior pituitary necrosis. Infarction of the pars distalis produced experimentally in the rat. «Quart. J. exp. Physiol.», **41**, 215-229.
- DIEPEN, R. (1962): Hypothalamus, IV Bd. Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen (W. v. Möllendorf). Berlin-Göttingen-Heidelberg. Springer.
- ESCOLAR, J. (1954): Aportaciones a la topometría encefálica comparada. «An. Anat.», **3**, 171-186.
- (1956): Neuroendocrine Reaktion bei dem partialem Stereotaxis des Hypothalamus und Hypophyse, 53, Vers. Anat. Gesell. Estocolmo.
- und J. M.^a SMITH-AGREDA (1957): Folgen von Kastrationen kombiniert mit experimentellen Hypophysenläsionen. «Anat. Anz. Erg. Bd.», **104**, 375-381.
- , L. GARDEÑES und M.^a A. ESCOLAR-CASTELLÓN (1976): Experimentelle Distorsionen in der Hypophyse bei der jungen Katze in Beziehung zu nachfolgenden transformationen des Endokrin Systems. 71. Vers. Anat. Gessell. Rostock. Abril.
- ESCOLAR-CASTELLÓN, M.^a A. (1976): Aportaciones al desarrollo somático (Un paralelo entre el substrato hipofisario con las matrices esqueléticas y nefrales durante el desarrollo intrauterino). «An. Anat.», **61**, 37-74.
- FARRERAS, P. (1972): Autoinmunidad y enfermedad. «Medicina Interna». Tomo II, 1069-1071.
- y C. ROZMAN (1972): Síndromes vegetativos diencefálicos (hipotalámicos) lesionales. Síndrome adiposogenital de Babinsky-Fröhlich y afines. «Medicina Interna». Tomo II, 303-304.
- FRÖHLICH, H. (1901): Ein Fall von Thumor der Hypophyse ohne Akromegalie. «Wien. Klin-Rundsch», **15**, 883.
- GONZÁLEZ-CARRASCOSA, R. (1958): Regeneración de la hipófisis relacionada con desequilibrios hormonales. «An. Anat.», v. 7, 325-345.
- GUYTON, A. C. (1971): Autoinmunidad. Tratado de Fisiología Médica. 4.^a edición, pág. 133.
- (1971): Función del timo en la inmunidad. Tratado de Fisiología Médica. 4.^a edición, pág. 132.
- HALASZ, B., and L. PUPP (1965): Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotropic area. «Endocrinology», **77** 553-582.
- NTTER, F. H. (1970): Adiposogenital Dystrophy. The Ciba Collection of Medical Illustration, pág. 16.
- ORTMANN, R. (1951): Über experimentelle Veränderungen der Morphologie des Hypophysen-Zwischenhirns-Systems und die Beziehungen der sogenannten Gomori-Substanz zum Adiuretin. «Z. Zellforsch.», **36**, 92-140.

- RODRÍGUEZ, S. (1970): Transformaciones del aparato yuxtglomerular del riñón y corteza suprarrenal bajo la acción de la vasopresina. «An. Anat.», **19**, 53-59.
- SARRAT, R. (1967): Modificaciones de la pars intermedia y posterior de las hipófisis producidas por el hambre y sed. «An. Anat.», **16**, 59-98.
- SPATZ, H. (1951): Neues über die Verknüpfung von Hypophyse und Hypothalamus. «Acta Neuroveg. Wien», **3**, 5-49.
- (1952): Neues über das Hypophysen-Hypothalamus System und die Regulation der Sexualfunktionen. «Rogenburg. Jb. ärzt. Fortbild.», **2**, 311-332
- (1953): Das Hypophysen-Hypothalamus System in seiner Bedeutung für die Fortpflanzung. «An. Anz. Erg.-Bd.», **100**, 46-86.
- und V. GAUPP (1955): Hypophysenstieldurchtrennung und Geschlechtsreifung. «Acta Neuroveg. Wien», **12**, 285-328.
- WEISS, P. (1939): Principles of development. H. Holt. Co. New York.

Prof. J. ESCOLAR
Departamento Anatómico Universitario
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

MODIFICACIONES ESTRUCTURALES DEL SISTEMA ESQUELÉTICO EN CONDICIONES EXPERIMENTALES⁽¹⁾

POR

C. GASCÓN⁽²⁾

Introducción

QUIZÁS sobre pocos campos de la economía se tienen tan extensas referencias bibliográficas como las que hay sobre el sistema esquelético. No por ello dejan de existir lagunas en los diversos apartados en que éste se divide para su estudio sistemático. Sobre algunos de ellos pensamos intervenir en nuestros estudios experimentales, fundándonos en los trabajos realizados, que venimos en agrupar de la siguiente forma:

A) Trabajos realizados propiamente en el hueso

a) *Macroscópicos*: La escuela clásica alemana presenta estudios fundamentales del hueso, concretamente de la ordenación trabecular, tal es el caso de MEYER (1921), HASSELWANDER (1926), así como en relación de la transmisión de las líneas de fuerza, de un innegable aplicativo, SPALTEHOLZ (1929); LANZ, T. VON y WACHSMUT (1938), WYSS (1948) y SCHINZ (1935).

b) *Embriológicos*: Uno de los apartados de nuestro mayor interés va a ser el referido al desarrollo prenatal y postnatal del sistema esquelético, habiendo servido de referencia, de una manera general, los clásicos de la embriología MOSSMAN, H. W. (1937); STEARNS, D. (1940); BOYD, J. D. (1941); NOBACK (1944); LACROIX (1945); HAMILTON, W. J. (1945); BRADLE y M. PATTEN (1962); ESCOLAR, J. (1973), y en problemas especializados, BARDEEN, C. R. (1905), que hace un estudio sobre los diversos aspectos del desarrollo del

(1) Resumen de la Tesis doctoral dirigida por el profesor R. Sarrat. Realizada en el Departamento de Anatomía. Leída el 16 de julio de 1975. Calificada de Sobresaliente "cum laude".

(2) Prof. encargado de curso del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina de Bilbao. Director: Prof. R. Sarrat.

esqueleto humano, y DAVIES, D. V. (1945), sobre Anatomía y Fisiología de la articulación diartrodial.

NOBACK, C. R., y ROBERTSON, G. C. (1951) señalan la aparición de los centros de osificación en el esqueleto humano durante los cinco primeros meses prenatal, y del mismo modo SISSONS, H. A. (1956), y PRATT, C. (1957), estudian el crecimiento del hueso, bajo la influencia de los factores intrínsecos y extrínsecos; HADLEY (1956) subraya la importancia de los centros de osificación secundarios, y BASSET, A. L. (1962), en un estudio de actualidad, concreta los conceptos fundamentales de la formación del hueso.

c) *Histoquímicos y bioquímicos*: En las últimas décadas, con el desarrollo de las técnicas histoquímicas, se han aportado interesantes datos sobre nuestro tema; y así, ROBISON, R. (1932) trata sobre la importante significación de los ésteres fosfóricos en el metabolismo; GOMORI, G. (1943) resalta la relación, calcificación y fosfatasa alcalina; DANIELLI, J. F. (1945) hace una descripción detallada de las técnicas a utilizar en la determinación de la fosfatasa alcalina; GOMORI (1952) concreta los principios y prácticas histoquímicas a nivel del hueso; BOURNE, G. H. (1956) puntualiza la relación fosfatasa alcalina y hueso; WILKINSON, J. H. (1965) y HIRS, C. H. W. (1967) en sus tratados generales introducen los métodos al diagnóstico enzimático.

SARRAT (1968) detecta la actividad fosfatasa alcalina en diversos órganos, concretándose al esqueleto; y posteriormente SARRAT (1970) estudia la actividad de la fosfatasa alcalina del esqueleto en desarrollo y también algunas transformaciones del cuerpo vertebral y su disco en animales sometidos a dietas carenciales (SARRAT, 1971).

Con igual paralelismo se suceden una serie de trabajos histoquímicos e histofisiológicos sobre la calcificación y osificación del hueso, como los de Mc LEAN y BLOMM (1940), HAM (1952), BOURNE (1956) y MEYER (1956), que estudian la estructura y metabolismo del hueso, en relación con los mucopolisacáridos, y SCHAJOVICZ (1958) resalta la importancia del glucógeno en la osificación y calcificación.

d) *Micro- y autorradiográficos*: Con los estudios iniciales de ENGSTROM, A. (1949), y posteriormente de AMPRINI, R. (1952), los métodos microrradiográficos nos han permitido reconocer la densidad de los constituyentes minerales por unidad de volumen y la distribución de las sales minerales del hueso.

Surgen investigaciones más recientes con LEBLOND, GRENLICH (1956) y SISSONS (1959) con la valoración cuantitativa del mineral del hueso y la valiosa información de la localización, con el empleo de isótopos radiactivos.

DHEM y VINCENT (1965) y LACROIX (1969) publican un análisis microrradiográfico del esqueleto de huesos largos, cuya investigación fue acogida como un estudio para la publicación microrradiográfica de la patología ósea de tejidos calcificados.

B) Trabajos realizados propiamente en el cartílago hialino

En este sentido se encuentra abundante bibliografía, referida al cartílago articular y zona de crecimiento epifisario usando diversos procederes: morfológicos, histoquímicos, bioquímicos, fluorescentes, etc., bajo condiciones fisiológicas y patológicas.

Con objeto de tener un concepto amplio y encuadrar nuestra experiencia, lo estudiamos en las siguientes facetas:

a) *Complejo proteínas-mucopolisacáridos*: Las proteínas y los mucopolisacáridos han sido reconocidos durante muchos años como los mayores constituyentes de la sustancia extracelular del cartílago. En este sentido, HJERTGUIST (1964) manifiesta que los mucopolisacáridos están presentes en el tejido cartilaginoso, formando complejos protein-mucopolisacáridos. Son también de gran ayuda los trabajos de SMITH (1967), GEER (1968) en el esclarecimiento de los elementos estructurales y la distribución de los mucopolisacáridos. WANKEN (1969) estudia los cambios de la actividad metabólica en la epífisis utilizando el isótopo radiactivo stroncio 87.

En este orden, la recopilación de observaciones de SAJDERA (1969), SMITH (1970), FOLDE (1970) indican que las proteínas sometidas a procesos de síntesis se encuentran, sobre todo en la sustancia intercelular, como proteínas estructurales que van a formar las microfibrillas y fibrillas de colágeno.

El colágeno es requerido, según LAVIETES (1971), lo mismo que el condroitinsulfato, para formar una matriz cartilaginosa, estructura compleja, donde se encuentran sumergidos los elementos figurados (proteínas estructurales).

En la escápula y costilla de ternera sin contaminación celular, VITTUR (1971) estudia la composición química de las zonas funcionales de la matriz cartilaginosa.

En relación con la organización de la matriz extracelular en la placa de crecimiento epifisario, EISENSTEIN (1971), utilizando perros de tres a seis semanas y ratón recién nacido, distingue tres tipos de mucopolisacáridos, diferenciados en el entrecruzamiento de las cadenas. PLENK (1973), en la placa de crecimiento epifisario de las ratas, estudia los cambios y composición de estos mucopolisacáridos.

b) *Complejo fosfolipídico*: Tenemos que remontarnos a los trabajos de ROBINSON (1923, 1932), CARTIER (1952) y otros autores, que sugieren que el mecanismo de calcificación en el cartílago es enzimático, jugando un gran papel los ésteres fosfóricos. Así, PRITCHARD (1952), ZAMBOTTI (1962) y IRVING (1964), por medio de estudios histoquímicos y bioquímicos, muestran que la acción enzimática de la fosfatasa alcalina y adenosintrifosfatasa es más intensa en la zona hipertrófica de la placa epifisaria. KUHLMAN (1965), en su estudio sobre lisosomas del cartílago epifisario, demuestra que la actividad de la fosfatasa ácida está presente en el citoplasma de los condrocitos epifisarios con localización, presencia y actividad máxima en la zona hipertrófica, dentro de membrana citoplasmática, desapareciendo en las zonas de degeneración y calcificación. IRVING y WUTHIER (1965), en estudios realizados con tinción de Sudán Negro B, sugieren la presencia de fosfolípidos en el lugar de la actividad calcificadora del cartílago epifisario. TERMINE, WATHIER y POSNER (1967) y WUTHIER (1968) observan un gran incremento del contenido lipídico durante la transformación de cartílago en reposo a cartílago osificado, así como IRVING y WUTHIER (1969) pensaron que en estos lugares ocurría la formación de un complejo proteínico-polisacárido-fosfolípido, el cual era el componente activo de la calcificación del hueso. HAVIVI (1959) indica que los fosfolípidos pueden servir como agentes de transferencia de cationes para las áreas de calcificación, fundamentalmente para el ion Ca^{++} . WOLINSKY y GUGGENHEIM (1970), en polluelos, estudia el contenido y composición lipídica y sus precursores, demostrando que la esterificación parece ser la ruta predominante en la síntesis lipídica en el hueso y cartílago.

c) *Microscopía de fluorescencia*: Estas técnicas de fluorescencia han sido desarrolladas y aplicadas a la zona de crecimiento epifisario, siendo adecuadas para detectar la dinámica en el proceso de la calcificación «in vivo», MILCH (1958) emplea por primera vez la tetraciclina, agente marcador del hueso que se está formando, para demostrar la localización del calcio en el hueso; sencilla e inofensiva técnica en la investigación para el estudio de la calcificación. Otros autores realizan investigaciones sobre el hueso laminar, y examinan la calcificación de la zona de crecimiento epifisario (HULT, 1962; STEENDIJK, 1964). El siguiente paso fue la aplicación de sustancias de fluorescencia diferentes, tetraciclina y fluoreceína en el mismo animal experimental; así, SUZUKI (1966), por este método, analiza la dirección y el crecimiento del hueso, y posteriormente MONIS (1969) utiliza tres sustancias fluorescentes: tetraciclina, alizarín y fluorezón en el mismo animal experimental.

d) *Microscopía electrónica*: Merecen destacarse los trabajos iniciales de MARTIN, A. V. (1953), sobre la estructura del colágeno en la matriz cartilaginosa, y los de ROBINSON y CAMERON (1956), SCOTT (1956) y TAKUMA (1960) sobre la zona de crecimiento epifisario y su evolución, así como GOODMAN (1960) que estudia la condrogénesis. Los gránulos hallados en los espacios intercelulares pegados a la membrana celular parecen intervenir en la formación del agregado final. Del mismo modo, SILBERBERG (1964) y PALFREY (1966) aportan trabajos sobre la fina estructura y evolución cíclica de los condrocitos.

Observaciones posteriores de BONUCCI (1967) y MATUKAS (1967) revelan partículas membranosas dentro de la matriz del cartílago de osificación, cuyos depósitos fueron identificados con la hidroxapatita.

e) *Histoquímica y bioquímica*: KNESE (1971) corrobora la hipótesis de que condrocitos con cisternas lagunares pueden sintetizar glicoproteínas estructurales.

En estos últimos años, EISENSTEIN (1970) utiliza lisozimas para estudiar la composición de la matriz, así como THYBERG (1970) y BONUCCI (1970) estudian la relación entre las vesículas de la matriz y el citoplasma. MATSUZAWA y ANDERSON (1971), trabajando sobre la placa epifisaria de ratones jóvenes, con métodos citoquímicos y microscopía electrónica, estudian la presencia y distribución de fosfatasa alcalinas, fosfatasa ácida y adenosin-trifosfatasa.

La fosfatasa alcalina y adenosin-trifosfatasa fue asociada con la membrana plasmática de los condrocitos y con las membranas de las vesículas de la matriz. La actividad de la fosfatasa ácida fue demostrada en el citoplasma de los condrocitos, asociada con cuerpos densos mayores que las vesículas de la matriz, y que estaban libres de la actividad de la fosfatasa alcalina y adenosin-trifosfatasa. En esta misma línea merecen citarse a THYBERG (1972), HOLT (1972) y OLSON (1972).

C) *Condiciones patológicas*

El mesénquima, en sus estudios de desarrollo embrionario, ofrece amplias posibilidades de expresión morfológicas, en los aspectos relativos a las variaciones de forma, de función y combinación de ambas. Las diversidades fisiológicas inherentes al crecimiento determinan que los procesos patológicos del esqueleto infantil se presentan con unos caracteres especiales, porque las condiciones del hueso en crecimiento facilita la aparición

de trastornos en la osificación y ejercen un decisivo influjo en su morfogénesis. En la infancia destacan la multiplicidad y el polimorfismo de las osteopatías.

En el terreno patobiológico actualmente se cree que la mayoría de las alteraciones morfológicas del tejido óseo son los trastornos enzimáticos. Resulta extraordinariamente interesante la influencia respectiva de los factores iónicos, hormonales o vitamínicos, en el desarrollo de las unidades metabólicas del hueso. La carencia específica de aminoácidos provoca retardo del crecimiento (MURDOCH y HOLMAN, 1964), evidenciándose radiográficamente excavaciones de las placas, formación de espolones, acumulación de líneas transversales. Indudablemente la vitamina D determina un aumento de la absorción del calcio y también induce la formación de una proteína con una elevada capacidad para fijar el calcio. Así, comprobaron WASSERMAN y TAYLOR en 1966, que cuando a polluelos raquícticos, se les administra vitamina D y cronológicamente se estudia la aparición de la proteína fijadora del calcio (PF Ca) con el método de valoración con la resina chelex-100, intercambiadora de iones, se aprecia una correlación temporal satisfactoria entre el aumento de la absorción del calcio y la actividad de fijación del calcio de la resina chelex, que representa la cantidad de PF Ca existente.

TRUETA, J. (1974) manifiesta que la interferencia en el crecimiento por los glucocorticoides se atribuye a la inhibición de la síntesis de las proteínas, y de este modo las células proliferativas del cartílago de crecimiento son incapaces de sintetizar ADN y quedan paralizadas en su división.

Planteamiento

A la vista de los antecedentes vamos a realizar un estudio sobre zonas concretas del esqueleto en desarrollo, en animales sometidos a dietas carenciales específicas. Pretendemos, al hacer un estudio global, ver:

A) Cómo se afecta con la dieta carencial absoluta el disco epifisario en sus distintos estratos, el cartílago articular, el núcleo epifisario y el disco intervertebral.

B) De qué forma una dieta unilateral (maíz) altera el desarrollo de las estructuras anteriores.

C) Hasta qué punto una dieta unilateral de maíz, más dosis supra fisiológicas de calcio y de vitamina D₃, pueden influir en la morfología del cartílago hialino.

D) Qué circunstancias pueden desencadenarse experimentalmente con dosis supra fisiológicas de corticoides en período prenatal y postnatal.

Material y métodos

Para resolver los puntos planteados en el capítulo anterior usamos ratas albinas (Wistar) de ambos sexos y diferentes edades, totalizándose un número de 350, unos controles y otras distribuidas en los siguientes lotes:

Lote A) Influencia de la dieta

Se reparten los animales en tres experiencias:

GRUPO 1. Animales sometidos a dieta absoluta, dándoles para beber suero fisiológico «ad libitum», experiencia en animales de 3 y 12 semanas; se sacrificaron al entrar en coma.

GRUPO 2. Animales sometidos a dieta unilateral exclusiva de maíz y suero fisiológico para beber, durante 50 días, en animales de 3 y 12 semanas.

GRUPO 3. Animales sometidos a un régimen dietético de maíz y suero fisiológico para beber, más calcio (composición de glucono-galacto-gluconato de calcio 1, 375 g, correspondiendo a 1 g de gluconato cálcico; solución inyectable al 10 % amp. de 10 cc; nombre comercial: Calcium Sandoz), y vitamina D₃ (amp. de 1 cc de 15 mg, 1 mg = 40.00 U.I.; composición: colecalciferol; nombre comercial: Vitamina D₃ Bayer), inyectando diariamente e intraperitoneal Ca 0'07 g de gluconato cálcico al 10 % (0'07 cc) y vitamina D₃ 4'5 mg ó 180.000 U.I. (0'30 cc) por separado y totalizando 1 cc, durante 15 ó 30 días, sacrificando a intervalos, en animales de 3 semanas.

En cada uno de los grupos precedentes se usaron 5 testigos (ratas de la misma camada en condiciones normales).

Nota: Para interpretar con corrección los resultados de esta dieta sobre las estructuras esqueléticas, anotamos a continuación la composición exacta de este cereal:

Maíz: Composición centesimal según análisis químico: 87'0 % sustancia seca; 13 % agua; 9'9 % proteína bruta; 4'4 % grasa (extracto soluble éter); 69'2 % carbohidratos; 2'2 % fibra bruta; 1'3 % cenizas; 0'02 % Ca; 0'82 % ác. fosfórico; 0'40 % potasa; 0'07 % Cl₂.

Nutrientes digestibles: 7'9 % proteínas; 2'7 % grasa; 62'7 % carbohidratos; 0'8 % fibra. Esta dieta carece prácticamente de calcio y triptófano (aminoácido esencial). Según ABRAMS, J. T. (1965).

Lote B) Influencia de corticoides

Este lote consta de los siguientes grupos:

GRUPO 1. Ratas gestantes, sometidas desde el comienzo de su gestación a corticoides (producto de succinato sódico de prednisona, ampollas de 18 mg; nombre comercial: Solu-Dacortin H, promoción científica Merck), por vía intraperitoneal, a una dosis suprafisiológica de 2'5 mg/Kg/día (0'50 mg en 1 cc en suspensión de agua destilada). Estudio de los fetos y gestantes, a la mitad y fin de la preñez.

GRUPO 2. Animales procedentes de gestación normal, sometidos diariamente a dosis suprafisiológicas de corticoides, por vía intraperitoneal: desde el nacimiento hasta los diez días, 0'050 mg de corticoides en ½ cc de suspensión de agua destilada, y de los diez días en adelante, hasta los veintuno, a una dosis de 0'15 mg de corticoides en 1 cc. Sacrificio y recogida del material: Al final de las experiencias se sacrificaron los animales, con o sin anestesia etérea (según edad), por decapitación, tomando inmediatamente las siguientes vísceras: tiroides y paratiroides, corazón y timo, riñón y suprarrenales, intestino y gonada, cerebro, articulación de la rodilla, cola (segmento proximal), columna dorsal (a nivel de cintura escapular).

Dejamos para el final de la necropsia la recogida de los tejidos esqueléticos por ser más resistentes a la autólisis. Fijación: Líquido de Bouin o

formol 10 %, con posterior decalcificación de las piezas óseas (según casos). Inclusión: Parafina. Cortes: Seriados de los bloques a 7 micras (Microtomo de Leitz). Tinciones: Hematoxilina-eosina. Tricrómico de Martins. Fosfatasa alcalina según Gomori.

Resultados

A) Cartilago de crecimiento epifisario

a) *Animales controles:* El cartilago a este nivel, en condiciones normales, es una ancha banda que separa la osificación epifisaria de la diafisaria. A pequeños aumentos (fig. 1a) se observa la

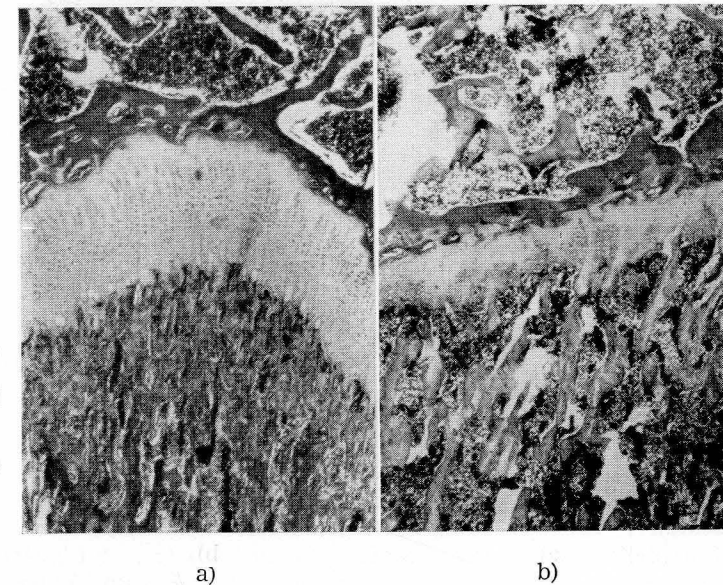
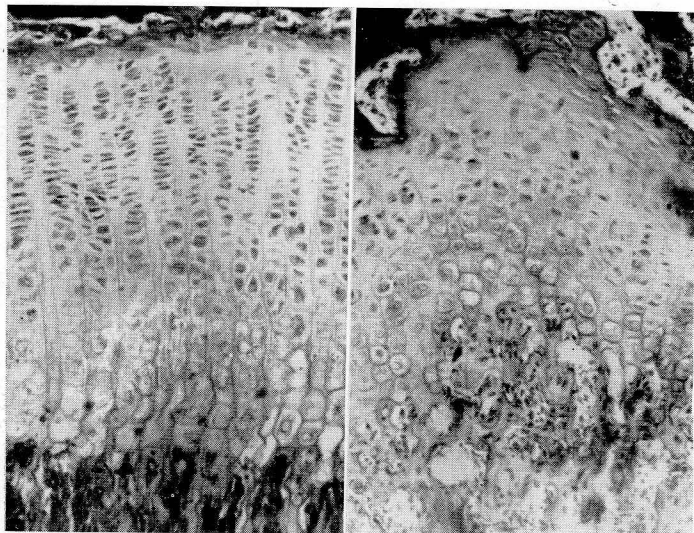


FIG. 1. — a) Disco epifisario normal. Fémur. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 30×. La visión panorámica muestra un amplio disco separado al núcleo de osificación centro-epifisario, centro-diafisario. b) Disco epifisario. Fémur. Rata de 12 semanas, sometida a dieta de hambre 9 días. Tricrómico de Martins. 30×. Se aprecia un notable adelgazamiento del disco; desaparición de la ordenación columnar con grandes áreas de sustancia fundamental.

ordenación columnar de sus células separadas por sustancia fundamental. Las tres zonas del cartilago de crecimiento se pone de manifiesto a mayores aumentos (fig. 4a); las yemas vasculares avanzan simultáneamente y contrasta la línea de demarcación, el azul pálido del tricrómico de Martins que tiñe el cartilago, con el rojo intenso de las proliferaciones vasculares del hueso diafisario neo-

formado. Las figuras 5a y 6a muestran a grandes aumentos la secuencia ordenada de maduración de los condrocitos normales en contraste con imágenes de carácter experimental.

b) *Animales sometidos a hambre 7 días*: El dato más llamativo es el adelgazamiento de esta banda cartilaginosa que llega incluso a desaparecer en algunos tramos. Su altura se reduce aproximadamente en 2/3 con relación al control (fig. 1b). Su organización columnar desaparece casi por completo, observándose una degeneración masiva de los condrocitos y quedando zonas vacías totalmente de células. En algunos parajes se ven restos persistentes



a)

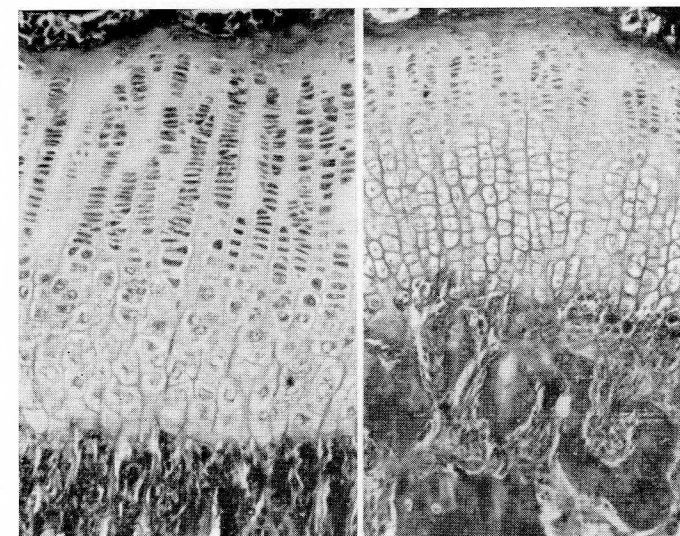
b)

FIG. 2. — Disco epifisario. Fémur. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 125x. a) Control. b) Animal sometido a dieta de hambre 7 días. Nótese la desorganización del cartílago y zona de calcificación.

de la organización columnar normal. El disco epifisario se hace irregular en sus dos caras. En la cara metafisaria del disco (fig. 2b) se mezclan desordenadamente condrocitos inmaduros y yemas vasculares, lográndose calcificaciones anárquicas sin ordenación trabecular. En la figura 6b se aprecia a gran aumento el aspecto de los condrocitos y la fasciculación que muestra la sustancia fundamental.

c) *Animales a dieta unilateral de maíz*: Estos animales (figura 3b) poseen discos epifisarios de espesor semejante a los controles, pero su organización está dividida en dos zonas separadas por un

límite neto: la primera es una zona proliferativa reducida que continúa bruscamente con una zona de maduración en que los condrocitos tienen el mismo aspecto a todos los niveles, llegando a la zona de cartílago calcificado (figs. 3b y 4b) sin haber sufrido el proceso de degeneración fisiológica. Allí pugnan las yemas vasculares con la hilera cartilaginosa, creándose en vez de una neta línea de demarcación, como ocurre en el control (figs. 3a y 4a), una zona imprecisa e irregular.



a)

b)

FIG. 3. — Disco epifisario. Tibia. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 125x. a) Control. b) Animales sometidos a dieta unilateral de maíz 50 días. Se aprecia en éste, el límite irregular con la zona de calcificación, así como una disminución en la proliferación de los condrocitos.

d) *Animales con dieta unilateral de maíz + Ca y Vit. D*: El disco epifisario, aunque de altura semejante al control, presenta en el lado diafisario unas columnas cartilaginosas que se osifican en bloques sin modelado trabecular alguno. No hay una delimitación clara entre las tres zonas de maduración cartilaginosa.

e) *Animales tratados con corticoides*: El disco epifisario de estos animales ofrece distinto aspecto, según corresponde a animales juveniles o del final de crecimiento. En los primeros hay una lujuria de crecimiento del cartílago con una inmensa proliferación y maduración y con una línea neta de calcificación; diríase que estamos ante un estímulo de crecimiento. En los animales que

se acercan a ser adultos, los corticoides producen, al contrario, serias lesiones del cartílago de crecimiento con desorganización de sus filas de proliferación y disminución acentuada del proceso de osificación.

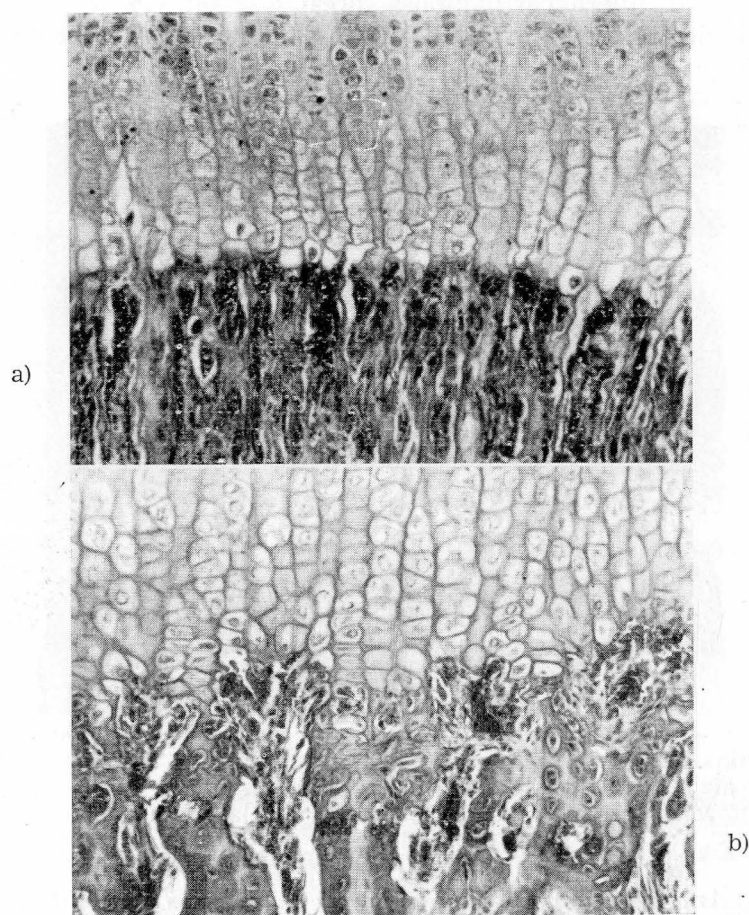


FIG. 4. — Zona de calcificación. Disco epifisario. Tibia. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 320 \times . a) Control. b) Animales sometidos a dieta unilateral de maíz durante 50 días. Nótese la diferencia entre la nitidez del límite de calcificación del control y la irregular invasión vascular en el experimental.

B) Cartílago de crecimiento del cuerpo vertebral

a) *Animales controles* (fig. 7a): De manera semejante a lo que ocurría con el cartílago epifisario de los huesos largos se observa

en el control una seriación ordenada de las filas celulares de maduración cartilaginosa con escasa sustancia fundamental interpuesta. Los límites del disco cartilaginosa son netos en sus dos caras.

b) *Animales sometidos a hambre 7 días* (fig. 7b): También aquí las imágenes son semejantes a las descritas para el cartílago de los huesos largos. El detalle más significativo lo da no el adelgazamiento del disco, que es por otra parte frecuente, sino la desorganización celular en algunos tramos con desaparición absoluta de células cartilaginosas y aumento de sustancia fundamental.

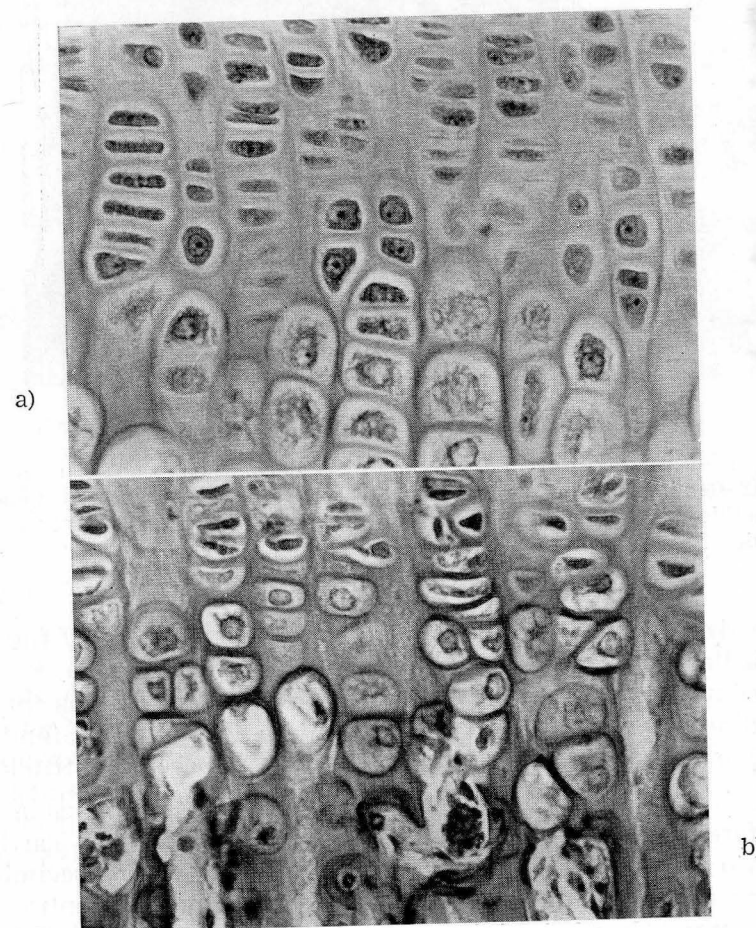


FIG. 5. — Zona hipertrófica del disco epifisario. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 500 \times . a) Control. b) Animales sometidos a dieta unilateral de maíz durante 50 días. Nótese la maduración gradual en el control y la desorganización del animal experimental.

c) *Animales a dieta unilateral de maíz*: Se observa gran deterioro del disco de crecimiento con adelgazamiento en bloque del mismo y detención de la fila de maduración condrocítica. En algunos casos predomina el irregular crecimiento de unas zonas con relación a otras.

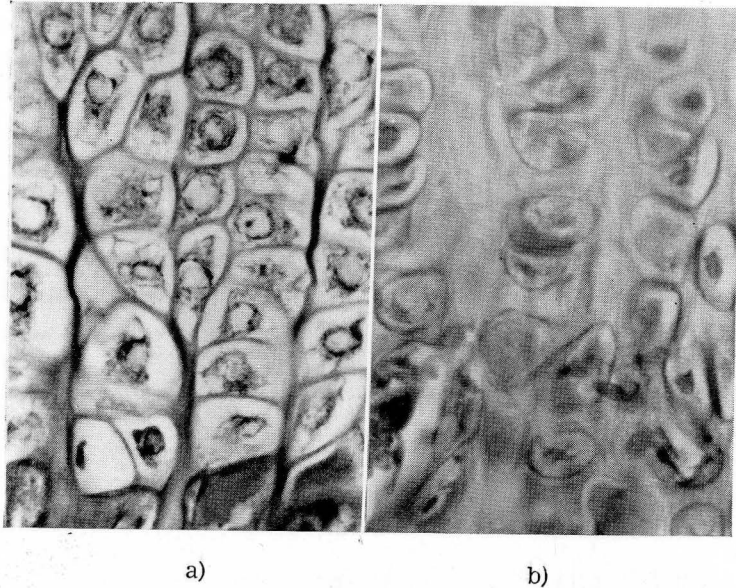


FIG. 6. — Condrocitos de la zona hipertrófica. Disco epifisario. Rata de 12 semanas. Tricrómico de Martins. 500 \times . a) Control. b) Animales sometidos a hambre durante 7 días. En este último, la degeneración condrocítica es total, a la par que aparece un aumento de la sustancia intercelular de aspecto fibrilar.

d) *Animales con dieta unilateral de maíz + Ca y Vit. D* (fig. 7c): Lo más llamativo son esos mazacotes de cartílago inmaduro y exento de células que penetran hacia el centro del hueso y una infiltración adiposa compacta asiva de la esponjosa. Cuando el tratamiento es prolongado (20 días) el disco cartilaginoso aparece destruido.

e) *Animales con corticoides*: Existe en estos animales la misma diferencia según la edad que describíamos para el cartílago epifisario de los huesos largos. En las épocas de pleno crecimiento hay una excitación de la proliferación cartilaginosa, mientras que al acercarse a la edad adulta se produce una destrucción del cartílago.

La imagen a mayor aumento que presenta la figura 8 expresa las diferencias en la organización de los condrocitos en maduración según las distintas circunstancias experimentales.

C) Cartílago articular

a) *Animales controles*: Existe una regularidad en el revestimiento cartilaginoso de las epífisis que concurren en una articulación. El cartílago tiene sensiblemente el mismo espesor en todas las zonas y su cara libre es lisa y pulimentada. En la figura 9a y 10a se observan las tres zonas características: condrocitos aplanados de superficie, esféricos de la zona central y voluminosos, maduros en la zona de calcificación.

b) *Animales sometidos a hambre 7 días*: El dato más significativo (fig. 9c) es la reducción del espesor del cartílago y un defecto en la maduración de los condrocitos, que tienen un aspecto uniforme en toda su altura. Esporádicamente aparece algún condrocito hipertrófico, pero sin ordenación columnar alguna. La sustancia fundamental es ligeramente hipercromática con respecto al control.

c) *Animales sometidos a dieta unilateral de maíz*: Hay una reducción del espesor del cartílago (fig. 9b), aunque no tan acusada como en el lote anterior. La proliferación está disminuida y los condrocitos maduran con más lentitud. Es llamativa la apetencia tintorial de la sustancia fundamental por la fucsina, que expresa la figura 10b.

d) *Animales sometidos a dieta unilateral de maíz + Ca y Vit. D*: El cartílago de estos animales, si bien es de espesor normal, tienen una profunda alteración en su estructura. Está muy reducida la zona proliferativa y luego la mayor parte de los condrocitos degeneran, quedando unos pocos con núcleos picnóticos incluidos en la sustancia fundamental.

e) *Animales tratados con corticoides*: Es considerable el aumento de grosor del cartílago en los animales juveniles de este lote; aumento que afecta sobre todo a la zona hipertrófica. En los animales de 12 semanas el cartílago es irregular y aunque en algunas zonas está engrosado, en otras sufre procesos de necrosis y tiende a desaparecer. En las figuras 11 y 12 se muestra cómo varía la morfología de los condrocitos según las distintas situaciones experimentales.

D) Disco intervertebral

a) *Animales controles*: Se observa (fig. 13a) la parte fibrosa periférica y el núcleo pulposo. Este último muestra un aspecto esponjoso típico con escasos elementos celulares de delgado protoplasma y grandes núcleos ovalados. Las células albergan en su

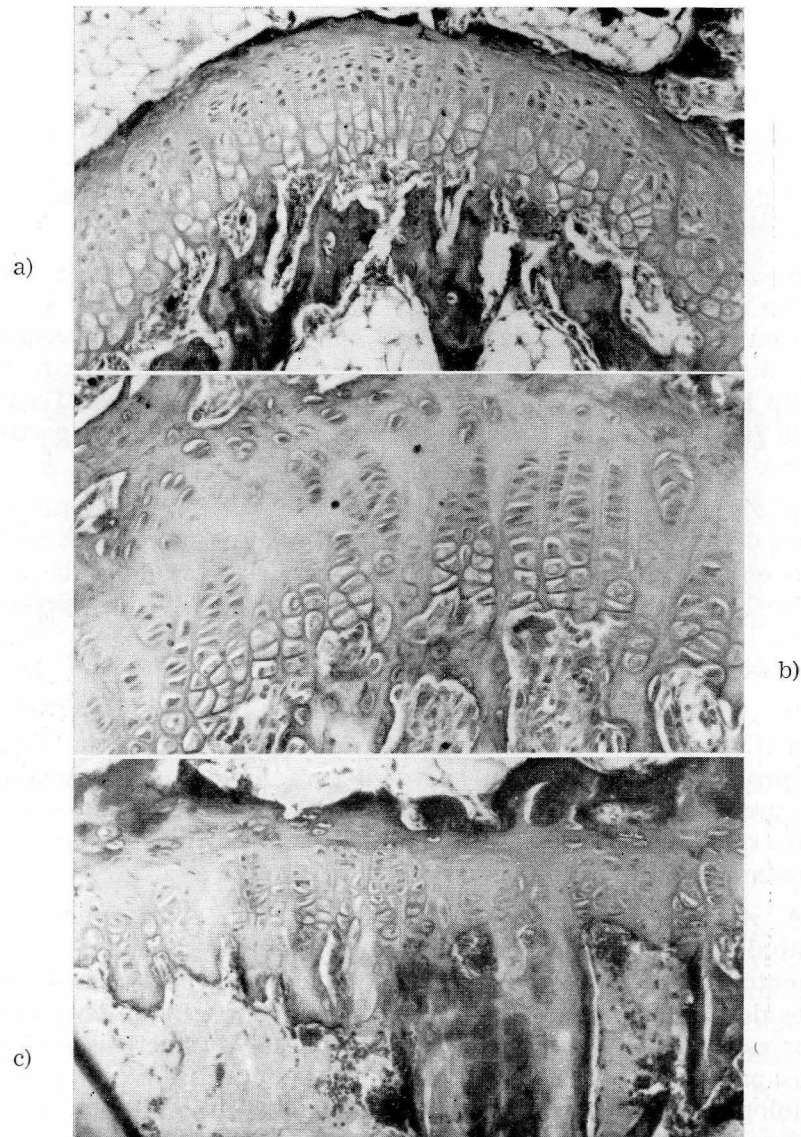


FIG. 7. — Placa epifisaria vertebral. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martins. 125 \times . a) Control. b) Animales sometidos a hambre. Se observan grandes áreas de sustancia intercelular libres de células. c) Dieta unilateral de maíz + Ca y vitamina D. Nótese grandes mazacotes de cartilago desorganizado.

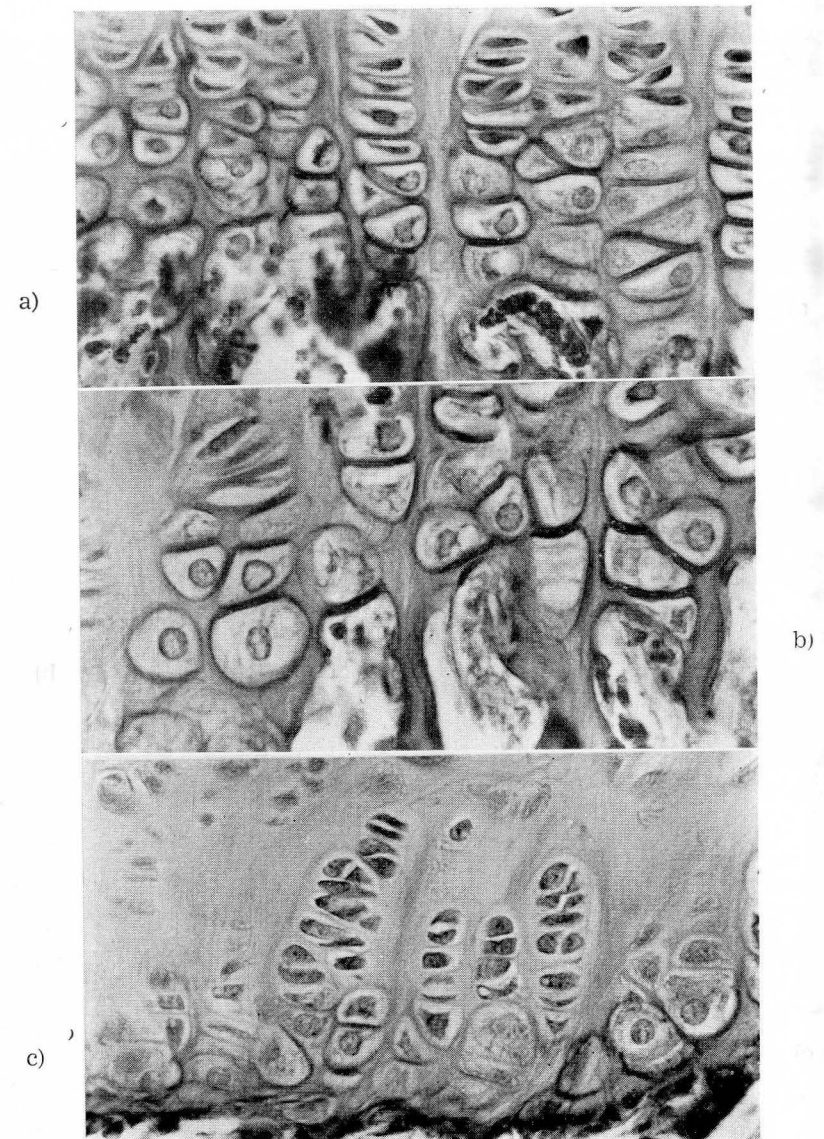


FIG. 8. — Placa epifisaria vertebral. Zona hipertrofica. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martin. 500 \times . a) Control. b) Ca + Vitamina D. c) Hambre de 7 días.

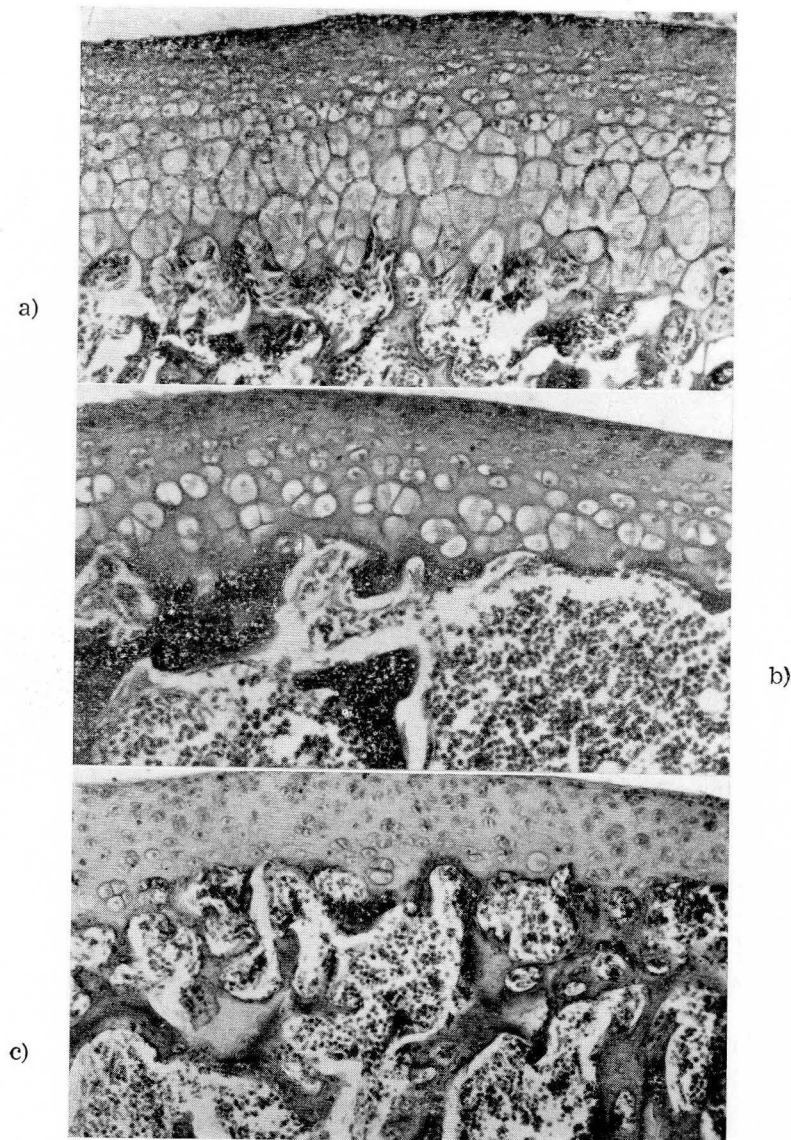


FIG. 9. — Cartilago articular. Fémur. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martín. 320×. a) Control. b) Dieta de maíz. c) Hambre de 5 días. Nótese la progresiva atrofia del cartilago en todo su espesor.

citoplasma una gran gota de material mucoide y están separadas por un gel uniforme anhisto.

b) *Animales experimentales:* Todos los animales experimentales muestran profundas alteraciones del disco intervertebral, sobre todo en lo que al núcleo pulposo se refiere, y aunque los ani-

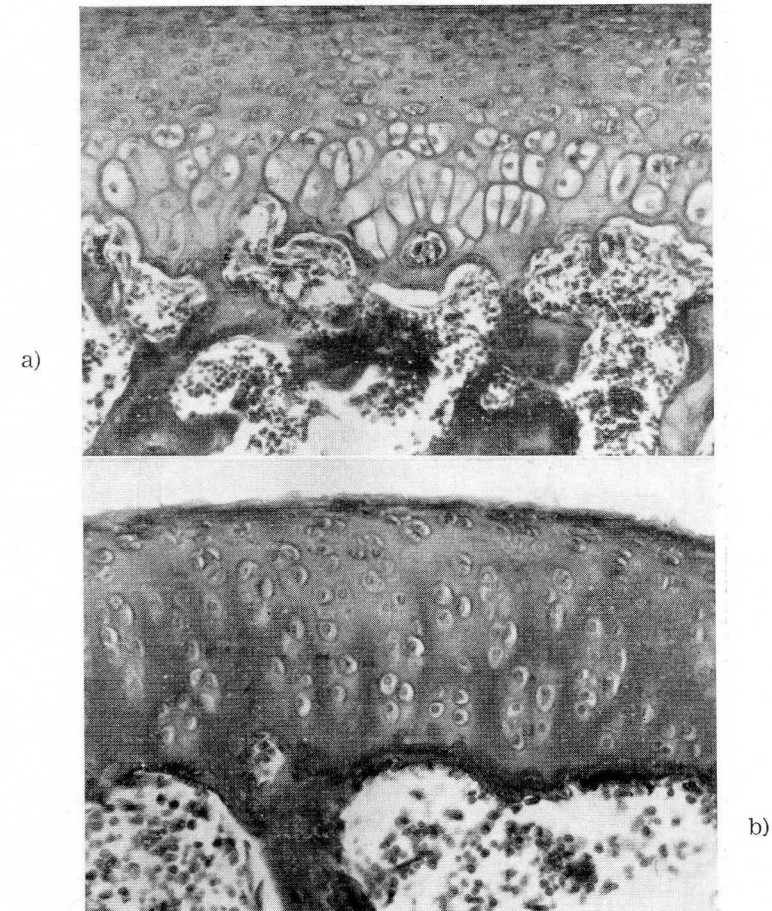


FIG. 10. — Cartilago articular. Fémur. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martín. 320×. a) Control. b) Dieta de maíz. Nótese en este último la falta de maduración de los condrocitos y grandes áreas de sustancia fundamental densa en hiper cromática.

males sometidos a hambre den los cuadros más expresivos, el resto de los lotes presentan imágenes cualitativamente parecidas, siendo su única diferencia el grado de lesión. Los describimos por tanto en conjunto.

El anillo fibroso se adelgaza, sus haces fibrilares se perfilan mejor debido a la pérdida de líquido intersticial y el núcleo pulposo se retrae (fig. 13b); el mucoide aumenta y las células degeneran;

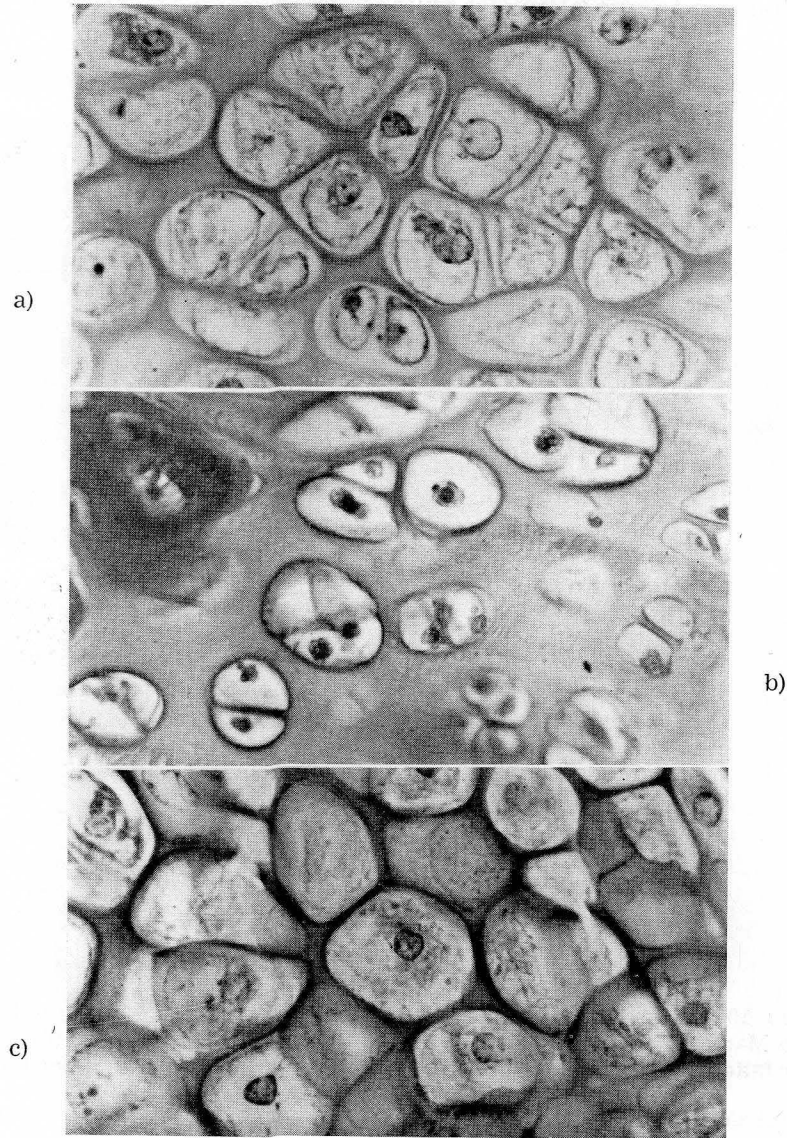


FIG. 11. — Cartílago articular. Fémur. Rata de 3 semanas. Condrocitos de la capa profunda. Tricrómico de Martins. 500 \times . a) Control. b) Hambre. c) Dieta de maíz. + Ca y Vitamina D. Nótese la hipertrofia de los condrocitos en este último caso.

sus núcleos se tornan hiper Cromáticos y picnóticos y los citoplasmas materialmente desaparecen. Quedan, en vez de esa trama esponjosa uniforme que muestran los controles, unos islotes o cordones celulares arrugados flotando en el líquido seromucoso. La figura 44 muestra a gran aumento la diferencia entre un control (a) y un animal sometido a hambre (b).

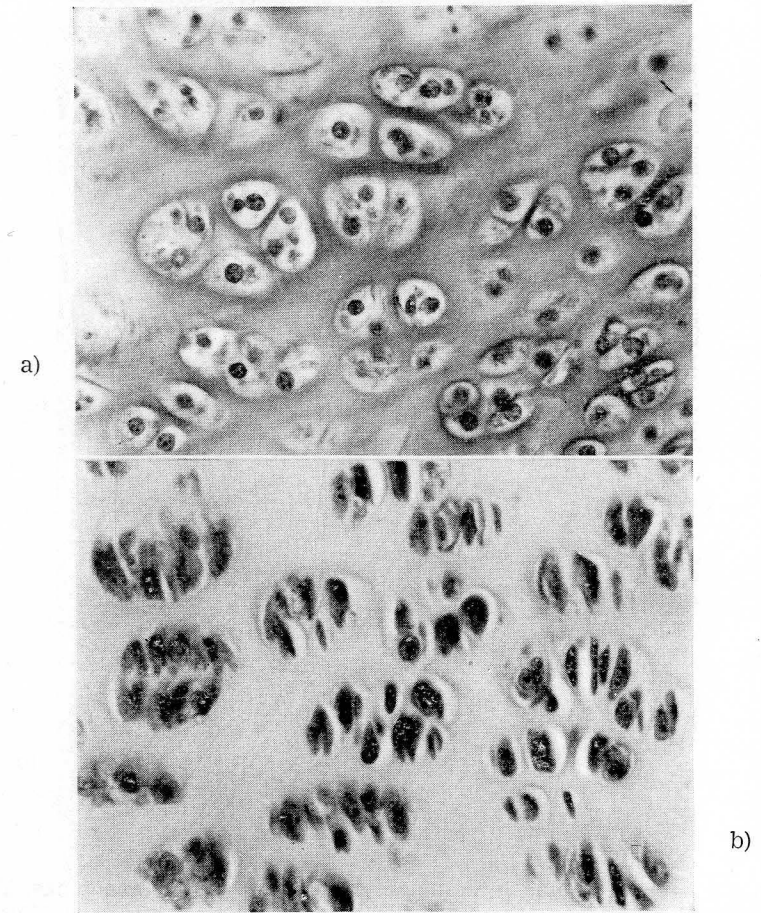


FIG. 12. — Cartílago articular. Fémur. Rata de 3 semanas. Condrocitos de la capa media. Tricrómico de Martins. 500 \times . a) Control. b) Hambre de 5 días. Nótese el arrugamiento celular y la hiper Cromatosis nuclear.

En el resto de los lotes experimentales el aspecto es el mismo, si bien en los animales alimentados con cereales+Ca y vit. D la retracción del núcleo pulposo no es tan intensa y el líquido mucoso disgrega menos la trama celular.

Es evidente que el disco responde a la situación experimental de una manera inespecífica, y que si bien se altera con mayor severidad en el hambre, en el resto de las circunstancias experimentales reacciona con escasas diferencias en el mismo sentido.

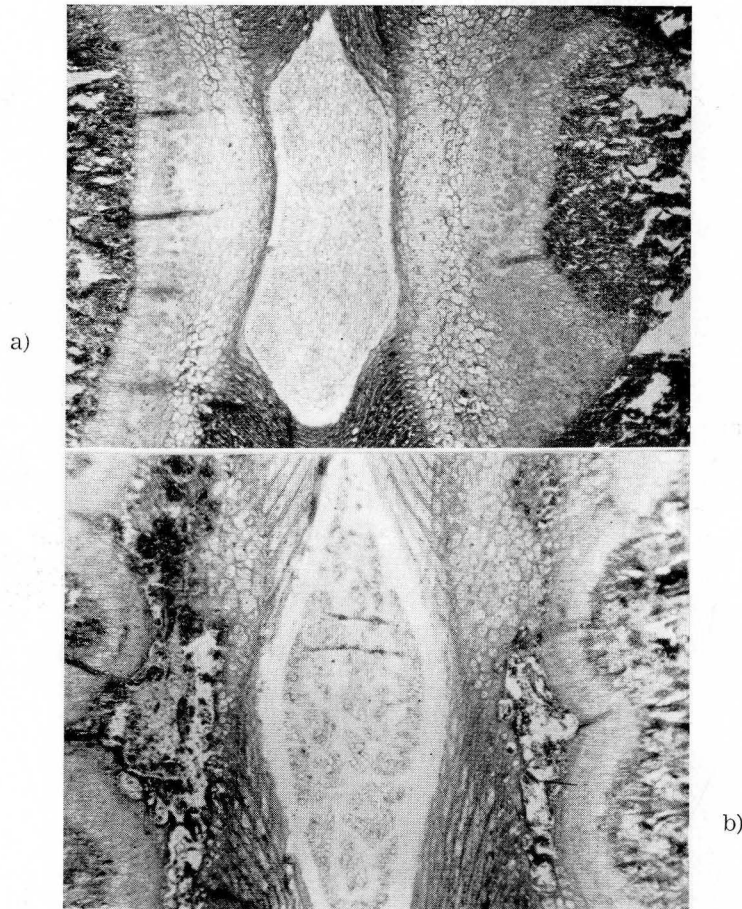


FIG. 13. — Articulación intersomatovertebral. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martins. 30x. a) Control. b) Hambre de 3 semanas. Nótese las alteraciones del disco

E) Estructura de la metafisis

a) *Animales controles:* La estructura diafisaria cercana al cartílago de crecimiento muestra una ordenación trabecular paralela con sus capilares invasores y con una modelación esquelética ordenada.

b) *Animales sometidos a hambre 7 días:* La osificación es muy precaria, hay una gran invasión vascular, pero la osificación se reduce a pequeños islotes irregulares.

c) *Animales sometidos a dieta unilateral de maíz:* Se resiente gravemente la osificación. Hay una falta de ordenación paralela de

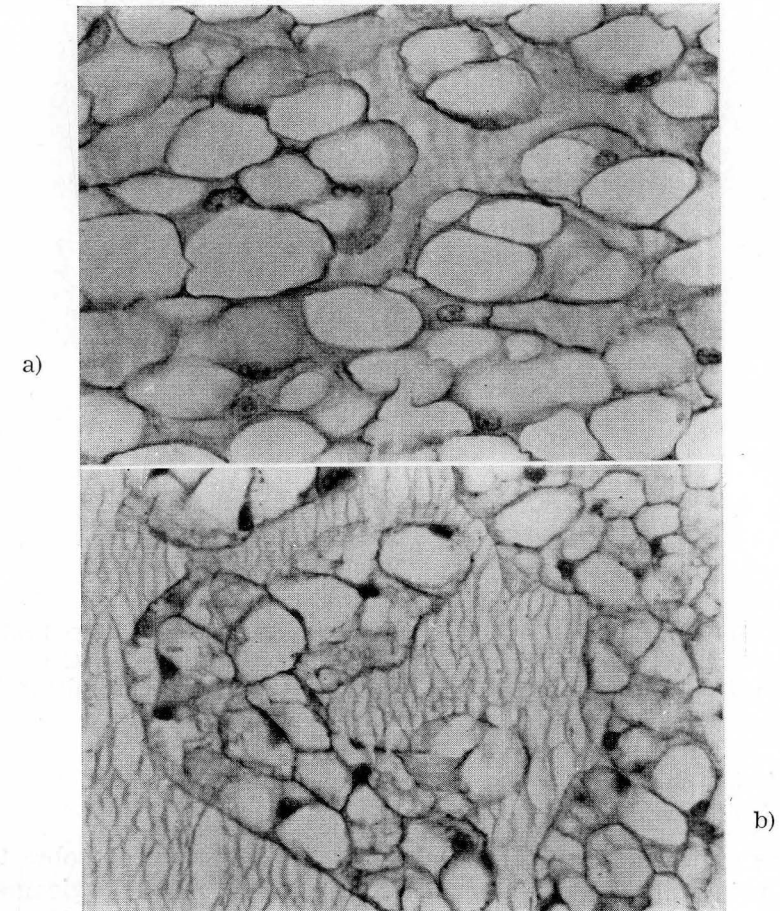


FIG. 14. — Núcleo pulposo. Rata de 3 semanas. Tricrómico de Martins. 500x. a) Control. b) Hambre de 5 días. Nótese la gran alteración de las células mucoides.

las trabéculas, pasándose a un aspecto reticulado. La osificación, en realidad, se produce, pero falta un modelado arquitectónico de las trabéculas óseas.

d) *Animales sometidos a dieta unilateral de maíz + Ca y Vit. D:* El dato más llamativo es una gran invasión vascular y un acúmulo

de material graso en la esponjosa que le da un aspecto macizo y acolchado.

e) *Animales tratados con corticoides*: Se observa una gran vascularización y una formación ósea débil que da a la metáfisis un aspecto reticulado en vez de fascicular.

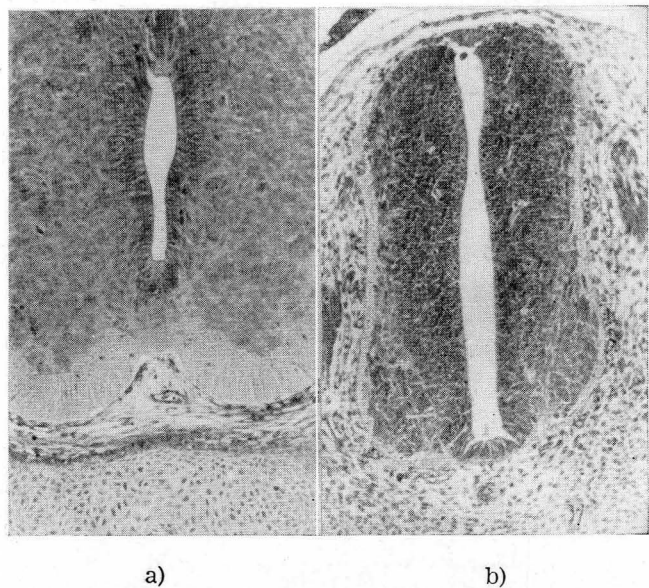
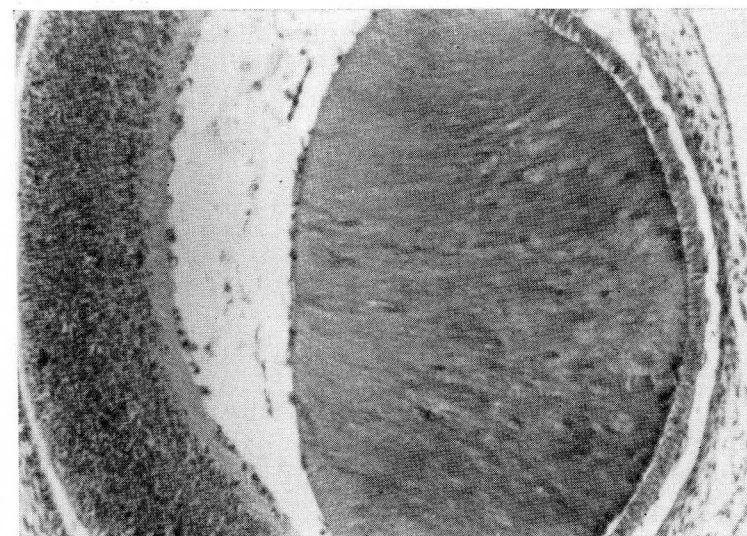


FIG. 15. — Corte transversal del tubo nervioso en desarrollo. Embrión de rata 13 días de gestación. Tricrómico de Martins. 320 \times . a) Control. b) Madre tratada con corticoides. Retardo considerable en el desarrollo neural, aunque de aspecto aparente normal.

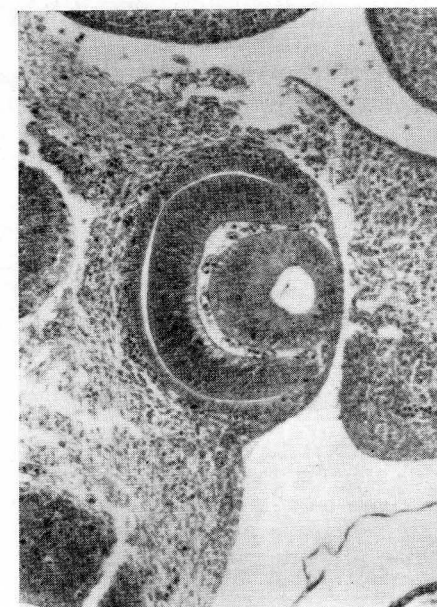
F) *Acción de los corticoides sobre la organización visceral en desarrollo*

Los corticoides retardaron el desarrollo embrionario sobre todo en la primera mitad de la gestación, influyendo más enérgicamente sobre los sistemas y órganos que comentamos a continuación, referidos a fetos de 13 días de gestación, unos de madre normal y otros de madre tratada con corticoides desde el comienzo de la preñez.

a) *Sistema nervioso*: A todos los niveles los corticoides producen un retraso del crecimiento. Véase en la figura 15a la imagen de un corte de médula normal, donde la matriz endimaria ha dado ya sus emigraciones y donde la sustancia blanca y la gris están perfectamente delimitadas. En contraposición, en la figura 15b se observa, en un feto coetáneo, un estado mucho más incipiente



a)



b)

FIG. 16. — Globo ocular en desarrollo. Embrión de rata de 13 días de gestación. Tricrómico de Martins. 125 \times . a) Control b) Madre tratada con corticoides. Nótese el considerable retardo de este último.

del desarrollo del tubo nervioso: la matriz endodimaria está en plena fase proliferativa con una luz muy extensa; comienzan apenas a esbozarse las astas anteriores y el manto de sustancia blanca rodeando la gris.

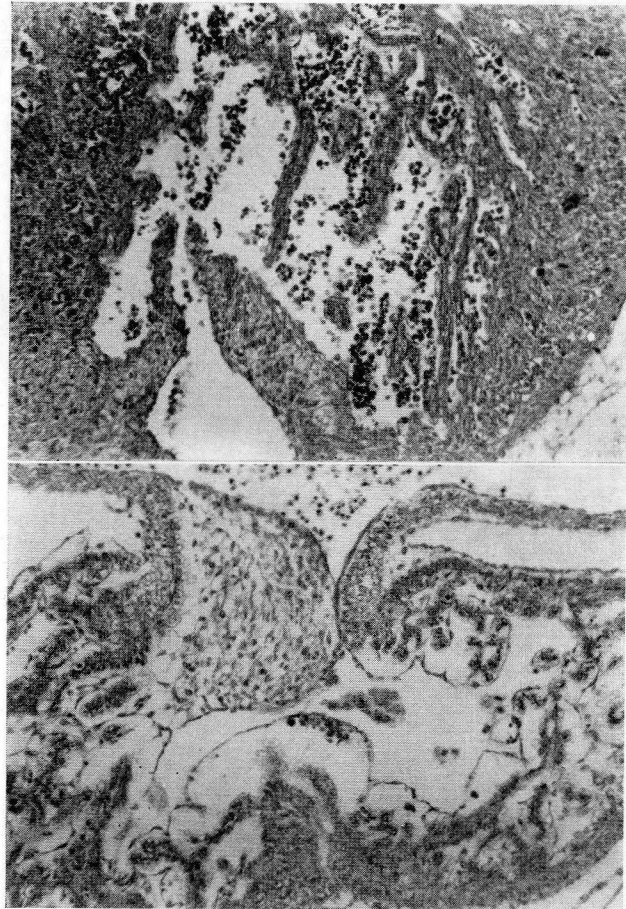


FIG. 17. — Corazón en desarrollo. Embrión de rata de 13 días de gestación. Tricrómico de Martins. 125 \times . a) Control. b) Madre tratada con corticoides. Nótese cómo en este último la musculatura ventricular se encuentra en fase reticulada mientras que en el control la pared ventricular presenta ya un aspecto compacto.

b) *Sistema esquelético*: En la propia figura 15a puede apreciarse el cuerpo vertebral perfectamente constituido en el control y en el experimental (15b) apenas si comienza a ordenarse alrededor de la notocorda el tejido conjuntivo, sin vestigio de matriz cartilaginosa.

c) *Globo ocular*: También aquí se nota un acentuado retraso en la organización del sentido visual. Véase en el control (fig. 16a) una retina gruesa ordenada en capas y un cristalino sin cavidad con un epitelio posterior altamente diferenciado, en contraposición al animal experimental de los mismos días de desarrollo (fig. 16b), con una retina poco organizada y un cristalino en forma de vesícula recién invaginado del ectodermo.

d) *Tubo digestivo*: En el control se aprecia el esófago, diferenciando perfectamente la mucosa y submucosa muscular y adventicia, en la que destacan los dos nervios vagos, en comparación con el procedente de madre tratada, en que a duras penas se distingue la luz de los tubos aéreos y digestivo sin rastro de organización en estratos.

e) *Hígado*: Es llamativa la diferencia a este nivel, pues mientras en el feto control la trama hepática recuerda a la del adulto, en el experimental el hígado está iniciando sus cordones con gran cantidad de elementos hematopoyéticos y unos senos dilatados, como corresponde a una etapa temprana en la organización hepática.

f) *Corazón*: De gran expresividad son las imágenes de la figura 17a de un feto control, mostrando unas paredes ventriculares compactas en la que el sistema trabecular se limita a escasos cordones que surcan la luz ventricular. En la figura 17b, perteneciente a un feto experimental, observamos un corazón completamente reticulado, que no inició todavía la formación de la parte compacta del ventrículo, con una amplia comunicación interventricular, signos todos de fases precoces en la organización de esta víscera.

Discusión

El análisis de los hallazgos obtenidos en el presente trabajo, contrastados con las observaciones existentes en la bibliografía, nos llevan a plantear la discusión con arreglo al orden en que han sido expuestos, en el capítulo anterior, los siguientes apartados. De la misma manera, nuestras observaciones tendrán por tanto que ser estudiadas en relación con la influencia de la dieta de los animales, en sus tres experiencias: dieta absoluta, dieta unilateral de maíz y dieta de maíz más calcio y vitamina D₃ a dosis suprafisiológicas y en relación con la edad de 3 y 12 semanas.

Al revisar el material del disco epifisario en los animales con dieta absoluta, se observa que el trastorno general del metabolismo repercute en forma de un stress dietético sobre el disco. Estas diferencias morfológicas muestran una sensibilidad máxima, ya que si bien es cierto que el tejido esquelético tiene una importancia vital secundaria, reacciona muy pronto frente a los déficit carenciales, alterando su proceso de crecimiento, como define PARK (1964). Esto refuerza la opinión de trabajos anteriores sobre

la dinámica del desarrollo del cartílago epifisario en ratas donde el crecimiento alcanza su máximo en los períodos entre 25 y 40 días (PETKO, 1970).

En la serie de animales sometidos a una dieta unilateral de maíz, durante 50 días, cuya fórmula cualitativa carece prácticamente de calcio y triptófano (aminoácido esencial), muestran disminución en conjunto del disco epifisario y de la zona proliferativa, con aumento de la zona de maduración. Es interesante destacar la formación de las células en fase de maduración sin pasar a la fase hipertrófica, lo cual nos obliga a relacionar estos datos con aquellos de los autores MATSUZAWA y ANDERSON (1971), en el sentido de la presencia de fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida y adenosintrifosfatasa, con máxima actividad en zona hipertrófica, donde comienza la calcificación, sin olvidar el complejo proteínas-mucopolisacáridos.

Los resultados observados en la placa epifisaria vertebral en ratas de 3 semanas, por lo que se refiere al aspecto estructural del disco epifisario, existe aquí cierta concordancia con lo dicho en la serie de animales estudiados anteriormente. Otra circunstancia a tener en cuenta es que en animales de 3 semanas tratados con maíz durante 50 días, se observa en los condrocitos una pigmentación granulada en todas sus zonas, tanto en núcleo como en citoplasma. Un hecho llamativo en los animales de 3 semanas sometidos a maíz más calcio y vitamina D₃ y suero fisiológico es, como muestran las figuras, un aumento de tejido lipoideo no encapsulado.

En el análisis del estudio histológico de la articulación intersomatovertebral, creemos de interés hacer especial referencia a las alteraciones que se aprecian en el disco intervertebral en animales de 3 semanas sometidos a dieta absoluta, durante 5 días. En su fase de desarrollo la actividad decrece casi por completo en animales carenciales, relacionando nuestros resultados con los de SARRAT (1971), donde manifiesta las variaciones del disco intervertebral en animales carenciales, y nos habla que se hace laxo al hialinizarse sus células, toman aspecto de jalea homogénea y sus elementos dejan de tomar la fucsina paraldehído de Gabe. Observamos al mismo tiempo alteraciones estructurales de su anillo fibroso conduciendo a una alteración en cuanto a la forma, límites y altura en el conjunto del disco intervertebral.

Los cambios característicos que ocurren en el material del cartílago articular, en la serie de animales de 3 semanas, con dieta de hambre, durante 5 días, se resumen en: falta del desarrollo gradual de los condrocitos, ausencia de respuesta histológica en zona hipertrófica del cartílago y falta la actividad condroplástica; la anchura o espesor del cartílago articular es menor en conjunto con alteración en el ritmo de crecimiento que los animales controles muestran.

Interpretamos estos hechos como la respuesta a la falta absoluta de todos los elementos nutritivos, cuyas lesiones se hacen presentes, incluso a una edad juvenil. Autores como SARRIAS (1967) manifiesta la existencia de una respuesta del cartílago articular a la isquemia.

Las circunstancias comentadas en la serie de animales antes citados quedan mejor aclaradas, como afirma BOURNE (1956) y MEYER (1956) al considerar la importancia de la estructura y metabolismo del hueso en relación con los mucopolisacáridos, y del glucógeno en la osificación y calcificación (SCHAJOVIEZ, 1958), que influye en la dinámica del proceso de la calcificación in vivo, como en dirección y crecimiento del hueso (SUZUKI, 1966). Lo mismo concluyen otros autores (IRVING y WUTHIER, 1968) sobre la formación del complejo proteínico-polisacárido-fosfolípido, componente activo de la

calcificación del hueso; para HAVIVI (1969), los fosfolípidos son agentes de transferencia de cationes para las áreas de calcificación.

Queremos hacer notar en los animales sometidos a maíz+Ca⁺⁺ y Vit. D, el manifiesto relleno de tejido adiposo, sin matriz trabecular. Autores como CRUESS (1967), SAKAI (1967), HAVIVI (1969) y WOLINSKY (1970) manifiestan que dosis tóxicas de vitamina A y D, y corticoides, afectan la concentración de lípidos en la calcificación del cartílago del hueso. En los animales carenciales, los resultados nos obligan a relacionarlos con aquella bibliografía clínica que demuestra trastornos metabólicos de aparición precoz y alteraciones morfológicas.

La patología del esqueleto infantil se presenta con unas características especiales en los trastornos en la osificación y ejerce un decisivo influjo en su morfogénesis. Son de destacar las mucopolisacaridosis, con alteración de la sustancia fundamental homogénea por aumento de los mucopolisacáridos; la acondroplasia, con irregularidad en la proliferación cartilaginosa afectando el área metafisaria y línea de cierre; la disostosis metafisaria, con nidos de células cartilaginosas hipertrofiadas y condrocitos desordenados; irregularidad en la calcificación (JANSEN, 1934, y COOPER, 1973); la enfermedad de Morquito, con alteración de los mucopolisacáridos y almacenamiento del queretinsulfato que se excreta por la orina; enfermedad de Hurler, con alteración del condroitinsulfato y a veces el hepatinsulfato, etc.

La carencia específica de aminoácidos presenta retardo de crecimiento (MURDOCH y HOLMAN, 1964), evidenciándose radiográficamente. En el escorbuto, el cuadro vascular y una desorganización progresiva con rotura de los patrones capilares, afectando la mineralización (DURKIN, 1969) y recuperándose los trastornos con ácido ascórbico. En ratas con latirismo, la fusión de la epífisis se daña, con cambios morfológicos en placa epifisaria, semejante a los del raquitismo (PLENK, 1973).

En el disco epifisario y la placa epifisaria vertebral, en la serie de animales sometidos a dietas carenciales, se puede llegar a reproducir en cierto modo las alteraciones del crecimiento, línea de cierre prematura y con manifestaciones radiográficas de osteoporosis, causada por las lagunas de hematies y tejido lipoideo.

Las alteraciones bioquímicas del disco intervertebral, según HALL (1957), consisten en disminución del contenido de polisacáridos y del condroitinsulfato, deshidratación y alteraciones del gel con despolimerización de los mucopolisacáridos, igual que alteraciones cuantitativas y cualitativas de los lípidos del disco intervertebral con el transcurso del envejecimiento (FRANKLIN, 1966), repercutiendo clínicamente en alteraciones en la forma, límites y altura del disco intervertebral. Según VAN DE HOFF (1964), las alteraciones histológicas e histoquímicas del anillo fibroso aparecen en la tercera década, originando un anillo fibroso más frágil.

Junto con las alteraciones originadas por ausencia de proteínas, hidratos de carbono, grasas, vitaminas y enzimas, juega un papel muy importante el intercambio iónico, así como los iones carbonatos, sodio, magnesio, cloro, flúor, agua y fosfato cálcico. El proceso de mineralización del hueso en crecimiento depende, según SCHWARZ (1965), de los niveles de calcio y del fosfato alcanzados en el líquido extracelular, y la precipitación de las sales sólo se produce en determinadas condiciones locales.

La actividad de los condrocitos es una consecuencia directa de los estimulantes que actúan a partir de su medio ambiente: sustancias nutritivas, electrolitos, metabolitos, oxígeno, hormonas, vitaminas, pH, presión,

tracción, etc., para la información, elaboración y programación de los condrocitos.

Vemos que estas breves consideraciones de los resultados de nuestra investigación y la clínica caminan en el mismo sentido y con un paralelismo entre formación, estructura y desarrollo del cartílago hialino, al ser sometido a trastornos dietéticos o medicamentosos.

Desde el punto de vista embriológico llama la atención el retraso que en el desarrollo ontogenético producen los corticoides, retraso que recuperan los fetos en el último tercio del embarazo. Es de destacar que a pesar de la prevención que existe en contra de los corticoides en la clínica humana como agentes teratógenos, no hayamos podido demostrar en nuestras series ningún rasgo malformativo, ni en los tejidos organizadores ni en los reactores, a pesar de haber elegido áreas de estudio tan conflictivas como el corazón, el tubo nervioso o el tubo digestivo y glándulas anexas.

Conclusiones

1. *El hambre* (dieta absoluta) produce en 7 días una detención completa del crecimiento del cartílago epifisario, tanto en animales de 3 como de 12 semanas.

2. *La detención* a que se refiere la conclusión anterior se objetiva en una masiva degeneración de los condrocitos con progresiva fibrosis de la sustancia fundamental. El cartílago se adelgaza, se hace irregular en sus superficies y en algunas zonas llega a desaparecer.

3. *Las dietas unilaterales de maíz* (con carencia casi absoluta de Ca y triptófano) producen severas alteraciones del cartílago epifisario, fijando el desarrollo de los condrocitos en fase hipertrófica, sin dejarlos madurar, invadidos por yemas vasculares que no consiguen más que una muy precaria osificación.

4. *Las dietas de maíz suplementadas con grandes dosis de Ca y Vit. D* de ningún modo logran reparar las lesiones producidas. Bien es verdad que se logran calcificaciones, pero sólo en puntos aislados y de forma totalmente irregular, coincidiendo zonas vecinas de hipertrofia y atrofia cartilaginosa y osificación en masa sin ordenación trabecular típica.

5. *Los corticoides* tienen efectos distintos según edad, pues mientras en los animales juveniles producen una marcada hipertrofia del cartílago de crecimiento de apariencia normal, en los de 12 semanas, al final del crecimiento, alteran grave y definitivamente el cartílago.

6. *Los corticoides* administrados a ratas a lo largo de la preñez producen durante la primera mitad un retraso considerable del desarrollo embrionario, pero resulta curioso que esos embriones llegaran a término en el mismo tiempo que los normales y totalmente maduros. En ningún caso hemos podido evidenciar efectos terato-

genéticos, ni abortos. Los embriones de madres tratadas, cortados en serie, aparentaron en todos los casos pertenecer a estudios mucho más jóvenes, pero tanto sus inductores como sus tejidos reactivos mostraron integrarse en un fenómeno morfogenético totalmente normal.

7. Estas lesiones que con carácter experimental hemos logrado en relación con dietas carenciales encuentran su relación con aquellas que la clínica presenta en pacientes con alteraciones del aporte alimenticio, trastornos digestivos, metabólicos o endocrinos de las más variadas etiologías.

Resumen

Se ha realizado un estudio experimental en rata blanca para ver la influencia de las dietas carenciales y corticoides sobre su esqueleto en desarrollo. Se describen las alteraciones que el hambre agudo, la dieta unilateral de maíz, dieta de maíz suplementada con Ca+Vit. D, y administración de corticoides, produce sobre puntos claves del desarrollo osteo-articular, con especial referencia al cartílago de crecimiento. Se discute la acción de los corticoides sobre el desarrollo prenatal.

Summary

An experimental study on white rats to see the influence of deficient diets and corticoids was made on their skeleton in development. It describes the alterations that acute hunger, a diet exclusively of maize, maize diet supplemented with Ca+Vit. D, and administration of corticoids, produce in the main areas of the osteo-articular development with special reference to cartilage growth. The action of corticoids on prenatal development is also taken up.

Zusammenfassung

Man hat ein Experimentales Studium mit Weisratten durchgeführt um den Einfluss von Mangeldiät und Kortikoide auf deren Skelett im Entwicklungsgang zu beobachten. Man beschreibt welche Veränderungen der akute Hunger, eine einseitige Weizendiät, eine mit Ca und Vit. D ergänzte Weizendiät und Beigabe von Kortikoide auf die Hauptpunkte des osteo-artikulären Wachstums hervorrufen, mit speziellem Bezug den Wachstumsknorpel. Man diskutiert über das Verhalten der Kortikoides auf die pränafele Entwicklung.

Résumé

On a réalisé une étude expérimentale sur des rats blancs pour observer l'influence des diètes de manque et des corticoides sur son squelette en développement. On décrit les altérations que la faim aigüe, la diète unilatérale de maïs, la diète de maïs completée par Ca et vitamine D, et l'administration de corticoides produisent sur des points clés du développement osteo-articulare, spécialement en ce qui concerne le cartilage en croissance. On discute l'action des corticoides sur le développement prénatal.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMS, J. T. (1965): Nutrición animal y dietética veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza.
- AMPRINO, R. (1967): Bone histophysiology. «Guy's Hosp. Rep.», **116**, 51.
- ANDERSON, C. E. (1962): The structure and function of cartilage. «J. Bone. It. Surg.», **4**, 477.
- ANDERSON, H. C. (1969): Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. «J. Cell. Biol.», **41**, 59.
- ANITÚA, M. (1966): Contribución al estudio estructural e histoquímico del cartilago articular. «Rev. Ortop. Traum.», **X**, 553.
- BADRAN, A., y otros (1969): Studies of the growth-inhibitory action of cortisone on chick embryo. «Teratology», **2**, 221.
- BARDEEN, C. R. (1905): Studies of the development of the Human Skeleton. «Am. J. Anat.», **4**, 265.
- BARGMANN, W. (1968): Histología y Anatomía microscópica humana. Ed. Labor, S. A.
- BARLAND, P., A. B. NOVIKOFF y D. HERMERMANN (1962): Electron microscopy of the human synovial membrane. «J. Cell. Biol.», **14**, 207.
- BARRET, A. J., y col. (1966): Effect of cortisol on the synthesis of Chondroitin sulphate by embryonic cartilage. «Nature», **211**, 83.
- BASSETT, A. L. (1962): Current concepts of bone formation. «J. Bone Joint Surg.», **44**, 1217.
- BAUER, W., M. W. ROPES y H. WAINE (1940): The physiology of articular structures. «Physiol. Rev.», **20**, 272.
- BELANGER, L. F. (1956): Autoradiographic studies of the formation of the organic matrix of cartilage bone and the tissues of teeth. Ciba Foundation Symposium on Bone structure and Metabolism, p. 75, London, J. A. Churchill.
- BOADA, J. N. (1970): Bases farmacológicas para una terapéutica racional con corticosteroides. «Prog. de Terap. Clín.», vol. XXIII. Marín y Campó. Enero.
- BOLAND, E. W. (1952): Clinical use of cortisone, hydrocortisone, and corticotropin. «J.A.M.A.», **150**, 1281.
- BONUCCI, E. (1967): Fine structure of early cartilage calcification. «J. ultrastruct. Res.», **20**.
- (1970): Fine structure and histochemistry of «Calcifying globules» in epiphyseal cartilage. «Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.», **103**, 192.
- BOURNE, G. H. (1956): Phosphatasa and bone. The Biochemistry and Physiology of Bone. P. 251. New York, Academic Press.
- (1956): The biochemistry and Physiology of Bone. New York, Academic Press.
- BRADFORD, F. K., y R. G. SPURLING (1941): The intervertebral Disc. Springfield, Ill. Charles C. Thomas.
- CABRINI, R. L. (1961): Histochemistry of ossification. «Int. Rev. Cytol.», **11**, 283.
- CALVE, J., y M. GALLAND (1930): Intervertebral Nucleus Pulposus. «J. Bone Joint. Surg.», **12**, 555.
- CAMERON, D. A. (1960): The fine structure of osteoblasts in the metaphysis of the vertebral column in chick. «Experimentia», **16**, 144.
- (1963): The fine structure of bone and calcified cartilage. «Clin. Orthop.», **26**, 199.
- CARTIER, P. (1952): Mechanism enzymatiques de L'ossification. «Expos. Annu Biochim. Med.», **14**, 73.
- CASTIGLIONI, G., y col. (1950): Su alcune caratteristiche biologiche strutturali della cartilagine articolare Umana. «Arch. Orthop.», **63**, 36.
- COHEN, J., G. CURRARINO, E. B. D. NEUHAUSER (1956): A significant variant in the ossification centers of the vertebral Bodies. «Am. J. Roentgenol.», **76**, 469.
- COMPÈRE, E. L. (1961): Origin, Anatomy, Physiology, and pathology of the intervertebral disc. «Instruc. Lect. Amer. Acad. Orthop. Surg.», **18**, 15.
- COOPER, R. R., J. W. MILGRAM, R. A. ROBINSON (1966): Morphology of the osteon. An electron microscopic study. «J. Bone Joint Surg.», **48**, 1239.
- COOPER, R. R., y col. (1973): Metaphyseal Dysostosis: Description of an Ultrastructural Defect in the Epiphyseal Plate chondrocytes. «J. Bone Joint Surg.», **55**, 485.
- CRUES, R. L., I. CLARK (1967): Effect of hipervitaminosis Dupon the phospholipids of metaphyseal bone. «Proc. Soc. Exp. Biol.», **126**, 8.
- CHRISTENSEN, W. R., C. LIEBMAN y M. C. SOSMAN (1951): Skeletal and Periarthicular Manifestations of Hypervitaminosis D. «Am. J. Roentgenol.», **65**, 27.
- DALE, G. G., y W. R. HARRIS (1958): Prognosis of epiphyseal separation. «J. Bone Joint Surg.», **40**, 166.
- DANIELLI, J. F. (1945): A critical study of techniques for determining the cytological position of alkaline phosphatasa. «J. Exp. Biol.», **22**, 110.
- DAVIDSON, E. A., y col. (1959): Biochemical alterations in herniated intervertebral disc. «J. Biol. Chem.», **234**, 2951.
- DAVIES, D. V. (1945): Anatomy and physiology of diarthrodial. «Joints. Ann. Rheum. Dis.», **5**, 29.
- DEWIND, L. T. (1961): Hypervitaminosis D with osteoclerosis. «Arch. Dis. Childhood.», **36**, 373.
- DHEM, A., y A. VINCENT (1965): Analyse microradiographique du squelette. «Recepte», **24**, 515.
- DUDLEY, H. R. (1961): The fine structure of the bone cells. «J. Biophys. Biochem. Cytol.», **11**, 627.
- DURKIN, J. F. (1969): A comparison of circulatory and calcification changes induced in the mandibular condyle, tibial epiphyseal and articular cartilages of the guinea pig by the onset and healing of scurvy. «Arch. Oral. Biol.», vol. **14**, 1373.
- EISENSTEIN, R., C. ARSENIUS y K. E. KUETTNER (1970): Electron microscopic studies of cartilage matrix using lysozyme as a vital stain. «J. Cell Biol.», **46**, 626.
- EISENSTEIN, R., y col. (1971): Organization of Extracellular Matrix in Epiphyseal Growth Plate. «Am. J. Pathol.», **65**, 515.
- ELLEGAST, H. (1965): Knochen-und Gelenkverände-Rungen bei Hypercorticismus und iatrogenem Hypercortisonismus. «Verh. dtsch. Inn. Med.», **71**, 873.
- ELLIOFF, H. C. (1936): Studies on articular Cartilages. I Growth mechanisms. «Am. J. Anat.», **58**, 127.
- ENG, W., y J. R. ESTERLY (1972): Histochemical localization of enzymes in cartilage in neonatal and adult rats. «Arch. Path.», **94**, 291.
- ENGFELDT, B. (1959): Studies on the epiphyseal growth zone. Electron microscopic studies on the normal epiphyseal growth zone. «Acta Path. Microbiol. Scand.», **75**, 201.
- FAHMY, A., y otros (1971): Ultrastructural Effects of Testosterone on Epiphyseal Cartilage. «Calcif. Tissue. Res.», **7**, 12.

- FISHER, D., W. BICHEL (1971): Corticosteroide induced avascular necrosis. A clinical study of seventy patients. «J. Bone J. Surgery.», **53**, 859.
- FOLDES, I., y col. (1970): Histochemical study of mucopolysaccharides and the deposition of mineral salts in postembryonic chondral ossification. «Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.», **18**, 117.
- FOLLIS, R. H., y R. BERTHRONG (1949): Histochemical studies on cartilage and bone. The normal pattern. «Bull. Johns Hopkins Hosp.», **85**, 281.
- (1951): Pathology of the osseous changes in Cushing's Syndrome in an Infant and in Adults. Bull. John Hopkins Hosp., **88**, 440.
- FRANCOIS, R. J., and A. DHEM (1974): Microrradiographic study of the normal human vertebral body. «Acta anat.», **89**, 251.
- 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.
- FRANKLIN, L., y col. (1966): Lipid content of the intervertebral disc. «Clin. Chem.», **12**, 253.
- GEER, R. B., G. H. JANICKE y H. J. MANKIN (1968): Protein-polysaccharide synthesis of three levels of the normal growth plate. «Calcif. Tiss. Res.», **2**, 157.
- GERARBE, H. W., M. JONES (1953): The effect of cortisone on collagen synthesis in vitro. «J. Biol. Chem.», **201**, 553.
- GODARD, H. (1952): L'osteogenese de croissance epiphysaire et les mucopolysaccharides de l'os. «Presse Med.», **60**, 414.
- GODMAN, G. C., and K. R. PORTER (1960): Chondrogenesis studies with the electron microscopic. «J. Biochem Biophys Cytol.», **8**, 719.
- GOMORI, G. (1943): Clasification and phosphatase. «Amer. J. Path.», **19**, 197.
- (1952): Microscopic Histochemistry. Principles and Practica. The University of Chicago Press, Chicago, p. 189.
- (1955): Histochemistry of human sterases. «J. His. Cyt.», **3**, 479.
- GRANDA, J. L., A. S. POSNER (1971): Distribution of four hidrolases in the epiphyseal plate. «Clin. Orthop.», **74**, 269.
- GREEN, W. T., G. N. MARTIN, E. D. EANES y L. SOKOLOFF (1970): Microrradiographic study of the calcified layer of articular cartilage. «Arch. Path.», **90**, 151.
- GREEP, R. O., y col. (1955): Recent advances in the study of structure, composition and growth of mineralized Tissues. «Ann. N. y Acad. Sci.», **60**, 543.
- GUTMAN, A. B., y T. F. YU (1949): Further studies of the relation between glycogenolysis and calcification in cartilage. New York, Macy.
- HADLEY, L. A. (1956): Secondary Ossification Centers and the Intra-Articular ossicle. «Am. J. Roentgenol.», **76**, 1095.
- HALL, D. A., y col. (1957): Mucopolysaccharides of human nuclei pulposi. «Nature» (Lond.), **179**, 1078.
- HALLEN, A. (1962): The collagen and ground substance of human intervertebral disc at different ages. «Acta Chem. Scand.», **16**, 705.
- HAM, A. W., y M. LEWIS (1934): Hipervitaminosis D rickets. «Brit. J. Exp. Path.», **15**, 228.
- y H. C. ELLIOTT (1936): The bone and Cartilage lesions of protracted moderate scurvy. «Am. J. Path.», **14**, 323.
- (1952): Some Histophysiological problems peculiar to calcified tissue. «J. Bone Joint Surg.», **34**, 701.
- (1970): Tratado de histología. Editorial Interamericana, S. A., p. 374. Sexta edición.

- HAMILTON, W. J., J. D. BOYD y H. W. MOSSMAN (1962): Human Embryology. Baltimore, Williams, Wilkins.
- HARRISON, R. C., y F. N. GAMEZ (1964): Hormonal effects on the vascularization of bone. «Symp. Zool. Soc. London», II, I.
- HAVIVI, E., D. S. BERNSTEIN (1969): Lipid metabolism in normal and rachitic rat epiphyseal cartilage. «Proc. Soc. exp. Biol.», **131**, 1300.
- (1971): Incorporation p³² Orthophosphate Into Phospholipid of Epiphyseal Cartilage. «Lipids», **6**, 314.
- HENDRY, N. G. C. (1968): The hidration of the nucleus pulposus and its relation to intervertebral disc derangement. «J. Bone Joint Surg.», **40**, 132.
- HERRATH, E. VON (1965): Atlas de Histología y Anatomía Microscópica Humanas. Ed. Científico-Médica, p. 33.
- HIRS, C. H. W. (1967): Methods in Enzymology. Enzyme Structure. Volume XI. Edited by.
- HJERTQUIST, S. O. (1964): Biophysical and chemical studies on the epiphyseal plate. With special reference to experimental rickets. Acta Univ. Upsaliensis Abstracts of Uppsala Dissertations in Medicine, número 18.
- HOLDEN, M., L. B. ADAMS (1957): Inhibitory effects of cortisone acetato hydrocortisone on growth of fibroblasts. «Proc. Soc. Exp. Biol. Med.», **95**, 364.
- HOLT, P. J. L., y otros (1972): Ultrastructure of Cartilage. «Ann. Rhfum. D.», **31**, 421.
- HÖVELS, O. (1962): Die Vit. D- Mangelrachitis. «Internist.», **3**, 282.
- y U. STEPHAN (1962): Das Krankheitsbild der idiopathischen Hyperkalzämie. Eine chronische vitamin D-Intoxikation. «Evg. Inn. Med. Kinderheilk. N.F.», **18**, 116.
- HULTH, A., S. OLERUD (1962): Tetracycline Labelling of Growing Bone. «Acta Soc. Med. upsalien.», **67**, 219.
- IANNACCONE, A., J. L. GABRILOVE, S. A. BRAHMS, L. J. SOFFER (1960): Osteoporosis in Cushing's Syndrome. «Ann. Int. Med.», **52**, 570.
- IRVING, J. T. (1965): Bone matrix lipids and calcification in Calcified tissues. Les Congrès et Colloques de L'Université de Liège. 313.
- IRVING, M. H. (1964): The blood supply of the growth cartilage in young rats. «J. Anat.», **98**, 631.
- JANSEN, MURK (1934): Über atypische Chondrodystrophic (Achondroplasia) und über eine noch nicht beschriebene angeborene Wachstumsstörung Des Wnochensystems: Metaphysäre Dystosi. Zeitschr. F. Orthop. Chir., **61**, 253.
- JIBRIL, A. D. (1967): Phosphates and phosphatases in prosseous cartilage. «Biochem. Biophys. Acta», **141**, 605.
- KAPLAN, D., and V. FISHER (1964): The effect of methylprednisolone on mucopolisaccharides of rabbit vitrous humor and costal cartilage. «Biochem. Biophys. Acta», **33**, 102.
- KEY, J. A. (1925): The reformation of synovial membrane in the Knees of rabbits after synovectomy. «J. Bone Joint Surg.», **7**, 793.
- (1948): Experimental Intervertebral Disc Lesions. «J. Bone Joint Surg.», **30**, 521.
- KEYES, D. C., y E. L. COMPERE (1932): The normal and Pathologic Physiology of the nucleus pulposus of the Intervertebral Disc. «J. Bone Joint Surg.», **14**, 897.

- KNESE (1971): Umgestaltung des endoplasmatischen Retikulum der Glykoproteine bildenden Skeletzzellen. «Acta Anat.», **79**, 504.
- KOCH, W. (1951): Die Verteilung von Thorium X und Platin im Heranwachsender organismus und der Einfluss von Thorium X auf das Fugenwachstum beim jugendlichen Kaninchen. «Strahlentherapie», **85**, 253.
- KOSTENSZKY, K. (1964): The effect of prednisolone on the neodifferential cartilage formation. «Acta Biol. Hung.», **15**, 129.
- , E. M. OLAM and B. MANDI (1970): Effect of prednisolone on the hexosamine and uronic acid content of regenerating articular cartilage. «Acta Biol. Acad. Sci. Hung.», **21**, 55.
- KROKOWSKI, E. (1973): Osteoporosis corticoidea. «Med. Klin.», **146**, 27.
- KUETTNER, K. E., L. W. SOBLE, H. L. GUENTHER, R. L. CROXEN y R. EISENSTEIN (1970): Lysozyme in epiphyseal cartilage. I. The nature of morphologic response of cartilage in culture to exogenous lysozyme. «Calcif Tissue Res.», **5**, 56.
- KUHLMAN, R. E. (1965): Phosphatases in epiphyseal cartilage. Their possible role in tissue synthesis. «J. Bone Joint Surg.», **47**, 545.
- LAVIETES, B. B. (1971): Kinetic of matrix synthesis in cartilage cell cultures. «Exp. Cell. Res.», **68**, 43.
- LEBLOND, C. P., y R. C. GREULICH (1956): Autoradiographic studies of bone formation and growth. The Biochemistry and Physiology of Bone, p. 325. New York, Academic Press.
- LEESON, S. T., y R. C. LESSON (1970): Histology. Segunda edición. Edit. Interam. Capítulo VII, 101.
- LICHTWITZ, A., y col. (1951): Mecanisme de l'action des hormone genitales sur le cartilage de conjugaison. «Sem. Hop.», **27**, 260.
- 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.
- MANNHART, H. (1970): Morphometric studies on the effect of cortisol on the growth cartilage of the rat. «Acta Anat. (Basel)», **76**, 250.
- MANKIN, H. J., y otros (1971): Biochemical and metabolic abnormalities in Articular Cartilage from Osteo-Arthritic Human Hips. «J. Bone Joint Surg.», **53**, 523.
- MARTIN, A. V. W. (1953): Fine structure of cartilage matrix. Nature and structure of Collagen, p. 129. New York, Academic Press.
- MATSUZAWA, T., y col. (1971): Phosphatases of epiphyseal cartilage studied by electron microscopic cytochemical methods. «J. Histochem.», **19**, 801.
- MATUKAS, V. J., B. J. PANNER, J. L. ORBISON (1967): Studies on ultrastructural identification and distribution of protein-polysaccharide in cartilage matrix. «J. Cell Biol.», **32**, 365.
- MCLEAN, F. C., y W. BLOOM (1940): Calcification and ossification. Calcification in normal growing bone. «Anat. Rec.», **78**, 333.
- MENOZZI, J. G. (1961): Endocrine gland and bone. «Arch. Cath.», **17**, 1125.
- MEYER, K3x5 (1956): The mucopolysaccharides of bone. Bone structure and metabolism. London.
- MILCH, R. A., D. P. RALL, J. E. TOBIE (1958): Fluorescence of Tetracycline Antibiotics in Bone. «J. Bone Joint Surg.», **40**, 897.
- , —, — (1961): Bone Localisation of the Tetracycline. «S. T. Nat. Cancer», **19**, 87.
- MITCHELL, P. E., y col. (1961): The chemical back ground of intervertebral disc prolapse. «J. Bone Joint Surg.», **43**, 141.

- MODIS, L. M., I. PETKO, I. FOLDES (1969): Histochemical Examination of Supporting Tissue by Means of fluorescence. II. Fluorochromes as an indicator of lammellar Bone Mineralization. «Acta morpho. Acad. Sci. Hung.», **17**, 157.
- MOSS-SALENTIJJN, L. (1974): Studies of long bone growth 1. Determination of differential elongation in paired growth plates of the rat. «Acta Anat.», **90**, 145.
- NOBACK, C. R., y G. C. ROBERTSON (1951): Sequence of appearance of ossification Centers in the human Skeleton During the First Five Prenatal Months. «Am. J. Anat.», **89**, 1.
- OLSON y Low (1972): Fine structure of Developing in chick-embryo. «Am. J. Anat.», **134**, 133.3
- PALFREY, A. J., y D. V. DAVIES (1966): The fine structures of chondrocytes. «J. Anat. Lond.», **100**, 213.
- PARK, E. A. (1964): The imprinting of nutritional disturbances on the growing bone. «Pediatrics», **33**, 815.
- PEACOCK, A. (1951): Observations on the prenatal development of the intervertebral disc in man. «J. Anat. Lond.», **85**, 260.
- PECK, W. A., J. BRANDI and J. MILLER (1967): Hidrocortisone induced inhibition of protein synthesis and uridine incorporation in isolated bone cells in vitro. «Proc. Nat. Acad. Sc. USA», **57**, 1599.
- PETERS, T. J., y SMILLIE (1971): Studies on Chemical Composition of Menisci from the Human Knes-Joint. «Proc. R. Soc. Med.», **64**, 261.
- PETKO, M., I. FOLDES, L. LOCSEY (1970): Fluorescence histological study of bone growth in the rats epiphyseal cartilage. «Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.», **18**, 349.
- PIETROGRANDE, V., R. MASTROMARINC (1957): Osteopatia da prolungato trattamento cortisonico. «Orthop. Traum. Appar. Mot.», **25**, 791.
- PLENK, H. (1973): Changes in the Composition of Polysaccharides during the Fusion of Epiphyses in Normal and Lathryritic Rats. «Calcif. Tissue Res.», **11**, 70.
- POOLE, A. R. (1970): The relationship between Toluidine Blue staining and hexuronic acid content of cartilage matrix. «Histochem. J.», **2**, 425.
- PRATT, C. W. M. (1957): Observations on osteogenesis in the femur of the femur of the foetal rat. «J. Anat. Lond.», **91**, 533.
- PRITCHARD, J. J. (1952): A cytological and histochemical study of bone and cartilage formation in the rat. «J. Anat.», **86**, 259.
- REISS, M., J. E. FERNÁNDEZ, M. L. GOLLA (1946): The peripheral inhibitory influence of large doses of testosterone on epiphyseal cartilaginous growth. «Endocrinology», **38**, 65.
- REVEL, J. P., y E. D. HAY (1953): An Autoradiographic and electron microscopic study of collagen synthesis in differentiating cartilage «Z. Zellforsch.», **61**, 110.
- RIEDE, U. N. (1971): Experimenteller Beitrag zum Problem der Gestörten Knorpelresorption in der rachtischen Tibias Epiphysenfuge. «Beitr. Pathol.», **144**, 23.
- (1971): Knorpelmineralisation nach umschriebener Schädigung der Ratten-Tibiaepiphysenfuge (Beitrag zur Klärung der rolle der Lysosomen inder chondrozyten). «Beitr. Pathol.», **143**, 271.
- RIVERA, J. M. (1973): El aparato de Golgi y la dinámica de la secreción celular. Real Acad. Med. Bilbao.
- ROAF, R. (1960): Vertebral Growth and its Mechanical Control. «J. Bone Joint Surg.», **42**, 40.

- ROBERT, B., M. D. SALTER y col. (1967): Hidrocortisone Arthropathy-An Experimental Investigation. «Can. Med. Ass. Jour.», **97**, 374.
- ROBINSON, R. (1923): The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification. «Biochem. J.», **17**, 286.
- (1932): The significance of Phosphoric esters in Metabolism. New York University Press, New York.
- ROBINSON, R. A., A. D. CAMERON (1956): Electron microscopy of cartilage and bone matrix at the distal epiphyseal line of the femur in the newborn infant. «J. Biophys. Biochem. Cytol.» Suppl. 2, 253.
- ROETZER, K. (1951): Zöliakie-Rachitis. «Z. Orthop.», **80**, 382.
- ROSENBERG, L., M. SCHUBERT, J. BANDSON (1967): The protein polysaccharides of bovine nucleus pulposus. «J. Biol. Chem.», **242**, 4691.
- ROSENTHAL, O., M. A. BOWIE y G. WAGONER (1941): Studies in the metabolism of articular cartilage. Respiration and glycolysis of cartilage in relation to its age. «J. Cell. Comp. Physiol.», **17**, 221.
- SAJDERA, S. W. (1969): Organization of protein polysaccharides and collagen in cartilage matrix. Thesis. Rockefeller University New York.
- SAKAI, T., R. L. CRUESS (1967): Effect of cortisone on the lipids of bone matrix in the rat. «Proc. Soc. exp. Biol.», **124**, 490.
- , T. YOSHINARI, R. L. CRUESS (1968): Effect of growth hormone upon the lipids of bone matrix. «Endocrinology», **83**, 51.
- SALTER, R. B., y P. FIELD (1960): The effects of continuous compression on living articular cartilage. «J. Bone Joint Surg.», **42**, 31.
- y W. R. HARRIS (1963): Injuries involving the epiphyseal plate. «J. Bone Joint Surg.», **45**, 587.
- , A. GROSS y J. M. HALL (1967): Hidrocortisone arthropathy. An experimental investigation. «Canadian Medical Association Journal», **97**, 374.
- SANDSTROM, C. (1951): Calcifications of the intervertebral disc. and the relationship between various Types of calcifications in the soft Tissues of the Body. «Acta radiol.», **36**, 217.
- SARRAT, R. (1960): Variaciones del substrato anatómico tiroideo bajo el influjo del hambre y la sed. «An. Anat.», **34**, 23.
- (1966): Modificaciones del substrato adrenal, tiroideo y gonadal. Producidas por alteraciones metabólicas. «An. Anat.», **15**, 213.
- (1967): Sobre el contenido celular del folículo tiroideo en condiciones experimentales. «An. Anat.», **38**, 57.
- (1968): Actividad fosfatasa alcalina en la corteza renal de la rata blanca a lo largo del desarrollo postnatal. «An. Anat.», **41**, 275.
- (1970): Actividad fosfatasa alcalina del esqueleto en desarrollo. «An. Anat.», **19**, 477.
- (1971): Algunas transformaciones del cuerpo vertebral y su disco en animales sometidos a dietas carenciales. «An. Anat.», **20**, 553.
- SCHAJOVICZ, F., L. ROMULO y M. O. CABRINI (1958): Histochemical studies on glycogen in normal ossification and calcification. «J. Bone. J. Surg.», **40**, 474.
- SCHENCK, P. K., D. SPIRO, J. WEINER (1967): Cartilage resorption in the Tibial epiphyseal plate of growing rats. «J. Cell Biol.», **34**, 275.
- SCHINZ, H. R., W. E. BAENSCH, E. FRIEDL y E. UEHLINGER (1953): Röntgen-Diagnostico. Edit. Salvat, S. A. Quinta edición. Tomo I.
- SCHWARZ, G. (1965): Der calcium-Phosphat-Stoffwechsel. OPITZSCHMID: Handbuch der Kinderheilkunde. Tomo IV. Springer, Berlin-Heidelberg-New York.

- S40TT, B. L. (19566): Electron microscopy of the epiphyseal apparatus. «Anat. Rec.», **124**, 470.
- SEGARRA, J. (1973): Significado biológico del calcio en los organismos superiores. «Rea I Acad. Med. Bilbao.
- SERAL, F. I., E. FERNÁNDEZ, J. REMARTÍNEZ (1974): Cortisona y osteonecrosis. Estudio experimental. Res. Artrop. Traum.», **18**, fascículo 1.º.
- SHIPLEY, P. G., B. KRAMER, J. HOWLAND (1926): Studies upon calcification in vitro. «Biochem. J.», **20**, 379.
- SILBERBERG, M., R. SILBERBERG (1941): Response of cartilage and bone of growth mice to testosterone propionate. «Arch. Path.», **32**, 85.
- (1956): Steroid hormones and bone. In: The biochemistry and physiology of bone (G. H. Bourne, etc.), 623. New York Academic Press.
- y M. HASLER (1964): Ultrastructure of articular cartilage of mice treated with somatotrophin. «J. Bone Joint Surg.», **46**, 766.
- y D. FEIR (1964): Life cycle of articular cartilage cells: An electron microscope study of the hip joint of the mouse. «Am. J. Anat.», **114**, 17.
- SILBERBERG, M., y col. (1966): Fine structure of articular cartilage in mice receiving cortisone acetate. «Arch. Path.», **82**, 569.
- SILBERBERG, R. (1968): Ultrastructure of articular Cartilage in health and disease. «Clin. Orthop.», **57**, 233.
- SILBERBERG, R. y otros (1971): Submicroscopic effects of hormones on articular cartilage of adult mice. «Arch. Pathol.», **91**, 241.
- SILVERMANN, F. N. (1954): Calcification of Intervertebral Disc in childhood. «Radiology», **62**, 801.
- SIMRIL, W. A., y D. THURSTON (1955): The normal Interpediculate Space in the Spines of Infants and children. «Radiology», **64**, 340.
- SISSON, H. A. (1956): The osteoporosis of Cushing's Syndrome. «J. Bone Joint Surg.», **38**, 418.
- (1956): The growth of bone. Biochemistry and Physiology of Bone Acad. Press, New York.
- , J. JOWSEY y L. STEWART (1959): Quantitative microradiography of bone tissue. Proc. and International Symposium on X-ray. Microscopy and X-ray micro-analysis, Stockholm.
- SLEDGE, C. B. (1968): Biochemical events in the epiphyseal plate and their physiologic control. «Clin. Orthopaed.», **61**, 37.
- SMITH, J. W., A. SERAFINI-FRACASSINI (1967): The distribution of the protein polysaccharide complex and collagen in bovine articular cartilage. «J. Cell Sci.», **2**, 129.
- (1970): The disposition of protein polysaccharide in the epiphyseal plate cartilage of the young rabbit. «J. Cell Sci.», **6**, 843.
- SPALTCHOZ, W. (1970): Handatlas der Anatomie des Menschen. Editorial Labor, S. A. Tomo I.
- STANESCU, R., V. STANESCU, P. MAROTEAU (1973): Histochemical and Microchemical studies on human Growth cartilage in Fetuses and Newborns. «Act. Paed. Sc.», **62**, 105.
- STEENDIJK, R. (1964): Studies on the Mechanism of the fixation of the Tetracyclin Bone. «Acta Anat. (Basel)», **56**, 363.
- STRUDEL, G., y col.: Modifications histochemiques du cartilage vertebral embryonnaire de poulet cultivé sur différents milieux. «C. R. Acad. Sci.». SUSSMAN, M. L., y B. COPLEMAN (1942): The roentgenographic Appearance of the Bones in Cushing's Syndrome. «Radiology», **39**, 288.
- SUZUKI, H. K., A. MATTHEWS (1966): Two-Color Fluorescent labelling of

- mineralising Tissues with Tetracycline and 2,4-bis Fluorescein. «Stain Technol.», **41**, 57.
- SWEETNAN, D. R., R. D. MURRAY and R. M. MASON (1960): Steroid arthropaty of the hip. «Brit. J. Med.», **1**, 1392.
- SZIRMAI, J. (1963): Quantitative approaches in the histochemistry of mucopolysaccharides. «J. Histochem. Cytochem.», **11**, 24.
- TAKUMA, S. (1960): Electron microscopy of the developing cartilagenous epiphysis. «Arch. Oral. Biol.», **2**, 111.
- TERMINE, J. D., A. S. POSNER (1967): Amorphous crystalline interrelationships in bone mineral. «Calcif. Tissue Res.», **1**, 8.
- THOMAS, E. (1952): Selbsteilung im Kindesalter der orthotische Faktor. «Münch. med. Wschr.», **94**, 2573.
- THOMAS, L. (1964): The effect of papain, vitamin A and cortisone on cartilage Matrix in vivo. «Biophys. J.», **4**, 207.
- THYBERG, J., U. FRIBERG (1970): Ultrastructure and acid phosphatase activity of matrix vesicles and cytoplasmic dense bodies in the epiphyseal plate. «J. Ultrastruc. Res.», **33**, 554.
- THYBERG, J., y col. (1971): Ultrastructure of the epiphyseal Plate of the Normal Guinea Pig. «Z. Zellforsch. Mikosk. Anat.», **122**, 254.
- (1972): Ultrastructural localization of sulfate activity in Epiphyseal plate. «J. Ultras. Res.», **38**, 332.
- TURNER, H. J., E. LACHMEN, A. HELLBAUM (1941): Effect of testosterone propionate on bone growth and skeletal maturation of normal and castrated male rats. «Endocrinology», **29**, 425.
- VAN DEN HOOFF, A. (1964): Histological age changes in the annulus fibrosis of the human intervertebral disc; With a discussion of the problem of disc herniation. «Gerontologia (Basel)», **9**, 136.
- VITTUR, F., y col. (1971): Chemical Modifications of cartilage Matrix during Endochondral Calcification. «Experientia», **27**, 126.
- WANKEN, J. J. y otros (1969): Changes in metabolic activity of various epiphyses with age. «Surg. Forum.», **20**, 464.
- WASSERMAN, R. H., C. L. COMAR, M. M. NOLD (1956): The influence of amino acids and other organic compounds on the gastrointestinal absorption of calcium⁴⁵ and strontium⁸⁹ in the rat. «J. Nutr.», **59**, 371.
- A. N. TAYLOR (1965): A vitamin D₃ dependent factor influencing calcium binding by homogenates of chick intestinal mucosa. «Nature», **205**, 246.
- WESTERBORN, D. (1961): The effect of papain on epiphyseal cartilage. A morphological and biochemical study. «Acta chir. Scand.», Suppl. 270.
- WILKINS, LAWSON (1955): Hormonal influences on skeletal growth. «Ann. N. y Acad. Sci.», **60**, 763.
- WOLINSKY, I., K. GUGGENHEIM (1970): Lipid Metabolism of chick epiphyseal Bone and Cartilage. «Calcif. Tissue Res.», **6**, 113.
- WUTHIER, R. F. (1968): Lipids of mineralizing epiphyseal tissue in the bovine fetus. «J. Lipid. Res.», **9**, 68.
- WYSS, TH. (1948): Die Kraftfelder in festen Knörpen. «Vierteljahrsehr. d. Naturforsch. Ges.», Zurich, **93**, 151.
- ZAMBOTTI, V., I. CESCON, B. BONFERRONI y L. BOLOGNANI (1962): Lipids of epiphyseal cartilage. «Experientia» (Basel), **18**, 318.

C. GASCÓN
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Bilbao (España)

MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS Y ALTERACIONES CROMOSÓMICAS PROVOCADAS POR LA ACCIÓN DE LA ADRIAMICINA SOBRE FIBROBLASTOS EN EMBRIÓN DE POLLO CULTIVADOS IN VITRO⁽¹⁾

POR

J. L. LANCHO ALONSO⁽²⁾

Introducción

LA adriamicina (14, hidroxidaunomicina) es un antibiótico antitumoral aislado del *Streptomyces peucetius* var. caesius (DI MARCO, GAETANI y SCARNIPATO, 1969), que interviene en el metabolismo de los ácidos nucleicos inhibiendo su síntesis.

Es soluble en agua, suero salino fisiológico y metanol; débilmente soluble o insoluble en solventes orgánicos de baja polaridad. Da un espectro ultravioleta y posee una alta rotación óptica. Es estable en estado sólido, mientras que en solución acuosa su estabilidad varía con el pH y la concentración del tampón (DI MARCO y col., 1969; ARCAMONE y col., 1972).

Estudios quimioterápicos realizados por DI MARCO y col. (1969) y ARCAMONE y col. (1969) han demostrado que la adriamicina retarda el crecimiento del carcinoma ascítico de Erhlich, inhibe el crecimiento del sarcoma 180 y del mieloma OGG (Oberling-Guerin-Guerin) en los ratones. SILVESTRINI y col. (1970) han estudiado la actividad biológica de la adriamicina "in vitro" sobre células HeLa del carcinoma de la portio uterina. La adriamicina se fija a nivel

(1) Trabajo realizado en el Instituto de Histología y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Lieja (Bélgica), bajo la dirección del Prof. R. Bassleer, con motivo de la beca post-doctoral de investigación en el extranjero del Ministerio de Educación y Ciencia.

(2) Prof. adjunto interino de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca (Jefe: Prof. P. Amat).

de la cromatina perinucleolar y provoca un fuerte disturbio de la mitosis con inhibición preprofásica, a dosis básicas, y un bloqueo mitótico a dosis más elevadas.

Según BOLL (1972), los efectos de la adriamicina sobre la médula ósea humana cultivada "in vitro" pueden ser resumidos en el sentido de que la regeneración de los granulocitos normales está disminuida aproximadamente en la misma proporción que en las células HeLa, pero no tanto como los linfocitos estimulados con fitohemaglutinina (PHA). Los granulocitos binucleados están aumentados correspondiendo a las células gigantes observadas por MASSIMO y col. (1970).

Sobre leucocitos humanos cultivados "in vitro", VIG (1971) ha demostrado que la adriamicina produce trastornos a dosis tan bajas como 0'02 $\mu\text{g/ml}$ durante 224 horas ó 0'05-0'10-0'15 $\mu\text{g/ml}$ durante 3-4 horas. Este autor ha observado aberraciones cromosómicas de todo tipo, tanto intra como inter-cromátide-cromosómica y cromátide-cromosómicas. Parece ser, siguiendo la opinión de VIG (1971), que los cromosomas 3 e Y son más resistentes al efecto de la droga que los otros cromosomas.

MASSIMO y col. (1970) describen la inhibición de la transformación blástica de linfocitos humanos cultivados "in vitro" y estimulados con PHA, a todas las concentraciones estudiadas (0'05-5 $\mu\text{g/ml}$ de adriamicina). También han observado la presencia de células blásticas gigantes (diámetro de 50 a 70 μ) a dosis de 0'05-0'2 $\mu\text{g/ml}$ y alteraciones cromosómicas en los linfocitos, incluso a dosis más bajas. Para estos autores, la acción más clara de la adriamicina es el efecto mutágeno que puede ser responsable de la inhibición de la blastogénesis, gigantismo celular y la hiperploidía.

La administración de adriamicina en los ratones CRF provoca una secuencia de alteraciones ultraestructurales en el nucléolo de las células hepáticas (LAMBERTENGI-DELLILERS, 1972). El primer cambio es la fragmentación del nucleolema seguida de la segregación de los componentes nucleolares a los 10 minutos de una dosis intravenosa de 20 mg/Kg de peso corporal.

Con el fin de ampliar las referencias sobre la acción de este antibiótico antitumoral, hemos creído conveniente realizar un estudio de las alteraciones morfológicas y cromosómicas que puede provocar esta droga sobre fibroblastos de embrión de pollo cultivados "in vitro", material idóneo para este tipo de experimentos. Posteriormente completaremos estos datos morfológicos con un estudio de las evaluaciones de DNA por citofotometría de absorción con luz visible.

Material y métodos

1. Cultivo de tejidos

Fibroblastos de embrión de pollo de 10 a 11 días han sido cultivados sobre laminillas en caja de Falcon en un medio líquido. Se utilizó el MEM (Eagle) con BSS de Earle (EAGLE, 1959), suero de vaca fetal y líquido de Tyrode-glicosol.

A los tres días, las células han sido aireadas y después de lavadas con líquido Tyrode-glicosol a 37°, se les ha añadido el medio nutritivo renovado.

La adriamicina ha sido agregada al medio nutritivo en el momento del "entretenimiento y mantenimiento del cultivo", a concentraciones de 0'05 $\mu\text{g/ml}$, 0'1 $\mu\text{g/ml}$ y 0'5 $\mu\text{g/ml}$. La duración del tratamiento ha sido de 24, 48 y 72 horas. Los cultivos testigos se efectuaron al mismo tiempo y en las mismas condiciones, a excepción de la exposición a la adriamicina.

2. Estudio citológico de las células

Los fibroblastos fueron observados vivos y fijados.

Las células vivas, mantenidas en el medio nutritivo y a 37° C, fueron estudiadas con la ayuda de un microscopio de contraste de fase.

La fijación de los fibroblastos se hizo con una mezcla de alcohol absoluto-acetona a partes iguales a 4° C durante 24 horas.

Una vez fijadas, las células fueron coloreadas con la reacción de Feulgen, siendo examinadas en contraste de fase.

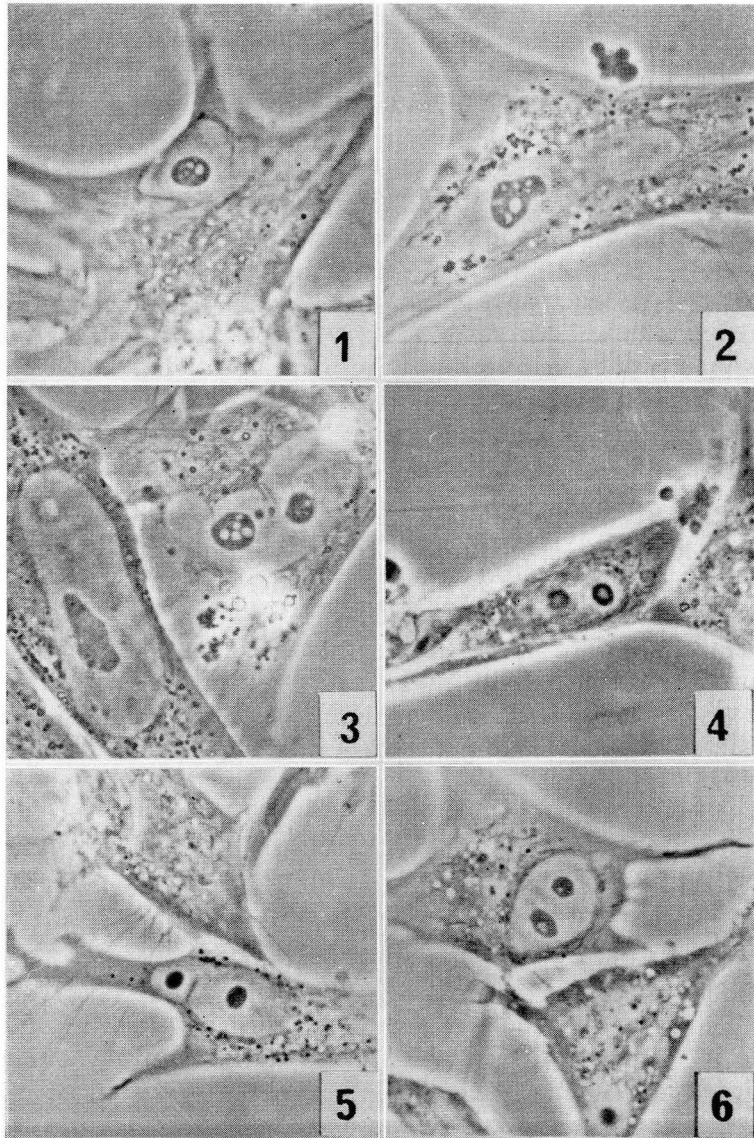
Resultados

1. Observaciones en contraste de fases sobre células vivas

El examen de fibroblastos de embrión de pollo vivos, tratados con adriamicina (dosis y tiempo de contacto, ya indicados) nos permite señalar la existencia en todas las células observadas de un nucléolo vacuolizado que en muchas ocasiones es un auténtico "núcléolo en anillo", por la existencia de una gran vacuola concéntrica a la periferia nucleolar.

Esta lesión nucleolar es ya patente desde las 24 horas del tratamiento en las tres concentraciones del antibiótico antitumoral (figuras 1, 2 y 3).

Los núcleos, de forma generalmente elíptica, no presentan alteración demasiado ostensible. También pueden verse células que poseen micronúcleos (figs. 4 y 5).



A nivel citoplasmático se aprecian vacuolas (fig. 6), a veces existentes en el aparato de Golgi.

El condrioma no está alterado, siendo filamentoso (fig. 7). Las membranas son muy activas y presentan largas prolongaciones.

A las 48 horas de tratamiento, la lesión nucleolar persiste, es decir, que la vacuolización del nucléolo y la existencia de "núcleolos en anillo", es evidente. Es preciso señalar que puede observarse algún nucléolo más grueso que la generalidad. La presencia de bolas citoplasmáticas (fig. 8) en algunas células es signo de mala salud celular y fue observado en cultivos con dosis de $0.1 \mu\text{g/ml}$ al cabo de estos dos días de tratamiento. Dato, este último, que no ha sido observado en los cultivos controles (fig. 9).

A las 72 horas, la lesión persiste en la generalidad del cultivo. De vez en cuando se observa algún nucléolo grueso. El condrioma permanece sin alteración y con un aspecto filamentoso. En ocasiones hemos observado también la existencia de bolas citoplasmáticas. En definitiva: al cabo de 3 días de exposición de los fibroblastos ante la adriamicina, observamos la misma lesión nucleolar (vacuolización y nucléolo en anillo) y además la acción del antibiótico no provoca la muerte celular a ninguna de las tres dosis utilizadas.

2. Observaciones en contraste de fase sobre células fijadas

El examen de los fibroblastos fijados nos muestra una serie de alteraciones nucleares y cromosómicas existentes desde las 24 horas de tratamiento y a las tres dosis de la droga.

FIG. 1. — Vacuolización nuclear de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.05 \mu\text{g/ml}$ /24 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.

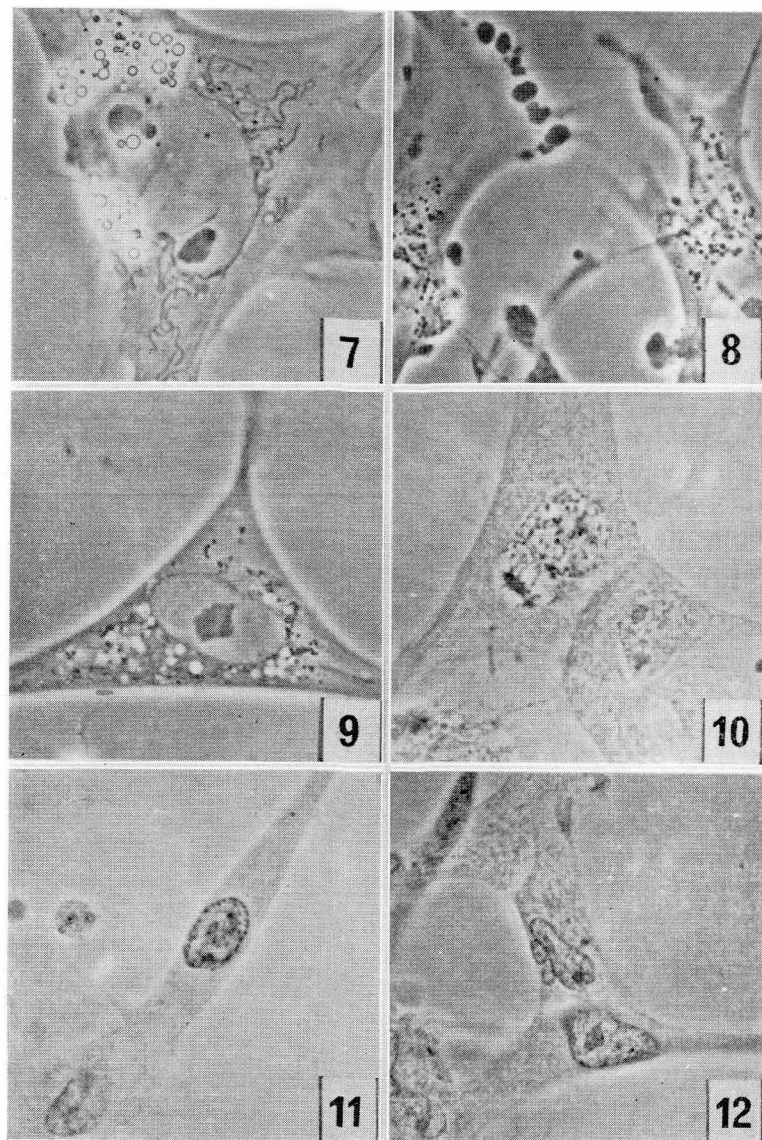
FIG. 2. — Vacuolización nucleolar de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.1 \mu\text{g/ml}$ /48 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.

FIG. 3. — Vacuolización nucleolar de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.1 \mu\text{g/ml}$ /72 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.

FIG. 4. — Núcleolo en anillo de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.1 \mu\text{g/ml}$ /24 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.

FIG. 5. — Micronúcleo o núcleo accesorio de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.1 \mu\text{g/ml}$ /24 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.

FIG. 6. — Vacuolas citoplasmáticas de un fibroblasto de embrión de pollo tratado con $0.1 \mu\text{g/ml}$ /24 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. $100\times$.



Los tipos de alteraciones nucleares que hemos observado son presentadas en las figuras 10, 11, 12 y 13. Se trata de una disgregación del material nuclear (fig. 10), un núcleo granuloso (fig. 11), presencia de núcleos accesorios por segregación del núcleo principal (fig. 12) y micronúcleos (fig. 13).

Aunque pueden verse figuras mitóticas normales, semejantes a las encontradas en los cultivos controles (fig. 14), en general las mitosis se hallan alteradas. Lo más característico es la presencia de cromosomas dispersos o "perdidos" en el citoplasma, sobre todo en metafase (fig. 15) y anafase (fig. 16) (también se ven en telofase), y la existencia de cromosomas aberrantes y de cromosomas que no han seguido el desplazamiento normal (cromosomas en retardo) (figura 17), pudiendo establecer un puente cromosómico como el observado en la telofase de la figura 18.

Discusión y conclusiones

Nuestros resultados, obtenidos sobre fibroblastos de embrión de pollo vivos, en contraste de fase, son comparables a los descritos por LAMBERTENGI-DELLILERS (1972) al estudiar ultraestructuralmente las alteraciones nucleares de las células hepáticas provocadas por la adriamicina. Esta autora describe como primer cambio la fragmentación del nucleolema a los 10 minutos de exposición de las células hepáticas ante una dosis de 20 mg/Kg de peso corporal por inyección intravenosa. Dosis muy superior a la administrada a nuestros cultivos.

FIG. 7. — Condrioma glamentoso, no alterado, de un fibroblasto de embrión de pollo, tratado con 0'5 $\mu\text{g/ml}$ /48 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. 100 \times .

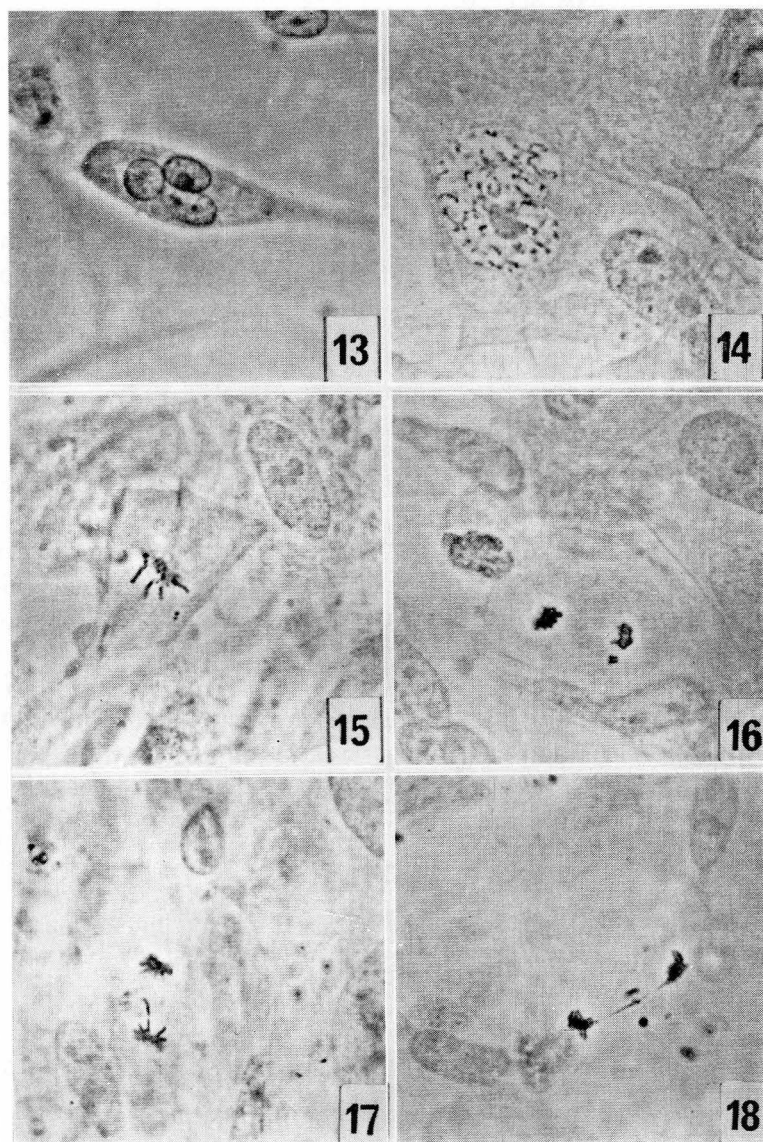
FIG. 8. — Bolas citoplasmáticas indicadoras de mala salud celular. Fibroblasto de embrión de pollo tratado con 0'1 $\mu\text{g/ml}$ /48 horas de adriamicina. Contraste de fase sobre células vivas. 100 \times .

FIG. 9. — Fibroblasto de embrión de pollo; cultivo control, 48 horas. Contraste de fase sobre células vivas. 100 \times .

FIG. 10. — Fibroblasto de embrión de pollo. Disgregación nuclear. Tratamiento con adriamicina: 0'05 $\mu\text{g/ml}$ /24 horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 11. — Fibroblasto de embrión de pollo. Núcleo granuloso. Tratamiento con adriamicina: 0'1 $\mu\text{g/ml}$ /24 horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 12. — Fibroblasto de embrión de pollo. Núcleos accesorios. Tratamiento con adriamicina: 0'1 $\mu\text{g/ml}$ /48 horas. Contraste de fase sobre células vivas. R. de Feulgen. 100 \times .



La presencia de "nucléolos en anillo" es un dato que nos orienta hacia una modificación de la síntesis de DNA, con la consiguiente alteración de la mitosis. Nosotros hemos observado un gran número de células, prácticamente todas, en interfase que no han seguido el ciclo. SILVESTRINI y col. (1970) demuestran, en un estudio realizado sobre células HeLa, que la adriamicina se fija en la cromatina perinucleolar y provoca una fuerte alteración de la mitosis.

Las alteraciones cromosómicas encontradas en nuestros cultivos fijados están en concordancia con las descritas por VIG (1971) en leucocitos humanos cultivados "in vitro" y por MASSIMO y col. (1970) en cultivo "in vitro" de linfocitos estimulados con PHA.

LHOEST-GAUTHIER y col. (1972), estudiando la acción de la Daunomicina sobre fibroblastos de embrión de pollo y rata cultivados "in vitro", encuentran nucléolos condensados, fragmentados y con segregación de sus constituyentes, así como una actividad mitótica casi nula. Dado que la adriamicina es la 14-hidroxiadriamicina, las alteraciones nucleolares encontradas por nosotros se corresponden, en cierto modo y grado, con las descritas por estos autores. Además, las células no han muerto a las 72 horas de tratamiento con ninguna de las dosis empleadas y por consiguiente podemos suponer que en nuestras condiciones experimentales la adriamicina no mata la célula. Datos, este último, que también es observado por LHOEST-GAUTHIER y col. (1972).

En *conclusión*: La adriamicina provoca modificaciones morfológicas y alteraciones cromosómicas sobre fibroblastos de embrión de pollo cultivados "in vitro" (vacuolización del nucléolo, nucléolo

FIG. 13. — Fibroblasto de embrión de pollo. Micronúcleos. Tratamiento con adriamicina: 0'1 $\mu\text{g}/\text{ml}/48$ horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 14. — Profase normal de un cultivo control de 48 horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 15. — Metafase anormal con cromosoma perdido en citoplasma. Fibroblasto de embrión de pollo. Tratamiento con adriamicina: 0'05 $\mu\text{g}/\text{ml}/24$ horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 16. — Anafase anormal con cromosoma perdido en citoplasma. Fibroblasto de embrión de pollo. Tratamiento con adriamicina: 0'05 $\mu\text{g}/\text{ml}/24$ horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 17. — Anafase anormal con cromosoma en retardo. Fibroblasto de embrión de pollo. Tratamiento con adriamicina: 0'1 $\mu\text{g}/\text{ml}/48$ horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

FIG. 18. — Telofase anormal con puente cromosómico. Tratamiento con adriamicina: 0'1 $\mu\text{g}/\text{ml}/48$ horas. Contraste de fase sobre células fijadas. R. de Feulgen. 100 \times .

en anillo, vacuolas citoplasmáticas, cromosomas retardados, puentes cromosómicos, etc.), y no produce la muerte de la célula. Hechos que nos indican que la adriamicina provoca una alteración de la síntesis de DNA y que trataremos de demostrar, con posterioridad, por medio de un estudio citoquímico de nuestro material en relación con el DNA.

Resumen

Se describen las lesiones nucleolares y alteraciones cromosómicas que provoca la adriamicina (antibiótico antitumoral) sobre fibroblastos de embrión de pollo cultivados «in vitro», vivos y fijados. La vacuolización nucleolar comienza a las 24 horas de tratamiento y persiste a las 48 y 72 horas de iniciado el mismo y a las tres dosis administradas (0'05 $\mu\text{g/ml}$, 0'1 $\mu\text{g/ml}$ y 0'5 $\mu\text{g/ml}$). También se describen las anomalías cromosómicas (cromosoma retardado, perdido en citoplasma, etc.).

Summary

Chick embryo fibroblast have been treated in vitro by adriamycin (0'05 $\mu\text{g/ml}$, 0'1 $\mu\text{g/ml}$ and 0'5 $\mu\text{g/ml}$). Living cells have been observed by phase contrast microscopy; cells have been examined after histological fixation by phase contrast microscopy.

In the treated cells, the nucleoli are vacuolized. The mitotic activity is low. After 72 hours of treatment the cells are living but is interesting to note the presence of several chromosomic alterations (bridge chromosomic, retard chromosome, etc.).

Zusammenfassung

Man beschreibt die Schädigungen der Kerne und die Veränderungen der Chromosomen, verursacht mit Adriamizine (antitumorale Antibiotika) über Fibroblastenkulturen aus Hühnchenembryonen, «in vitro», lebend und fixiert. Die Vakuolisierung der Kerne beginnt nach 24 Stunden Behandlung und verbleibt nach 48 und 72 Stunden, auch nach drei gegebene Dosis (0'05 $\mu\text{g/ml}$, 0'1 $\mu\text{g/ml}$ und 0'5 $\mu\text{g/ml}$). Es Werden auch die Anomalien der Chromosomen berchrieben (verspätete Chromosom, in Zytoplasma verloren, u.S.w.).

Résumé

Des fibroblastes d'embryos de poulet ont été cultivés «in vitro» en présence d'adriamicine (0'05 $\mu\text{g/ml}$, 0'1 $\mu\text{g/ml}$ et 0'5 $\mu\text{g/ml}$). Les observations morphologiques ont été effectuées en contraste de phase sur le vivant et sur les cellules fixées.

Sous l'effet du traitement, les nucléoles son vacuolisés; L'activité mitotique est descendue et nombreuses cellules restent en interphase. A la fin de notes conditions expérimentales (24, 48 et 72 heures du traitement) les cellules restent encore vivants.

On décrit aussi, des altérations chromosomiques.

BIBLIOGRAFÍA

- ARCAMONE, F., G. GASSINELLI, G. FRANCESCHI, S. PENCO, C. POL, S. REDAELI y A. SELVA (1972): Structure and Physiological properties of Adriamycin (Doxorubicin). International Symposium on Adriamycin. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, I, 10-22.
- BOLL, I. T. M. (1972): Effect of Adriamycin on the cell Kinet of Human Bone Marrow in vitro. International Symposium on Adriamycin. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, II, 23-25.
- DI MARCO, A., M. GAETANI y B. SCARPINATO (1969): Adriacycin (NSC-123, 127): A new Antibiotic with Antitumor activity. «Cancer Chemotherapy Reports», I, 53, 1, 33-37.
- EAGLE, H. (1959): Amino acid metabolism in mamalian cell cultures. «Science», **130**, 432-437.
- LAMBERTENGI-DELLIERS, G. (1972): Ultrastructural alterations induced in Hepatic cell Nucleoli by Adriamycin. International Symposium on Adriamycin. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, II, 26-34.
- LHOEST-GAUTHIER, M. P., R. BASSLEER y G. GOESSENS (1972): Analyse cytologique et cytochimique des effets de la Daunomycine dans des fibroblastes cultivés in vitro. «Arch. Biol.», **83**, 513-533.
- MASSIMO, L., F. DAGNA-BRICARELLI y A. FOSSATI-GUGLIELMONI (1970): Effects of Adriamycin on Human Lymphocytes stimulated with PHA in vitro. «Rev. Europ. Etudes Clin. et Bil.», **15**, 793-799.
- SILVESTRINI, R., C. GAMBARUCCI y T. DASDIA (1970): Attività Biologica dell' Adriamicina in vitro. «Tumori», **56**, 137-148.
- VIG, B. K. (1971): Chromosomes Aberrations Induced in Human Leukocytes by the Antileukemic Adriamycin. «Cancer Research», **31**, 32-38.

J. L. LANCHO-ALONSO
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Salamanca (España)

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DEL DESARROLLO DE LA VAGINA Y PORTIO VAGINALIS DEL ÚTERO EN RELACIÓN CON EL DE ZONAS DE POSIBLE FUNCIÓN INDUCTORA⁽¹⁾

POR

M.^a F. MARTÍNEZ CASAMAYOR

Antecedentes bibliográficos

A) Sobre procesos fisiopatológicos del eje uterovaginal en posible relación con fundamentos del desarrollo.

1.º Respecto a hechos que clínicamente nos han llamado la atención, son de fundamental importancia los trabajos de los autores que señalamos a continuación:

Respecto a la diferenciación en dos tipos de carcinomas de cuello uterino hemos de referirnos fundamentalmente a:

a) NOGALES, F., en los años 1958-63, individualizó morfológicamente dos tipos de carcinomas de cuello uterino, uno que denominó malpighiano y otro mulleriano.

b) DE BRUX, en 1971, acepta esta división de los dos tipos de tumores en su "Histopatologie gynecologyque".

c) STERN and KAPLAN (1969) en "Multicentric foci of carcinoma arising in genital structures of cloacal origin", basándose en el origen embriológico del seno urogenital del epitelio exocervical, clasifican histogenéticamente los carcinomas de éste en epidermoides (cloacales) y mullerianos.

2.º Refiriéndonos a la atresia o aplasia vaginal, es un hecho firmemente adquirido que en aquellos casos de ausencia congénita de vagina basta labrar artificialmente un lecho cruento entre ure-

(1) Tesis doctoral realizada y dirigida en el Departamento de Anatomía de la Universidad de Zaragoza en coordinación con el C.S.I.C. Calificada con sobresaliente "cum laudae" el día 14 de noviembre de 1975.

Tribunal calificador: presidente, J. Escolar; vocales, L. Jiménez, H. Martínez, J. Sanz-Esponera; secretario, J. Iglesias.

tra y recto y recubrirlo con diferentes tejidos (amnios, intestino, aponeurosis, etc.) para lograr una cavidad epitelizada con las mismas propiedades morfológicas y funcionales que el tejido vaginal normal. A este respecto nos corrobora este hecho los trabajos de:

a') C. QUATROCCHI, en 1967, en "Vaginal aplasia and its surgical menagement" nos presenta 6 casos de atresias vaginales tratadas con una neovagina, obteniendo en todos los casos un órgano funcional y bien epitelizado.

b') Y. ROCHET, D. DARGENT, A. DRAPIER, J. VIGNAL et J. MATHIEU, en "Le Traitement Chirurgical de l'absence congénitale de vagin avec utérus fonctionnel", en 1971, presentan dos casos en los que consiguen una neovagina funcional haciendo un clivaje intervesicorrectal.

c') M. COUETTE, P. GAGNON and A. LEBLOND, en "Congenital absence the vagina", 1964, insertan un injerto cutáneo en un espacio creado quirúrgicamente entre recto y vajina.

d') S. KLINE, en "Congenital vaginal atresia", 1966, consigue resultados satisfactorios, al igual que los otros autores.

B) Sobre el desarrollo del eje uterovaginal, en terreno embriológico.

Al referirnos a este punto creemos conveniente agrupar los autores en base a una homologación de sus criterios sobre el desarrollo embriológico de la vagina. Así, por ejemplo, citaremos a los autores que conceden a la vagina:

1.º Un origen únicamente mulleriano:

— FÉLIX, W., 1912; THIERSCH, 1912; BLOOMFIELD, 1927; HUNTER, R. H., 1930; FRAZER, 1940.

2.º Un origen exclusivamente derivado del seno urogenital:

— RATHKE, 1832; VALENTÍN, 1835; JOST, 1956.

3.º Un origen wolfiano:

— HART, 1896; KEMPERMAN, 1931-35; FORSBERG, 1963.

4.º Origen mixto mulleriano y wolfiano:

— TOURNEUX, 1921; MIJSBERG, 1924.

Hay que consignar que en los últimos años la mayoría de los autores conceden a la vagina un origen doble:

5.º Mulleriano y sinusal:

— VILAS, E., 1932, afirma que una proliferación de la pared del seno forma el epitelio de la vagina, desplazando el epitelio del canal uterovaginal hasta el cuello.

— KOFF, A., 1933, refiere que el quinto inferior de la vagina deriva del seno urogenital, por crecimiento de los bulbos senovaginales, que se fusionan para formar el segmento vaginal inferior.

— FISCHER, A., 1943, opina que entre el seno urogenital y la desembocadura de la unión de los conductos de Müller se forma un espacio intermedio y en éste prolifera el epitelio del seno, dando origen a una sólida placa epitelial de la que deriva el epitelio de la vagina; las células centrales de esta placa vaginal se atrofian y forman la cavidad del órgano.

— BULMER, D., 1957, consigna que un crecimiento que parte del seno urogenital formará todo el epitelio vaginal. Da un doble origen a la vagina, mülleriano y sinusal; sin embargo, piensa en una influencia de los conductos de Wolf, que en la parte baja, al entrar en el seno, están en estrecha relación con los conductos de Müller.

— Bradley M. PATTEN, 1958, considera que las células epiteliales originadas en el seno urogenital proliferan muy rápidamente y ejercen presión reemplazando las células epiteliales de la parte inferior de los conductos de Müller unidos; no sabe hasta qué punto se extiende esta invasión. Los conductos de Müller se unen por el tubérculo de Müller con el seno urogenital; la zona donde este tubérculo se abre para constituir el orificio vaginal será el himen.

— HARRISON, R. G., 1963, dice que la parte final del canal útero-vaginal (tubérculo de Müller) termina en la parte pelviana del seno urogenital; proliferaciones de la parte pelviana del seno crecen hacia arriba formando el epitelio de la pared vaginal. Los conductos de Müller unidos forman el canal uterovaginal que da lugar al útero y actúa como de cuña (empujando) en el sitio donde la vagina se formará.

— HAMILTON, BOYD and MOSSMAN, en 1966, relatan que los conductos de Müller contactan con el seno por medio del tubérculo de Müller, aparecen unas evaginaciones endodérmicas del seno, que se fusionan en el centro, y forman la placa vaginal. La porción pelviana del seno forma la vagina. En la región del tubérculo de Müller se entremezclan células endodérmicas del seno y mesodérmicas de los conductos de Wolf y Müller; de esta región nacen prolongaciones epiteliales que crecen en sentido craneodorsal y originan parte de la vagina y parte del utrículo prostático.

— AGOGUE, 1965, llega a la conclusión de que el origen de la vagina es doble, mülleriano y sinusal. Por otra parte, piensa que desde el punto de vista histológico la presencia de un núcleo mesenquimatoso en el abocamiento de la vagina al seno lleva consigo una diferenciación en el mismo sentido de los epitelios de los conductos de Müller y del seno urogenital para concluir en la formación de un epitelio vaginal uniforme.

— Jan LANGMAN, en 1969, sin embargo, es de opinión contraria a los anteriores autores, diciéndonos que los conductos de Müller alcanzan la pared posterior del seno urogenital y en éste apare-

cen dos evaginaciones macizas (bulbos senovaginales) que forman una lámina compacta (lámina vaginal); ésta empezará a canalizarse hasta que lo hace por completo. Afirma que la vagina proviene por completo del seno urogenital.

— SOLERE, M., et HAEGEL, P., 1969, conciben el proceso de forma que la pared posterior del seno urogenital se engrosa enfrente del tubérculo de Müller y forma con él la lámina epitelial vaginal que emite una evaginación que envuelve el polo inferior del útero. La lámina epitelial vaginal se permeabiliza y forma la vagina y al lado del cuello los fondos de saco vaginales. La vagina queda separada del seno urogenital por el himen.

— FORSBERG, J. G., and ABRO, A., en 1971, conceden también un doble origen a la vagina, mülleriano y sinusal, y encuentran en los embriones de rata de tempranas edades una parte de vagina con epitelio mülleriano y otra con epitelio del seno, y en la rata recién nacida, un epitelio uniforme, aunque inmaduro.

— BECK, F., MOFFAT, D. B., and LLOYD, J. B., en 1973, aceptan que los conductos de Müller acaban en el seno urogenital por el tubérculo de Müller, éste se ve presionado desde el seno por una proliferación de células y esta masa de células endodérmicas procedentes del seno junto con el canal uterovaginal (conductos de Müller fusionados) formarán la vagina, el cuello y el cuerpo.

— CZYBA, J. C., COSNIER, J., GIROD, C., et LAURENT, U. L., en 1973, son del parecer de que los conductos de Müller en su parte inferior se aplanan y sus paredes anterior y posterior constituyen la lámina epitelial vaginal. El origen de esta lámina es aún controvertido y así el origen embriológico de la vagina no está aún claro.

— DOLLANDER, A., et RENART, R., 1973, opinan que los canales de Müller forman las trompas, útero y parte de la vagina.

— POIRIER, J., et COHEN, I., en 1974, encuentran que la parte posterior del seno urogenital prolifera hacia la extremidad caudal de los conductos de Müller fusionados y dará lugar a la vagina. Del seno urogenital asciende una masa epitelial maciza que se va a encontrar con los conductos de Müller, ésta masa epitelial se ahueca y constituirá la vagina, y persiste un tabique transversal que es el himen.

— GAGNAIRE, C. G., LAURENT, J. L., et ROCHET, Y., en 1975, refieren que hacia la décima semana aparece en el seno urogenital, en su pared posterior, una proliferación celular intensa en el punto en que los Müller contactan con el seno. Esta proliferación va creciendo y forma los bulbos senovaginales; el origen de esta proliferación es aún controvertido. Los bulbos crecen y forman la lámina epitelial vaginal que está formada por una parte mülleriana y otra sinusal. Al quinto mes, en esta lámina, se va abriendo una

luz; en la semana veintidós, la vagina está del todo canalizada, quedando como resto el himen.

C) *Aspectos del desarrollo del ovario.* WILLIAMS nos describe el desarrollo del ovario de la siguiente manera: A partir de la cuarta semana hay un engrosamiento del epitelio celómico en la parte ventral del mesonefros. El epitelio que le rodea se llama epitelio germinal. Las células germinales primarias emigran a esta zona en la tercera semana, unas se quedan en el epitelio y otras pasan al mesenquima de la gonada.

En el ovario el epitelio germinal continúa proliferando y en el tercer mes se diferencia la corteza de la médula. La corteza formará la mayor parte del ovario con un gran número de células germinales agrupadas (no formando cordones, que es lo que los diferencia del testículo).

En el cuarto mes, después de la sinapsis empiezan a crecer, hasta que alcanzan la madurez, oocitos de primer orden, que se rodean de una capa de células para formar el folículo primordial que aparece primero en la médula y después en la corteza (Louis M. HELLMAN, Jack A. PRITCHARD [New York, 1973]).

Según HAMILTON (1937), los esbozos gonadales aparecen como un engrosamiento del epitelio celómico en la cara interna del mesonefros. Pronto aparecen las células germinales primitivas.

Hasta la sexta semana, 17-20 mm, las gonadas son indiferentes.

El meso del mesonefros en esa zona y la gonada forman la cresta urogenital. La parte mesonéfrica de la cresta urogenital contiene los conductos mesonéfrico y paramesonéfrico.

Cuando la gonada es ovario las crestas genitales van a quedar en la parte superficial; la parte más profunda será la médula, que está desprovista de gonocitos.

Más tarde, en vez de formarse cordones sexuales, como en el testículo, se forman masas celulares que se fragmentan y formarán los folículos primordiales.

M. SOLERE et P. HAEGEL (1969). El epitelio celómico en la cara anteroexterna del mesonefros se engruesa para formar la cresta genital. Los gonocitos llegan aquí en la sexta semana. Las crestas genitales proliferan, dando lugar a los cordones sexuales que van formando como una red; éstas se anastomosan con tubos contorneados del mesonefros (conexiones urogenitales).

Hasta la sexta semana la gonada tiene el mismo aspecto en los dos sexos.

LANGMAN (1969). Por proliferación del epitelio celómico y condensación del mesenquima subyacente aparecen, a las cuatro semanas, las crestas gonadales; las células germinales aparecen en ellas a la sexta semana.

El epitelio celómico prolifera y las células epiteliales se introducen en el mesenquima, formando los cordones sexuales primitivos; estos cordones en la mujer se disgregan en pequeños acúmulos celulares que poseen células germinales primordiales; estos acúmulos se sitúan preferentemente en la médula, después desaparecen y son sustituidos por estroma.

El epitelio superficial del ovario sigue proliferando y se conserva grueso (a diferencia del testículo), y se originan los cordones corticales que permanecen en la superficie. Estos cordones se disgregan en acúmulos celulares aislados alrededor de las células germinales primitivas; después se formarán los folículos primordiales.

D) *Aspectos desarrollo del testículo* (comparados con el del ovario). M. SOLERE et P. HAEGEL (1969). Hacia la séptima semana la gonada hasta aquí indiferente evoluciona hacia testículo. El epitelio celómico deja de crecer. Los cordones sexuales se transforman en tubos seminíferos; éstos formarán las espermatogonias, el sincitio de Sertoli o elemento nutritivo.

Entre el epitelio celómico y el resto de la glándula se interpone una lámina conjuntiva, la albuginea, que emite tabiques que dividen la glándula en cámaras que cierran los conductos seminíferos. Entre estos tubos se diferencian las células intersticiales de Leydig, que son las que constituyen el intersticio del testículo.

La parte profunda de los tubos seminíferos se proyecta en un tubo recto; todos estos tubos rectos confluyen en la rete testis.

Después de la regresión del cuerpo de Wolff, parte de los tubos mesonefróticos formarán las vías excretoras del testículo formando los conos eferentes.

Bradley M. PATTEN (1969) hace el siguiente estudio comparativo de las gonadas: La diferenciación de las gonadas comienza a partir de finales del segundo mes. Si un individuo está destinado a ser macho, los cordones de las células sexuales que estaban poco definidos en el estadio indiferente se delimitan más claramente en el tejido conjuntivo que les rodea y ya se les puede llamar con toda propiedad cordones testiculares. Al mismo tiempo, debajo del epitelio germinativo empieza a formarse una zona de tejido conjuntivo que será la albuginea. En el embrión de 50 mm la albuginea no deja posible participación ulterior del epitelio celómico en la formación de los cordones testiculares.

En el cuarto mes de desarrollo los cordones testiculares están perfectamente circunscritos. A la vez, alrededor del conducto mesonefrótico hay una condensación mesenquimatosa, que será el músculo liso de lo que será el conducto deferente. En el hilio hay finos cordones que se anastomosan, formando así la rete testis.

Si un embrión ha de ser hembra, los cambios en la gonada van a ser muy diferentes. El tejido conjuntivo debajo del epitelio germinativo es mucho menos visible. En vez de definirse los cordones gonadales como tales, aquí se delimitan menos y las células germinativas se encuentran esparcidas en el estroma; estos agrupamientos celulares formarán los folículos primordiales.

Jan LANGMAN (1969) también define las características primordiales de diferencias entre ovario y testículo. En el embrión macho los cordones sexuales primitivos siguen proliferando en la sexta a octava semanas y se introducen profundamente en la médula, y se anastomosan entre sí formando los cordones testiculares. Hacia el hilio de la glándula se disgregan en unas redes celulares que formarán la rete testis. Los cordones testiculares se separan de la superficie en la octava semana y, a la vez, se forma la albuginea. Los cordones testiculares consisten en células germinales primordiales y células epiteliales; éstas provienen de la superficie de la glándula y formarán las células de Sertoli.

Si el embrión ha de ser hembra, los cordones sexuales primitivos se disgregan en pequeños acúmulos celulares que poseen células germinales primordiales, situadas al principio en la médula, pero después desaparecen y la médula queda sólo constituida por estroma vascularizado. El epitelio superficial del ovario se conserva grueso y sigue proliferando, formando una segunda generación de cordones sexuales, pero que siempre permanecen en la superficie.

J. C. CZYBA, J. COSNIER, C. GIROD et J. L. LAURENT (1973). En la gonada del macho, en la séptima semana, aparece debajo del epitelio celómico una lámina conjuntiva que será la albuginea que separa al epitelio del resto de la gonada. Se constituyen después los cordones celulares que formarán después los tubos seminíferos; las células de Leydig, que son las futuras células intersticiales, rodean a los cordones testiculares. En la octava semana la albuginea envía unos septos que delimitarán los lóbulos testiculares en los cuales se encuentran los cordones. Las células de Leydig, ya en el embrión de 35 mm o 50 días, tienen signos de actividad secretora; en el tercero y cuarto mes estas células proliferan enormemente y se efectúa la masculinización del tracto genital.

En cuanto al desarrollo del ovario, en la octava semana los cordones sexuales primarios se segmentan en masas de células y degeneran. Este primer grupo de cordones es sustituido por la médula. Hay un segundo crecimiento de cordones que son los cordones corticales de Valentín-Pflugger, las células germinales se incorporan a estos cordones, éstas madurarán y se transformarán en ovogonias. Las células del blastema se agrupan alrededor de cada ovogonia para formar los folículos primordiales.

E) Respecto a relaciones entre desarrollo de ovarios y aparato genital interno, JOST, en "The rol of fetal hormones in prenatal development", 1961, Academic Press New York: Los fetos de sexo femenino de conejos ovariectomizados se desarrollan exactamente igual que en la hembra normal, tanto los conductos genitales como los genitales externos.

Son los cromosomas los que hacen que una gonada llegue a ser testículo u ovario. Una vez diferenciadas las gonadas elaboran hormonas sexuales o embrionarias, los andrógenos elaborados por los testículos tienen efectos morfogenéticos, mientras que las elaboradas por los ovarios no tienen efectos morfogenéticos en el embrión.

Hay un exceso de estrógenos en los recién nacidos que se refleja por la hipertrofia del epitelio vaginal en la hembra; los ovarios de los recién nacidos también presentan signos marcados de estimulación hormonal.

DANTCHAKOFF, V., en "L'hormone male adulte dans l'histogenese sexuelle du mamifere". Comptes rendus du la societe de Biologie (1937). La inyección de propionato de testosterona a una gestante produce en los embriones femeninos una diferenciación masculina del seno urogenital. En los genitales externos, alargamiento del túberculo genital.

RAYNAUD, A. (1941). Inyectando propionato de testosterona en animales de experimentación directamente en el embrión intraútero produce una ausencia de la parte distal de vagina con una diferenciación masculina del seno urogenital, siendo éste un argumento a favor de la participación del seno urogenital en la formación de la vagina.

NEUMAN, F., ELGER, W., KRAMER, M. (1966). La administración de antiandrógenos (ciproterona) en el embrión de rata masculino produce una diferenciación femenina del seno urogenital y de los genitales externos.

BLOCH, E., LEW, M., KLEIN, M. (1971). La administración en la rata y conejo de inhibidores de la esteroidogénesis (de los esteroides sexuales) produce en los embriones masculinos un acortamiento de la distancia anogenital. En los embriones femeninos, una hipertrofia del clitoris y fusión de los repliegues genitales.

Resumen estos autores diciendo que si la diferenciación femenina es espontánea, la evolución del seno y de los genitales externos en el embrión masculino depende de la formación de andrógenos en sus testículos.

F) *Aspecto del desarrollo adrenal-nefrol* (glándulas suprarrenales (adrenales). Las glándulas suprarrenales se forman de esbozos ectodérmicos y mesodérmicos que constituyen la médula y la corteza, respectivamente. La corteza se forma a partir de células

mesoteliales cilíndricas situadas entre el mesenterio y la gonada en formación. Estas células proliferan y se separan del epitelio celómico, diferenciándose en grandes células acidófilas. A esta proliferación inicial se agrega una proliferación mesotelial que consiste en células pequeñas que se diseminan sobre la superficie del acúmulo original y son las que formarán la corteza definitiva.

La corteza fetal involuciona rápidamente después del nacimiento y la glándula se hace relativamente pequeña.

Esto según HAMILTON, BOYD and MOSSMAN (embriología humana [1966]). Los mismos autores nos dicen que el mesonefros que proviene del mesodermo intermedio aparece después del pronefros, pero antes de que éste haya desaparecido del todo. Las vesículas mesonéfricas desembocan en el conducto mesonéfrico o de Wolf y éste, a su vez, desemboca en la cloaca.

El metanefros se desarrolla en la porción caudal del mesonefros. En el conducto mesonéfrico y cerca de la cloaca se forma el brote ureteral, en cuyo extremo craneal se forman los cálices mayores.

M. SOLERE et P. HAEGUEL (1969). La hoja intermedia del mesodermo forma el cordón nefrógeno que se segmenta formando los nefrotomas. Pronefros, mesonefros y metanefros se suceden en el tiempo y en el espacio. Los nefrotomas están formados por un pelotón capilar, alrededor de una cámara glomerular, y unos túbulos que van a desembocar en un canal colector común que será el canal de Wolf.

En la parte anterointerna del mesonefros está el esbozo gonádico y en su parte anteroexterna el cordón urogenital con los conductos de Wolf y Müller. En la parte interna y más alta de la gonada se encuentra la suprarrenal.

LANGMAN (1969). La glándula suprarrenal deriva de dos componentes: una porción mesodérmica forma la corteza y una porción ectodérmica la médula.

En la quinta semana las células mesoteliales que están entre el mesenterio y la gonada comienzan a proliferar y se introducen en el mesenquima subyacente, aquí se diferencian y se convierten en acidófilas. Poco después, las células que provienen del mesotelio se introducen en el mesenquima; estas células menores son las que formarán la corteza definitiva.

Mientras, algunas células que provienen del sistema simpático invaden la corteza y se disponen en cordones; son las que formarán la glándula (se llaman cromafines porque se tiñen de amarillo pálido con las sales crómicas).

En cuanto al sistema nefral: El mesonefros aparece durante la regresión del pronefros y aparecen los primeros tubos excretores

que desembocan en un conducto común llamado conducto mesonefrico o de Wolf.

El metanefros aparece durante la regresión del sistema mesonefrico y proviene, como los dos anteriores, del mesodermo intermedio.

La yema ureteral aparece en el conducto mesonefrico, cerca de su desembocadura en la cloaca. Esta yema crece en dirección dorsocraneal y su parte más craneal formará los cálices mayores.

G) *Aspectos del desarrollo de la hipófisis* (HAMILTON, BOYD and MOSSMAN [1966]) Antes del cierre del neuroporo anterior aparece un divertículo ectodérmico en el techo del estomodeo, es la bolsa de Rahtke, y se extiende por delante de la membrana faríngea y del extremo anterior de la notocorda. Más tarde se pone en contacto por arriba con el piso del diencéfalo, el infundíbulo. El infundíbulo origina el tallo pituitario y la neurohipófisis. La bolsa de Rahtke pierde su unión con el techo de la faringe y se desarrolla el lóbulo anterior de la hipófisis. La luz de la bolsa se va estrechando hasta que queda reducida a una estrecha hendidura por medio de una proliferación activa de las células de la pared anterior; esta proliferación da lugar a la parte anterior de la hipófisis. La parte superior de esta prolongación da lugar a la pars tuberalis. La parte de la bolsa que está en contacto con la pars nerviosa da lugar a la pars intermedia. En el tercer mes, algunas células de la pars anterior acumulan gránulos acidófilos y más tarde aparecen otras células con granos basófilos.

Bradley M. PATTEN (1969). La hipófisis se forma a partir de dos esbozos separados que luego se unen. Uno de éstos, bolsa de Rahtke, es prolongación de la depresión del estomodeo; esta prolongación revestida de ectodermo crece hacia la prolongación infundibular del piso diencefálico. El otro esbozo de la hipófisis es la prolongación infundibular que se forma en el piso del diencéfalo y este tejido es también de origen ectodérmico. Esta porción infundibular llega a constituir la porción neuralis de la hipófisis adulta.

Después, la bolsa de Rahtke se alarga y se adhiere a la porción infundibular. La depresión del estomodeo va aumentando en profundidad y al poco tiempo podremos reconocer la pars distalis o lóbulo posterior de la hipófisis adulta.

Hay una capa adherida a la pars neuralis que será la pars intermedia del órgano adulto.

Jan LANGMAN (1969). La hipófisis se desarrolla de dos partes, una evaginación ectodérmica del estomodeo, llamada bolsa de Rahtke, y una prolongación descendente del diencéfalo, el infundíbulo.

La bolsa de Rahtke a la tercera semana crece en dirección dorsal hacia el infundíbulo y pierde toda su conexión con la cavidad

bucal. Las células de la pared anterior de la bolsa de Rahtke crecen y forman el lóbulo anterior de la hipófisis o adenohipófisis. La parte posterior de la bolsa pasará a ser la pars intermedia.

El infundíbulo forma la parte posterior de la hipófisis o neurohipófisis.

Planteamiento

Los antecedentes bibliográficos sobre el desarrollo de la vagina referidos a su mucosa están centrados en dos orígenes, el *mülleriano* y el *sinusal*, confluyendo en la posible inducción de un *núcleo mesenquimatoso intermedio*, así como de acciones hormonales durante estas fases de desarrollo, y está sostenido por muchos autores, encontrando referencias fundamentales en los trabajos de BULMER (1957) y en los de AGOGUE (1965).

Ello abre un más amplio campo de investigación, precisándose no solamente detalles de esa confluencia sinomülleriana, sino de inducciones de substratos cercanos, como los organizadores primarios confluyendo en el nudo inductor de Hensen, y también en mesenquima satélite al eje uterovaginal, al substrato del ovario, al substrato de la glándula adrenal y al de la hipófisis.

Por todo ello interesa poseer la mayor parte de fases posibles de desarrollo embrionario humano y complementarse con las primeras fases en algunas series de ave que proporcionan rico material de reacción histoquímica, referible a regiones análogas en las fases precoces disponibles humanas.

En todas estas fases las que ofrecen el primordium, tanto de aves como humanas, nos deben demostrar claras reacciones histoquímicas orientables hacia los inductores primarios.

En fases siguientes de desarrollo será el mesenquima circundante al eje uterovaginal el que nos oriente sobre las inducciones.

En fases más avanzadas habrá que hacer estudio comparativo entre el desarrollo del eje uterovaginal, así como del substrato ovárico, suprarrenal e hipofisario.

Material y métodos

A) Material

El material del que he dispuesto para la presente tesis lo conseguí, en buena parte, en el Departamento de Anatomía, donde existen colecciones seriadas de embriones humanos y de otras especies. Y, por otra parte, de algunos embriones cuyas series han sido elaboradas por el autor del trabajo.

A propósito de embriones de otras especies, el Departamento disponía de cortes seriados de embrión de pollo variados: las series son de 4, 6 y 8 días.

Los embriones humanos que pertenecían al Departamento son las series de 6, 9, 13, 14, 20, 21, 23, 40, 42, 45, 70, 120 y 180, y las series elaboradas por el autor de la tesis las de 26, 27, 28, 32, 34, 44, 53, 65 y 130 mm.

Protocolos del material:

1. Embrión humano de 6 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en celoidina.
Se cortó transversalmente a 20 micras.
La serie tiene 300 cortes.
Se tiñó en hematoxilina-eosina, PAS, tri-PAS, Giemsa y Gomori.
2. Embrión humano de 9 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 600 cortes.
Está teñido en hematoxilina-eosina.
No se ha podido utilizar para el presente trabajo, por no estar en las condiciones que nos interesan.
3. Embrión humano de 13 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Incluido en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 300 cortes.
Está teñido en hematoxilina-eosina.
No estaba en las condiciones más favorables para el presente trabajo.
4. Embrión de 14 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Incluido en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 1.000 cortes.
Teñido en hematoxilina-eosina.
5. Embrión humano de 18 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Incluido en parafina.
Cortado transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 500 cortes.
Teñido en hematoxilina-eosina.
6. Embrión humano de 20 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 25 micras.
Teñido con hematoxilina-eosina.
7. Embrión humano de 21 mm.
Fijado en formol al 10 % durante 5 días.
Se incluyó en celoidina.
Se cortó transversalmente a 20 micras.
La serie tiene 950 cortes.
Se tiñó en hematoxilina-eosina, PAS, tri-PAS, Giemsa, Gomori y Azán.

8. Embrión humano de 23 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 500 cortes.
Teñido con hematoxilina-eosina.
No está en las mejores condiciones para ser utilizado.
9. Embrión humano de 26 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 275 cortes.
Teñido con hematoxilina-eosina y Martins.
10. Embrión humano de 27 mm.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 450 cortes.
Teñido en hematoxilina-eosina y Martins.
11. Embrión humano de 28 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Incluido en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 130 cortes.
Teñido en H-E.
12. Embrión humano de 32 mm.
Se fijo en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
Se cortaron 3 series, en total 1.000 cortes.
Se tiñó en H-E y algunos cortes que más nos interesaban en PAS.
13. Embrión humano de 34 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 140 cortes.
Se tiñó en H-E.
14. Embrión humano de 40 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 1.000 cortes.
Se tiñó en H-E.
15. Embrión humano de 42 mm.
Se fijó en formol-acético.
Se incluyó en parafina.
Se cortó sagitalmente a 15 micras.
La serie tiene 100 cortes.
Teñido en H-E.
16. Embrión humano de 44 mm.
Fijado en formol al 10 %.



- Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 150 cortes.
Teñido en H-E.
17. Embrión humano de 45 mm.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 700 cortes.
Teñido con H-E.
18. Embrión humano de 53 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 150 cortes.
Teñido en H-E y algunos cortes en PAS.
19. Feto humano de 65 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 6 micras.
La serie tiene 200 cortes.
Se tiñó en H-E y algunos cortes en PAS.
20. Feto humano de 70 mm (pelvis femenina).
Se incluyó en parafina.
Se cortó sagitalmente a 15 micras.
La serie tiene 300 cortes.
Se tiñó en H-E.
21. Feto humano de 120 (pelvis femenina).
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 450 cortes.
Se tiñó en H-E.
22. Feto humano de 130 mm.
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina (bloque pelviano).
400 cortes sagitales de 10 micras.
Tinción H-E.
23. Feto humano de 180 mm (pelvis femenina).
Se fijó en formol al 10 %.
Se incluyó en parafina.
Se cortó transversalmente a 15 micras.
La serie tiene 520 cortes.
Se tiñó en H-E.
24. Embrión de pollo de 4 días.
Se fijó en formol al 10 % durante 4 días.
Se incluyó en gelatina.
Se cortó sagitalmente a 20 micras.
La serie tiene 100 cortes.
Teñido en H-E, Martins, Giemsa, Gomori, PAS, tri-PAS y Azán.

25. Embrión de pollo de 6 días.
Se fijó en formol al 10 % durante 4 días.
Se incluyó en gelatina.
Se cortó sagitalmente a 20 micras.
La serie tiene 150 cortes.
Se tiñó en H-E, Martins, Giemsa, Gomori, Azán, PAS y tri-PAS.
26. Embrión de pollo de 8 días.
Fijado en formol al 10 %.
Se incluyó en gelatina.
Se cortó sagitalmente a 20 micras.
La serie tiene 150 cortes.
Se tiñó con H-E, Martins, Giemsa, Gomori, Azán, PAS y Tri-PAS.

B) Métodos

Histoquímica:

- Fijación
- Inclusión
- Corte (microtomía).

Los embriones se fijaron en formol al 10 %. Los de pollo estuvieron 4 días los de 4 y 6 días, y 5 días los de 8 días.

Los embriones humanos de 6 y 21 mm estuvieron en formol 3 y 6 días, respectivamente. Los restantes embriones estuvieron en formol durante 7 a 10 días.

Inclusión: Los embriones de pollo de 4, 6 y 8 días se incluyeron en gelatina. Los embriones humanos de 6 y 21 se incluyeron en celoidina. El resto de embriones humanos se incluyeron en parafina.

Microtomía: Los embriones de pollo de 4, 6 y 8 días se cortaron sagitalmente, así como los embriones humanos de 42, 70 y 130 mm. El resto de embriones humanos se cortaron transversalmente. Los embriones humanos de 6 y 21 mm se cortaron a 20 micras. El de 20 mm a 25 micras. Los embriones humanos de 9, 13, 14, 18, 23, 40, 42, 45, 70, 120 y 180 mm se cortaron a 15 micras. Los de 26, 27, 28, 32, 34, 44, 53 y 65 se cortaron a 6 micras. Los embriones de pollo se cortaron, previa congelación, a 20 micras.

Técnicas de tinción

La técnica de P.A.S. es aplicable a los H. de C. en estado de combustión. Es un método en 2 tiempos, basado en la aplicación a la histología en dos reacciones:

El ácido peryódico reacciona con los grupos alcohólicos que existen libres en cada uno de los residuos de glucosa oxidándolos y pasando a aldehídos.

La segunda etapa estriba en tratar los cortes con un reactivo de los aldehídos; es un colorante de fucsina básica que puede palidecer intensamente con ácido sulfuroso y entonces recibe el nombre de reactivo de Schiff. Los aldehídos se combinan con el colorante decolorado, entonces lo reavivan produciendo un complejo de color carmesí o púrpura en una sustancia granular P.A.S. positiva.

Si nos referimos al P.A.S. simple, y por lo tanto a la acción del ácido peryódico sin ningún bloqueo previo del azul alcian, todo grupo alcohólico libre deberá pasar a aldehído, bien corresponda a azúcares neutros o a

mucopolisacáridos; de aquí que la fucsina de Schiff pueda teñir con tanta más fuerza cuanto más conglomerados estén los depósitos. Con el P.A.S. simple tratamos de topografiar el material en situación combustible directa dentro de cada órgano y cuáles son las zonas de mayor actividad casi siempre en relación con la mayor o menor cantidad de depósitos de hidrocarbonados.

Con el tri-PAS, al emplear el azul alcian previamente, quedan impregnados los grupos alcohólicos libres destinados a pasar a aldehído. Con ello se bloquean a efectos del ácido periódico, por lo cual éste actúa menos específicamente oxidando algunos grupos alcohólicos no libres y por lo tanto todavía no en inmediata situación de ser oxidados.

Resultados

La ordenación de nuestro material puede agruparse en los siguientes aspectos:

- Aspectos del desarrollo de la vagina relacionables con referencias bibliográficas actuales.
- Aspectos de actividad en desarrollo (tipo P.A.S.) en el embrión humano y en el de pollo.
- Aspectos paralelos del desarrollo del resto del eje genital.
- Aspectos paralelos del desarrollo del ovario.
- Aspectos paralelos del desarrollo del substrato adrenal-nefrol y aspectos paralelos del desarrollo de la hipófisis.

a) Los aspectos primordiales del desarrollo de la vagina, relacionables con referencias bibliográficas actuales, pueden obtenerse claramente de los embriones de 20, 21, 32, 40, 65, 53 y 180 mm.

Es ya clásicamente admitido que los conductos de Müller van cada uno hacia la parte ventral y acaban fusionándose. Ambos conductos unidos y los de Wolff van a contactar con la pared dorsal del seno urogenital. El canal uterovaginal en su sección transversal presenta, en la mayor parte de su extensión, un epitelio columnar compacto, pero al final del eje, en su parte caudal, las líneas celulares pierden su ordenamiento columnar y forman un epitelio poligonal gruesamente estratificado, que en la parte más baja oclu-

FIG. 1. — Embrión humano de 20 mm donde observamos los dos conductos de Wolff entre los que vemos una lámina que será la vagina y que van a desembocar al seno. Entre la lámina y el seno una masa celular mesenquimatosa.

FIG. 2. — Embrión humano de 32 mm. Aparecen los conductos de Wolf y el final de la lámina vaginal en contacto aquí con el seno. Apreciamos el epitelio plano de la parte genital del seno.

FIG. 3. — Feto humano de 180 mm. Vemos la vagina, donde se está obliterando su luz. En su epitelio plano poliestratificado diferenciamos una capa basal más cromática.



Fig. 1

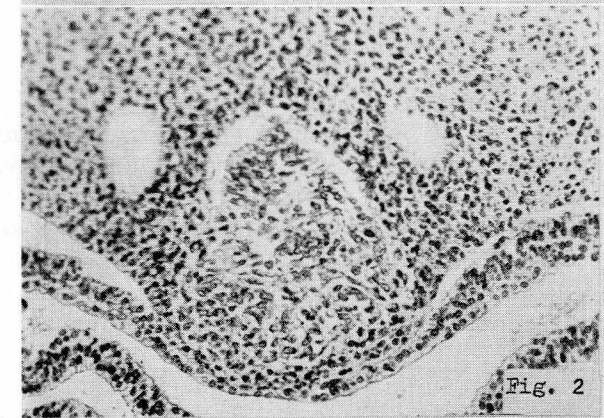


Fig. 2

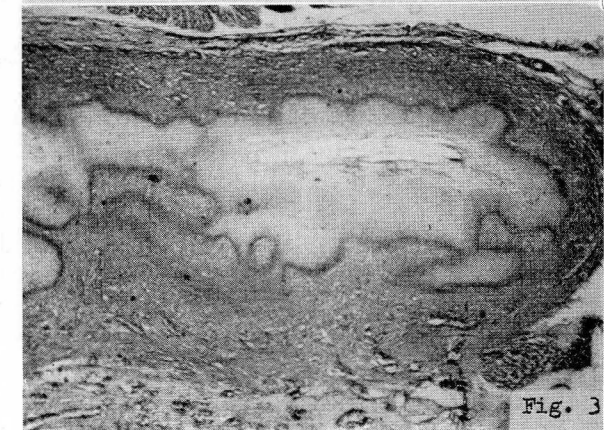


Fig. 3

ye completamente la luz. Aparece, pues, en la parte final del eje uterogenital (figs. 1 y 2) un núcleo o lámina maciza de células que ha proliferado mucho y parece continuarse hacia arriba, con los conductos de Müller fusionados, y que forma en esta parte terminal retículos endoteliales. Este núcleo o lámina maciza creemos será lo que formará la porción vaginal. Por otra parte, entre el núcleo de condensación de la terminación de los conductos de Müller, unidos al ir a contactar con el seno y el propio seno, hay una masa celular mesenquimatosa cuyas células están teñidas de un color más pálido que las del núcleo de condensación.

A ambos lados del conducto de Müller vemos los conductos de Wolff que van a desembocar también al seno. El epitelio de éstos está bien diferenciado, siendo cilíndrico, y pudiendo ver también una basal muy bien diferenciada (fig. 1).

En cuanto al epitelio del seno en su parte genital vemos que es plano poliestratificado, de varias capas, unas 6 ó 7 de células pequeñas y bien teñidas (fig. 2).

Los conductos de Wolff en su desembocadura (fig. 4) en el seno están en estrecho contacto con las masas sólidas del epitelio mülleriano, o sea, con la ya mencionada condensación o proliferación de células que aparece en la parte final del canal uterovaginal, entre éste y el seno.

En edades más avanzadas la luz de la parte final del conducto de Müller es ya irregular aun antes de haber contactado sus paredes. Alrededor, por fuera de la basal de su epitelio, el mesenquima que rodea al eje uterovaginal se convierte en conjuntivo y muscular.

En la parte más caudal del eje su luz ha sido sustituida por una proliferación de un epitelio poliestratificado que ha crecido mucho. La luz se va obliterando y alrededor aparece la muscular. El aspecto de la obliteración es muy irregular. En su epitelio podemos diferenciar una capa basal bien delimitada y más cromática, y hacia la luz varias capas de células más claras formando entre todas ellas el típico epitelio plano poliestratificado (fig. 3).

Hemos visto, pues, que siendo el epitelio que rodea al canal uterogenital cilíndrico, en su parte más inferior, o sea, lo que será vagina, se ve recubierta por un epitelio plano poliestratificado igual al del epitelio que tapiza el seno. Lo más característico en el desarrollo de la parte final del canal uterovaginal es la aparición de ese núcleo o lámina maciza formada por células que proliferan muy rápidamente y que, proviniendo del seno, presionan a la parte inferior de los conductos de Müller unidos, reemplazando las células de la parte inferior de éstos.

b) Aspectos de actividad de desarrollo (tipo P.A.S.) en el embrión humano y en el de pollo.

En nuestro material podemos observar ya formaciones de grupos aldehydos en estos procesos que ocupan nuestro trabajo, viendo la reacción P.A.S. positivas a estos niveles. Ya en el embrión de 6 mm podemos ver cloaca o seno con vejiga y recto, y vías genitales que se dirigen hacia él. Sus respectivos epitelios contienen granulaciones de P.A.S., alcanzando la máxima condensación en la basal del mismo.

Las granulaciones son de un gran polimorfismo y variedad, y parecen irradiarse al conjuntivo adyacente.

La misma reacción al P.A.S. se observa en los embriones humanos de 32, 53, 65 mm, encontrando granulaciones P.A.S., sobre todo, en los núcleos de condensación y siendo también evidentes en el epitelio que recubre a los conductos de Müller y Wolff. Encontramos estas granulaciones de P.A.S. tanto en los cortes altos del tubo de Müller en su epitelio, donde las granulaciones a mayores aumentos las vemos en los márgenes de las vacuolas protoplasmáticas delimitando a éstas perfectamente, y también en la parte final del tubo de Müller y en el núcleo de condensación que contacta con el seno.

Podemos añadir que, a grandes aumentos, en los embriones que indicamos (figs. 6 y 7), el polimorfismo celular y las granulaciones de P.A.S. forman un cuadro característico de conglomerados epiteliales, cordones y nidos que se asemejan mucho a las infiltraciones neoplásicas de los carcinomas, tanto más irregularmente cuanto más cerca del nudo están y por lo tanto en su desembocadura en el seno. Sin embargo, antes de ser infiltrados en el nudo, los cordones de Wolff y Müller ofrecen una basal limitante que separa la ordenación epitelial de revestimiento de la luz de los tubos y el dispositivo envolvente del mesenquima que le rodea.

Cuando el tubo de Müller está englobado en el núcleo, las células de éste rompen la basal epitelial de dicho conducto y entonces la luz y columnas epiteliales tienden a obstruirla como primordium de las columnas epiteliales vaginales que se ponen en evidencia más avanzado el desarrollo.

En el embrión de pollo notemos los mesonefros y la cavidad celómica; esta cavidad se prolonga como dos fondos de saco a cada lado, en sentido caudal, para buscar la cloaca a la que abocan enseguida. A mayores aumentos notemos una abundancia de granos P.A.S. en el recto, abocando a la cloaca. A su vez, los conductos de Wolff y Müller caminan hacia ella todavía separados en esta figura por escaso mesenquima muy P.A.S. positivo.

c) Aspectos paralelos de desarrollo del resto del eje genital.

El eje genital completo se logra más allá del embrión de 45 mm, pero antes de llegar a este desarrollo el eje puede ser reconstruido.

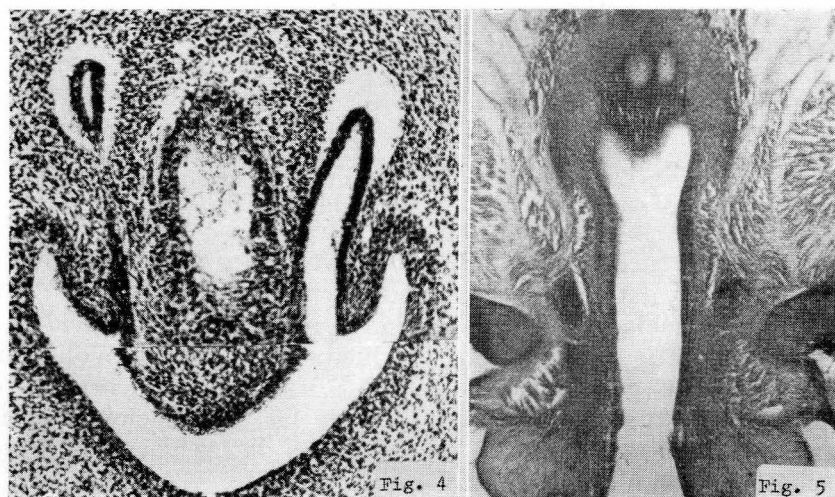


FIG. 4. — Embrión humano de 40 mm. Vemos la desembocadura de los conductos de Wolf y de Müller en el seno; en ésta un núcleo de células que ha proliferado y parece continuar hacia arriba con la parte terminal de los Müller.

FIG. 5. — Embrión humano de 45 mm. En el mesenquima han aparecido estructuras musculares perineales, y esfínteres y elevadores del ano junto a la zona del seno.

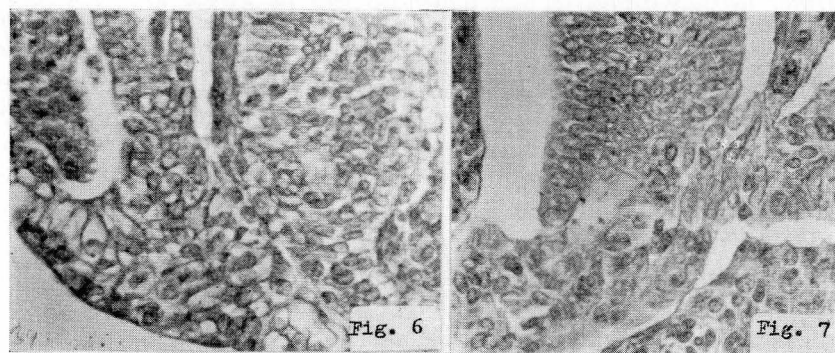


FIG. 6. — Feto humano de 65 mm. Aparece aquí el contacto de un Wolf y un Müller con el seno. Vemos a la derecha un núcleo de células más pequeñas y más cromáticas que nos recuerdan las del seno.

FIG. 7. — Embrión humano de 53 mm. Aparece la parte cerrada de la desembocadura del conducto de Müller, con un epitelio a los lados, que nos recuerda el cilíndrico típico del Müller y en el centro de esta desembocadura como si hubiese sido invadida por unas células más pequeñas de gran parecido con las del núcleo de condensación en contacto con el seno.

En el embrión de 45 mm (fig. 5) podemos hablar de la terminación del eje con los conductos y su núcleo de abocamiento que hace protusión en el seno, el cual está ya prácticamente abierto al exterior. El mesenquima que rodea el núcleo de abocamiento está bien diferenciado y podemos ver ya los retináculos alrededor y fascículos musculares. El epitelio de la parte más inferior, lo que serán labios, es de origen ectodérmico y parece, por la aparición de una muesca en el tercio inferior del eje, que ahí comience el epitelio de origen endodérmico, aunque a estos pequeños aumentos no podemos afirmar nada a este respecto.

En edades más avanzadas (fig. 14) vemos igualmente el final del tubo de Müller y, entre éste y el seno ya abierto al exterior, una zona de conjuntivo. En la parte más inferior, en los repliegues que formarán los labios, vemos el epitelio de origen ectodérmico, y, subiendo hacia el seno, el que embriológicamente es de origen endodérmico, aunque aquí no podemos hacer una diferencia clara entre ambos epitelios. Sin embargo, hacia la parte más alta del seno, el epitelio que más abajo era muy poliestratificado, ahora ha perdido capas. En un estadio parecido al anterior, en la que vemos recto con su epitelio de origen endodérmico y la lámina vaginal todavía obliterada y que casi se confunde con el conjuntivo que la rodea, aunque a mayor aumento, vemos esta lámina vaginal diferenciada.

Podemos establecer la comparación de los distintos epitelios del recto, rodeado aquí de su muscular, de la vejiga, ambos de origen endodérmico, y del epitelio de la uretra.

Vemos, respectivamente, el epitelio que rodea a las partes más altas del conducto de Müller, lo que corresponderá a trompa con su epitelio cilíndrico alto, la terminación de los repliegues de vagina y de lo que serán labios, habiendo por tanto epitelio de origen ectodérmico y endodérmico. Lo mismo podemos decir si vemos el recto con su epitelio, que tendrá también la parte hacia el exterior de origen ectodérmico y la interna de origen endodérmico.

Antes, en los embriones humanos de 18 y 21 mm, el eje no está tan expresado, pero sí es comparable, por ejemplo, con los de las figuras 5 y 14. Sin embargo, la comparación puede razonarse con las preparaciones del núcleo de abocamiento, bien patentes por el método del P.A.S.

d) Aspectos paralelos del desarrollo del ovario.

En nuestro material, en el embrión humano de edad más temprana, podemos ya apreciar un engrosamiento del epitelio celómico en la parte anterior e interna del mesonefros. Esta zona de engrosamiento que es el esbozo gonadal, vemos cómo es P.A.S. negativa, mientras que la zona de nefros adyacente es P.A.S. positiva. En el mismo embrión podemos también apreciar un mayor

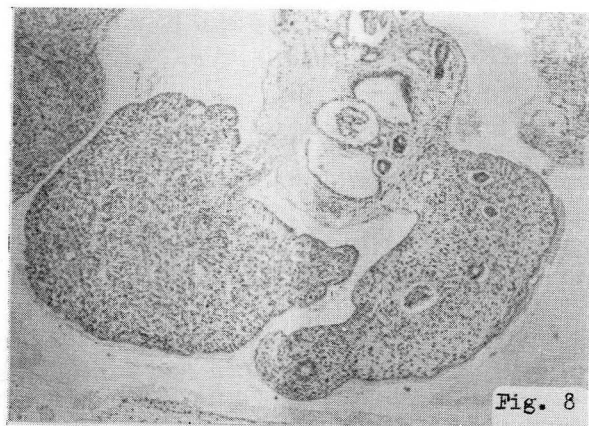


Fig. 8

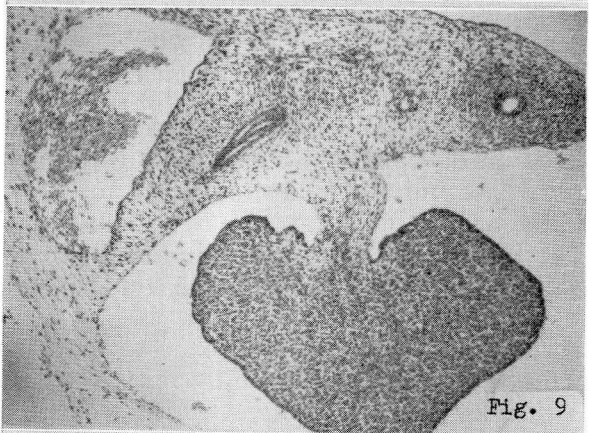


Fig. 9



Fig. 10

crecimiento de esta zona de engrosamiento celómico y más externamente unas invaginaciones en mesonefros que son las que formarán más tarde los conductos de Wolff y Müller (fig. 11). Podemos observar también cómo todo este epitelio celómico es P.A.S. positivo y, sin embargo, la zona del esbozo gonadal es P.A.S. negativa. También es P.A.S. positiva la zona de las invaginaciones donde se formarán los conductos de Wolff y Müller.

Ya en el embrión de 21 mm vemos una gonada mucho más desarrollada. Metanefros y mesonefros con sus conductos de Wolff y Müller (fig. 13). A mayores aumentos, sin embargo, no apreciamos una estructura diferenciada en la gonada, simplemente unas masas celulares sin diferenciación alguna en su agrupamiento. Vemos aún las conexiones del nefros a la gonada (conexiones urogenitales).

En el embrión de 32 mm (fig. 8) vemos nefros, conductos de Wolff y Müller, y la gonada con su meso con el que sigue conectada a la parte nefral. A mayores aumentos en la gonada apreciamos una tendencia al agrupamiento celular en acúmulos celulares y no en cordones, lo que nos hace pensar se tratará de ovario. En la zona del hilio quedan unos pequeños restos que nos parece dependen de las conexiones urogenitales a este nivel.

En la figura 9, que pertenece al embrión humano de 65 mm, vemos de igual forma conductos de Wolff y Müller, y la gonada con su meso. La estructura en sí de la gonada es compacta y no se aprecian tampoco formaciones cordonales. También quedan esos restos irregulares en el hilio. En las figuras siguientes, embrión humano de 53 mm, seguimos viendo nefros y conductos genitales, y en cuanto a la gonada los agrupamientos en acúmulos celulares son muy marcados (fig. 10) y todavía podemos apreciarlo mejor a mayores aumentos. Tampoco aparecen en esta gonada los cordones celulares que han de aparecer con anterioridad al desarrollo mayor de la corteza de la gonada en el ovario.

En el feto humano de 130 mm la estructura de la gonada sigue siendo compacta. Vemos cómo el meso se ha ido alargando o prolapso y no hay formaciones cordonales ni en el hilio ni en los finos cordones que formarán la rete testis, ni mucho menos la lámina conjuntiva bien aparente que sería la albugínea si fuese testículo entre el epitelio celómico y el resto de la glándula. Podemos

FIG. 8. — Embrión humano de 32 mm. Vemos su gonada con estructura uniforme y cresta urogenital con los conductos de Wolf y Müller de un lado.

FIG. 9. — Feto humano de 65 mm, como el anterior; aparece su gonada con aspecto regular y la gonada y mesonefros formando la cresta urogenital.

FIG. 10. — Embrión humano de 53 mm. Vemos gonada con su meso y parte de nefros con sus vesículas; el aspecto de la gonada es regular.

apreciar todos estos aspectos mejor en un mayor aumento de una zona de esta gonada.

e) Aspectos paralelos del desarrollo del substrato adrenal nefral.

En nuestro material, embrión humano de 21 mm (fig. 12), podemos apreciar el metanefros, restos del mesonefros que guardan aún estrecha conexión con la glándula suprarrenal y parte de gonada, todo en estrecha relación. La corteza y médula de la suprarrenal no están aún diferenciadas.

En el embrión humano de 40 mm vemos la estrecha relación entre metanefros y glándula suprarrenal, que en el adulto tiene

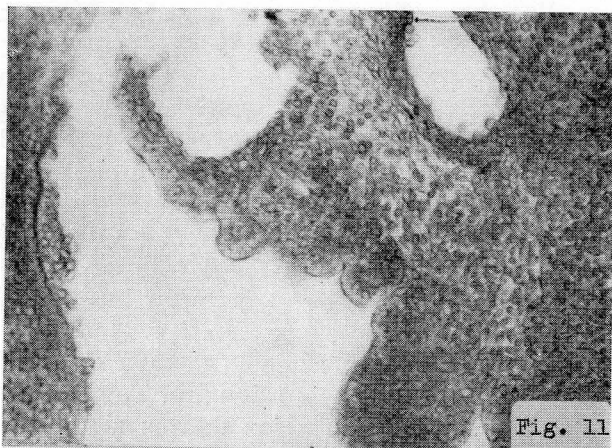


Fig. 11

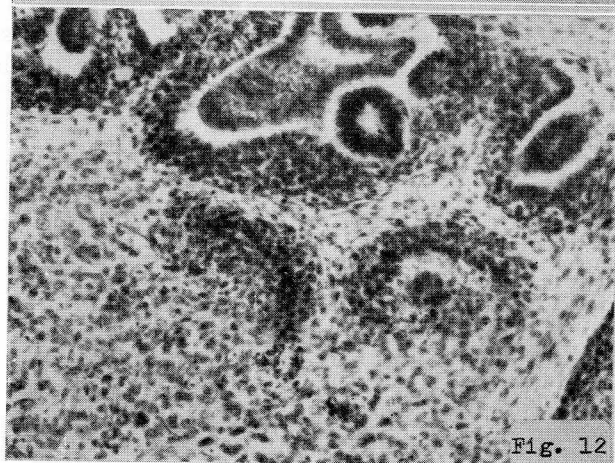


Fig. 12

FIG. 11. — Embrión humano de 6 mm. Aparece a gran aumento el engrosamiento del epitelio celómico que formará el esbozo gonadal.

FIG. 12. — Embrión humano de 21 mm. Observamos parte nefral y adrenal en estrecha relación, lo mismo que gonada en la parte inferior derecha.

conexión funcional con el aparato yuxtaglomerular mediante el mecanismo renina, angiotensina, aldosterona. A mayores aumentos no encontramos aún diferenciación entre zona cortical y medular de la suprarrenal. En el metanefros algunos glomérulos profundos están perfectamente constituidos.

En estados más avanzados, embrión humano de 65 mm, seguimos viendo metanefros con glomérulos profundos bien constituidos y la glándula suprarrenal apenas se diferencia del substrato adulto, aunque su zona medular no está aún constituida y las nefronas de superficie no están aún totalmente maduras.



Fig. 13

FIG. 13. — Embrión humano de 21 mm. Se aprecia aquí, en estrecha relación, suprarenal, nefros, gonada y cresta urogenital.

Ya en el feto humano de 130 mm la adrenal ofrece un substrato que apenas se diferencia del del adulto, aunque seguimos viendo que la zona medular adrenal no está aún bien constituida y que las nefronas de superficie son aún inmaduras. Podemos ver esto a mayores aumentos, que pertenecen a metanefros y adrenal, respectivamente.

Aspectos paralelos del desarrollo de la hipófisis:

Las hipófisis de nuestro material pertenecen a los embriones humanos de 32, 65, 78 y feto humano de 130 mm, respectivamente.

En todas ellas apreciamos la neurohipófisis, la pars intermedia y la pars anterior o adenohipófisis. Los islotes de la adenohipófisis se empiezan a apreciar en el embrión humano de 32 mm. En el de 65 mm hay un predominio acidófilo.

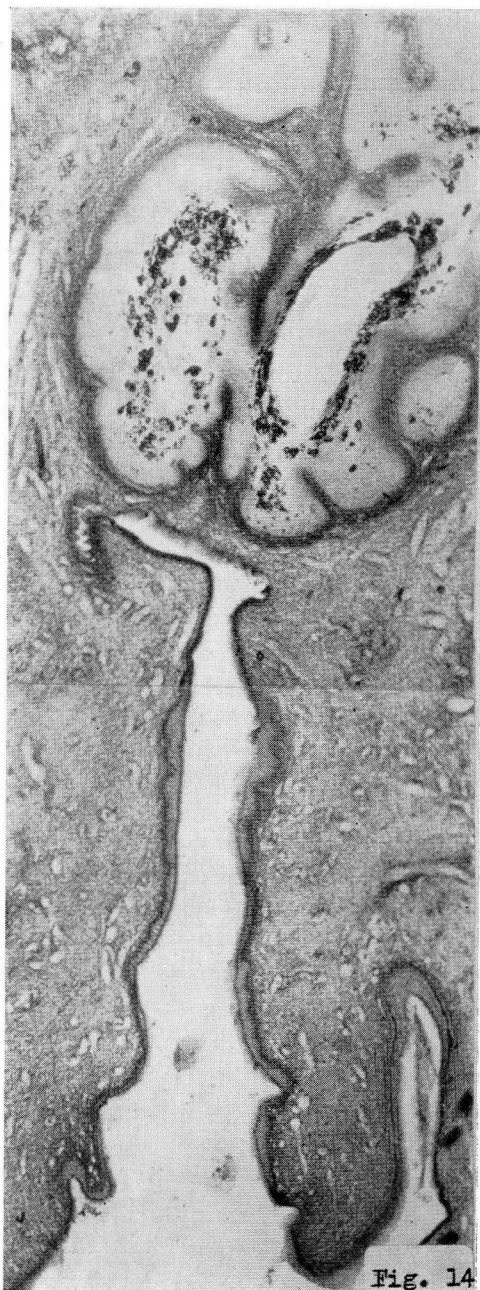


Fig. 14

En cuanto al lóbulo intermedio, en parte está separado del posterior y en parte se continúa con el por medio de emigraciones celulares.

No encontramos neurosecreción en estas fases embrionarias estudiadas.

En otro aspecto, el desarrollo de la hipófisis no nos aporta relación de paralela actividad funcional. Ni tampoco encontramos relación con el desarrollo de la hipófisis y el genital, adrenal, nefral.

Para estudiar los aspectos comparativos de desarrollo paralelo referido al bloque adrenal-nefrol-genital, así como también al hipofisario, nos resultó facilitado por el material que sobre crecimiento somático posee A. ESCOLAR CASTELLÓN (1975), sobre lo que presentamos las láminas más salientes de este material que nos facilita su autor, pudiendo concluir que los datos sobre el bloque adrenal-nefrol-genital, como el bloque hipofisario en desarrollo, no ofrecen paralelo relacionable en estas fases de estudio; claro, que esto no excluye la influencia hormonal de estas zonas en el adulto, lo cual cae fuera de nuestro trabajo actual.

Resumen

1.º La terminación de los conductos de Wolff y Müller en el seno urogenital se ofrece claramente desde el embrión de 20 mm, en forma de tubos cuya pared epitelial está perfectamente diferenciada en el espesor del mesenquima subyacente (fig. 1). Esta diferenciación es un acúmulo de células en empalizada, en 2 ó 3 capas limitadas por una basal que puede ofrecer fácilmente un artefacto de retracción. Los conductos de Müller se unen entre sí cerca del seno genital y en este momento manifiesta el mesenquima una condensación uniformemente envolvente y ya en la desembocadura en el seno la condensación se hace excéntrica, precisamente en el ángulo de abocamiento, ofreciendo brazos que en un principio destacan del mesenquima que lo infiltra todo y con el que se acaba confundiendo (fig. 2). A ambos lados de este núcleo de condensación se encuentran los conductos de Wolff, que por su cara medial resultan incluidos en la condensación indicada (fig. 4) mientras desembocan en el seno. Esta manera de desembocar y el aspecto del núcleo de condensación coinciden con las observacio-

FIG. 14. — Feto humano de 180 mm. Aparece un alargamiento y canalización de la vagina. En este tramo podemos ver dos tipos diferentes de epitelio; de abajo arriba, epitelio plano poliestratificado de labios y vagina (como el que recubre al seno, o sea, de origen endodérmico), y en la parte superior, un epitelio cilíndrico como el que recubre al útero (de origen mesodérmico).

nes bibliográficas clásicas (BULMER, 1957; DOLLANDER, 1973; FISCHER, 1943; BRADLEY M. PATTEN, 1958; J. C. CZYBA, J. COSNIER, C. GIRON et J. L. LAURENT, 1973; J. POIRIER et I. COHEN, 1974; F. BECK, D. B. MOFFAT and J. B. LLOYD, 1973; R. G. HARRISON, 1963; J. LANGMAN, 1969; HAMILTON BOYD and MOSSMAN, 1966; M. SOLERE et D. AHEGEL, 1973. Los detalles de este núcleo de abocamiento corresponden a una madeja irregular de células, separables del mesenquima a veces por un espacio de retracción producido por un artefacto de fijación (fig. 4), como ocurre a veces con los epitelios de los conductos de Wolff, Müller y el del mismo seno.

Algo más avanzado el desarrollo (como es desde el embrión de 40 mm), las luces de desembocadura de los conductos de Wolff y Müller se hacen muy manifiestas, a la par que el mismo seno doblado y en espolón, a causa de la prominencia y empuje del núcleo de abocamiento. Este prolifera mucho y se continúa con la pared epitelial del conducto de Müller y prolifera en la luz iniciando columnas epiteliales (figs. 6 y 7). Los conductos de Wolff, en cambio, forman un epitelio menos proliferante, aunque también muy definido en su abocamiento.

En el abocamiento mismo es más difícil el artefacto basal de retracción, pues aquí el tejido ofrece continuidad no sólo en la superficie, sino en la profundidad del nódulo.

Más avanzado el desarrollo (feto humano de 70 mm), el epitelio del conducto de Müller ofrece zonalmente diferentes aspectos: la parte cercana al núcleo de abocamiento es un epitelio poliestratificado, que crece mucho en columnas que se sueldan obliterando la luz del conducto. Se nota el crecimiento de este epitelio, a la par que la actividad cromática de la capa basal del mismo, así como del mesenquima que se va convirtiendo en capas conjuntivas y musculares por fuera de esta basal. El aspecto obliterante de las capas epiteliales casi llega a la cornificación y se ofrecen muy irregulares en la parte baja (fig. 3). Más arriba, la zona obliterada resulta lineal, aplastada de delante a atrás; en cambio, el conjunto muscular envolvente es mucho más grueso. Más arriba, en fin, pero sin llegar todavía a la reunión de los conductos de Müller, no existe obliteración alguna, conservándose una luz un tanto irregular, aunque aplanada de delante a atrás, cuyo epitelio de revestimiento no está apenas destacado del conjuntivo subyacente, que no ofrece basal y se encuentra reforzado al máximo con aspecto muscular en su parte envolvente.

2.º La actividad de formación de grupos aldehídos en estos procesos es denunciada por su reacción P.A.S. en las vías genitales a nivel de su desembocadura en el seno y en el núcleo de condensación desde el E-H de 6 mm, en forma de granulaciones que tienen en la capa basal del epitelio la máxima condensación y se

irradian al conjuntivo envolvente. Las granulaciones P.A.S. en el núcleo de condensación ofrecen el máximo polimorfismo y variedad de acúmulos, encontrándose en el margen de las vacuolas protoplasmáticas y delimitándolas con gran contraste (figs. 6 y 7).

En el embrión de pollo precisamente destacan las granulaciones P.A.S. de la pared de la cloaca, continuadas por una parte con las del intestino recto, vejiga de orina, así como los conductos de Wolff y Müller procedentes del fondo caudal de la cavidad celómica; por otra, se continúan con las granulaciones P.A.S. de la piel que recoge el drenaje de la cloaca.

En el embrión de más de 40 mm las granulaciones tienden a desaparecer.

3.º El epitelio del seno urogenital continuado con la piel del periné tan simple hasta el embrión de 14 mm se hace vigoroso y se refuerza por el engrosamiento del mesenquima envolvente desde el embrión de 21 mm (fig. 5). Esto es casi al mismo tiempo en el que se estableció el núcleo de condensación de desembocadura de los conductos de Müller y Wolff. Enseguida se diferencian en el espesor de ese mesenquima musculaturas perineales donde dominan esfínteres y láminas irradiadas del elevador del ano. El epitelio del seno propiamente dicho acaba haciéndose poliestratificado recubriendo labios, pero al llegar a la zona de contacto con el núcleo de condensación y continuación con los orificios de Wolff y Müller este epitelio del seno pierde muchas capas y contrasta con el aspecto vaginal que hay por encima, formando el epitelio en columnas casi córneas que obliteran la luz, pero ya un tanto abierto en este límite, que más avanzado el desarrollo corresponderá al himen. En embriones del tamaño de 40 mm no se podría asegurar sólo observando el nivel de la unión del seno y los conductos genitales, si se trata de macho o hembra, hasta que más avanzado el desarrollo prolifera el conducto de Müller formando las conglutinaciones y columnas epiteliales indicadas en las que los restos de los conductos de Wolff participan.

4.º En el feto de 130 mm (fig. 14) se destaca el himen por reabsorción de las columnas epiteliales del conducto de Müller en casi toda su altura. En consecuencia se delimita la vagina por arriba, y por abajo el seno o vestíbulo y la vulva con sus repliegues. Todo ofrece matices epiteliales diferentes. En profundidad el conjuntivo también se va diferenciando.

5.º Durante el desarrollo, la parte más alta inicial de los conductos de Wolff y Müller, y por lo tanto originados del mesonefros junto a la glándula genital, no ofrecen ostensibles diferencias morfológicas con la parte baja final antes de abocar en el seno urogenital. Sin embargo, bueno es notar la diferencia ostensible clásica de que los conductos de Müller, antes de unirse en la línea

media, ocupan una posición más lateral adaptados al peritoneo en el que desemboca superiormente. Enseguida se rodea de una adventicia mesenquimatosa, mientras los conductos de Wolff más profundos respecto a la superficie peritoneal no se abren en él, sino que se continúan con las vesículas mesonefres.

De todo ello procede una oportuna referencia cuando tratemos del ovario. Aquí únicamente puntualizamos que desde el embrión de 6 mm el epitelio peritoneal o celómico se está invaginando irregularmente para formar dichos conductos (fig. 11). Después ofrece un aspecto uniforme en todo el trayecto.

Existe una fase crítica correspondiente al embrión de 53 mm, donde los conductos de Wolff están muy cerca de la glándula genital, a la que envían emigraciones intersticiales de sus paredes. Esta circunstancia podría hacer pensar si se trata de macho. No obstante, el aspecto de la masa de la glándula genital se ofrece como ovario y por parte de los conductos de excreción hay un dominio de proliferación epitelial del conducto de Müller confluyente con amplio seno urogenital.

6.º El desarrollo de la glándula genital en relación con los conductos de Wolff y Müller puede ahora estudiarse siguiendo las indicaciones del apartado anterior, advirtiéndose ya un esbozo glandular, en el embrión de 6 mm, en forma de primordium entre el esbozo del mesonefros y el mesenterio, expresado por un engrosamiento del epitelio celómico y mesenquima subyacente con abundantes granos P.A.S.

En el embrión de 21 mm advertimos el aspecto condensado de la glándula genital, no pudiendo aquí distinguir si es macho o hembra, pues tanto los conductos de Wolff y Müller como los glomérulos del mesonefros confluyen topográficamente en análogas condiciones de desarrollo.

Más adelante, en el embrión de 32 mm, apreciamos en la glándula genital estructura uniforme en la mayor parte de su masa, pero en el hilio están los canalículos intersticiales dependientes de los C. de Wolff, destacados irregularmente (fig. 8). El mismo aspecto aparece en los embriones de 53, 65 y 130 mm, que ofrecen glándula genital con aspecto de ovario en principio, pero siempre con esas irregularidades junto al hilio peritoneal, que lo mismo puede significar derivaciones del órgano de Rosenmüller y por lo tanto dispuestas a servir el tejido intersticial del ovario como representación de un primordium del epidídimo (figs. 9 y 10). En cuanto al tejido propio genital, si partimos de la superficie del peritoneo, el aspecto tiende a ser cordonal y nodular, por tanto la zona problema del hilio podría considerarse como base del tejido intersticial del ovario y de difusiones del órgano de Rosenmüller.

7.º El desarrollo adrenal, nefral, genital puede empezarse a considerar ya en el embrión de 6 mm en una zona común donde cada parte de las indicadas empieza a diferenciarse. Es significativo que en el embrión de 21 mm existe una zona común indistinta de estos tres elementos que confluyen, pero en los márgenes de esta zona común se distinguen el metanefros, el mesonefros, la zona genital y la adrenal (figs. 12 y 13). Por esto la zona central común puede ser referida a la parte corticoadrenal, que en el adulto tiene conexión funcional con el aparato yuxtaglomerular del riñón mediante el mecanismo renina-angiotensina-aldosterona y, por otra parte, relación genital en cuanto se refiere a la hormona adrenal genital de Botella de la zona reticular.

Notemos más adelante, en el embrión de 40 mm, que la glándula adrenal ofrece un tejido fascicular reticular activo, a la par que en el metanefros algunos glomérulos profundos completamente constituidos. Estos aspectos en el embrión de 65 mm y, sobre todo, en el de 130 ofrecen un substrato que apenas se diferencia del substrato del adulto, si bien la zona medular adrenal no está constituida todavía y las nefronas de superficie son totalmente inmaduras.

8.º En cuanto al desarrollo hipofisario tomamos referencias del trabajo sobre desarrollo general de A. ESCOLAR CASTELLÓN, donde destacamos 4 aspectos hipofisarios comparando el desarrollo del lóbulo anterior, intermedio y posterior del embrión de 32 mm, 65, 70 y 130, lo cual, a su vez, lo relacionamos con el desarrollo de los órganos que interesan en este trabajo.

A este propósito no hay neurosecreción en ninguna de las fases embrionarias estudiadas ni tampoco en la de 130 mm. En cuanto a los islotes adenohipofisarios, se empiezan a apreciar en la fase de 32 mm. Pero sin individualización celular dentro del islote, cosa que ya se establece, sin embargo, en la fase de 65 mm, donde empieza a acusarse un dominio acidófilo, aunque con otras células sin diferenciar aún. El lóbulo intermedio, por algunas partes, ofrece tabiques de separación con el posterior, pero en otras ofrece continuación por emigración e invasión de células al lóbulo posterior desde el tamaño de 11 mm. Aunque esto tiene muchas analogías con el caso adulto, no podemos referir aquí organización de función genital alguna. Por otra parte, el desarrollo genital-adrenal-nefral ofrece un desarrollo sin notoria relación con el de la hipófisis en estas fases.

El desarrollo de los conductos wolfianos para difundir por el mesenquima células intersticiales que perduran en el macho durante el período sexual y en la hembra funcionan sólo prepubealmente, ofrece en el embrión humano de 53 mm expresiones muy acusadas (fig. 10) y refiriéndonos exclusivamente a este dato no

podemos decir si se trata de macho o hembra. Este aspecto, comparado en la misma fase con el desarrollo de la hipófisis, en principio no nos aporta relación alguna de paralela actividad funcional.

9.º En relación con los datos de este trabajo y de los 8 primeros puntos del resumen puntualizamos lo siguiente: el mesenquima siempre resulta el que en todo momento ha originado el núcleo de confluencia de los conductos de Wolff y Müller con el seno urogenital, pues ya es sabido que dichos tubos se originaron del mesodermo, aunque su epitelio limitante se haya diferenciado considerablemente.

Por otra parte, comprobamos que el seno urogenital que depende del espolón de unión de tubo digestivo y alantoides se continúa a su vez con la piel perineal, una vez que se reabsorbió la placa cloacal, y esto ocurre antes de que confluyan los conductos de Müller y Wolff en el seno.

Por todo lo indicado resulta que el epitelio de todo este eje es ectodermo exteriormente hasta el límite de la placa cloacal; es endodermo a lo largo de todo el seno urogenital y es mesodermo a lo largo de los tubos de Wolff y Müller hasta su confluencia en el seno. Esta confluencia que morfológicamente es, en principio, un núcleo epitelial, clásico endodérmico y mesodérmico, cuando se profundiza en el mesenquima el nudo epitelial se hace cordonal y establece una transición con el mesenquima envolvente.

Todo el eje genital está revestido por una diferenciación epitelial que, avanzado el desarrollo, establece un tránsito insensible; así, es un epitelio poliestratificado a nivel de los repliegues labiales de la vulva, a lo largo del vestíbulo hasta el himen; no obstante, aquí el origen del epitelio es doble, pues los repliegues labiales externos de la vulva son ectodérmicos y los repliegues labiales internos de la vulva hasta el himen son endodérmicos. Por otra parte, el himen es el resto del núcleo de confluencia del seno, del conducto de Müller y de restos de los Wolff.

En cuanto a la vagina en sí, el epitelio es endodérmico y lo mismo las columnas epiteliales de los dos tercios inferiores, como los fondos de saco y hocico de Tenca; éste, y lo mismo su armazón envolvente del cuerpo del útero, siguen siendo mesenquimatosos.

El bloque nefral-adrenal-genital ofrece transformaciones en su desarrollo en un paralelo relacionable con el del eje genital que indicamos.

El paralelo con el desarrollo hipofisario es muy difícil de considerar.

Notemos que el mesenquima de la confluencia de los conductos de nuestro trabajo se expresa morfológicamente en un núcleo primordial al que se le puede atribuir sucesivamente la capacidad

inductora de las primeras fases, así como la organizadora del eje genital, que al agotarse pasa a substrato de sostén en forma de envolturas conjuntivas, musculares, esfínteres y retináculos.

Consideraciones y discusión

Del resumen recojemos como fundamentales referencias el diferente origen del desarrollo del epitelio de revestimiento del eje uterovaginal, así como del armazón conjuntivo-muscular del mismo, y ahora vamos a intentar relacionarlo con el aspecto de desarrollo de carcinomas.

A este respecto creemos son aclaratorias las clasificaciones de tumores primarios de vagina de los diferentes autores que citamos. Todos ellos coinciden en clasificar los tumores primarios de vagina en adenocarcinomas (aproximadamente, un 5 %) y escamosos que son la mayoría.

Otros tumores primarios, como los sarcomas, están compuestos por muchos tipos de células mesodérmicas.

En cuanto a los tumores secundarios de vagina son los más frecuentes lo que provienen de cuello, cuerpo, ovario, recto y uretra.

Así, pues, el diferente origen del epitelio que reviste el eje uterovaginal, apreciado en los estudios en embriones, o sea, el mülleriano y el sinusal, coincide con la clasificación de tumores malignos primarios de vagina en adenocarcinomas, como ocurre a los de origen mülleriano y a los de células escamosas, como las del epitelio que recubre el seno.

De lo indicado, puntualizamos lo siguiente: La mayor parte de las neoplasias primarias de vagina (siendo éstas poco frecuentes) son carcinomas escamosos, asentando su origen en las columnas epiteliales e infiltrándose desde sus recovecos o pliegues. El adenocarcinoma ofrece una frecuencia menor, correspondiendo a glándulas dispersas de los conductos de Müller o de Gartner, desarrollándose a partir de restos embrionarios.

Conclusiones

1.ª El clásico origen (mesodérmico) de los conductos de Müller, así como su desarrollo sucesivo, es comprobado aquí, puntualizando además que ofrece una máxima irregularidad original en su abocamiento en el seno urogenital endodérmico en su forma de nudo o núcleo sobre el cual aportamos.

2.ª Antes de la fase embrionaria de 21 mm, el núcleo de abocamiento congutina las terminaciones de los conductos referidos en el seno, formando entonces prominencia al que se abren un

tanto irregularmente, si bien el conducto de Müller colector siempre es central. La irregularidad oblitera a veces la luz de abocamiento al seno, tanto de los conductos de Müller como de los de Wolff.

3.^a El nudo se infiltra en profundidad por cordones celulares entre el mesenquima circundante. Sólo un artefacto de retracción de fijación puede expresar el límite de esas infiltraciones.

4.^a Los conductos de Wolff y Müller en sus orígenes respectivos, mesonefrol y celómico, resultan casi tan irregulares como en el nudo del seno. Esto contrasta con la uniformidad de los conductos en pleno trayecto.

5.^a La PAS positividad es considerable, tanto a lo largo de los conductos como en su origen en el nudo. Igualmente la reacción es PAS positiva en el seno endodérmico y en la piel ectodérmica de abertura que lo continúa.

Sólo la estructura gonadal propiamente dicha contrasta con su PAS negatividad, máxime siendo PAS positivas las infiltraciones wolfianas hacia las gonadas.

6.^a El núcleo de abocamiento al seno en fases sucesivas de desarrollo va diferenciando una vagina de epitelio poliestratificado columnar que se congutina obliterando la luz, si bien esta obliteración en más avanzado desarrollo quedará reducida a su más bajo nivel representado en el himen.

7.^a Mientras proliferan las columnas epiteliales de la mayor parte del trayecto de la vagina, los conductos de Wolff van quedando englobados y disgregados, lateralmente confundidos con alguna bolsa glandular profunda de la vagina o un repliegue escamoso de la columna epitelial.

8.^a Las neoplasias primarias de la vagina en cuanto a carcinomas de las columnas epiteliales (escamosos), o bien en cuanto a adenocarcinomas de algún fondo glandular, deben ofrecer su asentamiento en las bases que destaca el desarrollo indicado, reconociendo que llevando las cosas a su origen todo ofrece fuente mesodérmica-endodérmica, aparte de los adenosarcomas que se originan directamente en los conductos de Gartner. Añadamos que el epitelio de revestimiento de útero y endocervix de origen mesodérmico se continúa inferiormente con el epitelio de revestimiento de la vagina (endodérmico del seno) y éste, a su vez, con el epitelio de revestimiento cutáneo ectodérmico hacia los repliegues de la vulva.

Pues bien, a pesar de los distintos orígenes, este epitelio no ofrece un tránsito muy manifiesto, pero el valor de esto en la neoplasia queda fuera de este trabajo.

9.^a El mesenquima, en cuyo seno comprobamos que se organizan los conductos de nuestro estudio, debe de llevar en primor-

dium la capacidad inductora y ordenadora hacia su morfología adulta, en cuyo motivo se pueden basar circunstancias de neoplasia.

10.^a El estudio del desarrollo paralelo y del bloque nefral-adrenal-genital, así como del hipofisario, no arroja datos objetivos que influyan en el desarrollo útero-genital, basados en el material del que hemos podido disponer.

Resumen

El núcleo de abocamiento de los conductos de Wolff y Müller al seno ofrece un polimorfismo tal que puede admitir una mezcla de origen mesodérmico con el endodérmico, lo cual, unido al englobamiento de los restos de Wolff, ofrecen una compleja base de origen y por lo tanto de naturaleza de las neoplasias que en el adulto aquí aparezcan.

Summary

The tubercle which is formed in the insertion of the Wolff and Müller ducts (the so called Tubercle of Müller) into the urogenital sinus is both of mesodermic and endodermic origin and this together with the encroaching of the Wolff duct rests offers a complex origin and hence a possible explanation for the development of the neoplasias that may appear in that area later in adult life.

Zusammenfassung

Die Regio der Mündung der Gänge von Wolff und Müller zum Sinus ist vielgestaltig. Seine Ursprung kann eine Mischung von mesodermalen und endodermalen Komponenten sein. Diese Zusammensetzung mit der Resten von Wolff, erklärt die reichen Möglichkeiten und verschiedenen Eigenschaften der Krebsen, die bei Erwachsenen hier entstehen werden.

Résumé

Le nucleus de entrevue des conduits de Wolff et Müller dans le sinus offre un polymorphisme tel qu'il peut admettre une melange d'origine mesodermique avec l'endodermique tout ça unie avec l'englobement des restes de Wolff offrent une complexe base d'origine et pour tout ça de nature des tumeurs qu'ici apparaissent dans l'adulte.

BIBLIOGRAFÍA

- AGOGUE, M. (1965): Embriologic duplicity of the human vagina and histologic origin of its mucosa. «Gynec. et Obstet», vol. 64, núm. 3, páginas 407-414.
- BECK, F., B. B. MOFFAT, J. B. LLOYD (1973): Human Embryology and Genetics. London, Cardiff and Keel.

- BIVENS, M. D. (1953): Primary carcinoma of the vagina. «Amer. J. Obstet. Gynec.», vol. 63, pág. 390.
- BLOCH, E., M. LEW, M. KLEIN (1971): Studies on the inhibition of fetal androgen formation. Inhibition of testosterone synthesis in rat and rabbit fetal testes with observations on reproductive tract development. «Endocrinology», vol. 89, págs. 16-31.
- BLOOMFIELD, A., J. E. FRAZER (1927): The development of the lower end of the vagina. «Journal of Anatomy», vol. 62, págs. 9-32.
- BRADLEY, M. PATTEN (1958): Human embryology. Michigan.
- BULMER, D. (1955): The development of the vagina. Vol. 90, págs. 123-134.
- BULMER, D. (1957): The development of the human vagina. «Journal Anatomía», vol. 91, págs. 490-509.
- COUETTE, M., P. GAGNON and A. LEBLOND (1965): Congenital absence of the vagina. Serv. de Gynecol Hotel Dieu. «Quebec, Laval-Med.», vol. 31, págs. 22-26.
- CZYBA, J. C., J. COSNIER, C. GIROD, J. L. LAURENT (1973): Development des appareils genitaux et du comportement sexuel. Univ. Cl. Bernad et Univ. St. Etienne. France.
- DANTCHACOFF, V. (1973): L'hormone male adulta dans l'histogenese sexuelle du mamifere. Comptes rendus de la societe de Biologie. Vol. 124, págs. 195-197.
- DAW, E. (1971): Primary carcinoma of the vagina. Dept. Obstet. gynecol. Univ. Dundee. vol. 78, pág. 853-856.
- DE BRUX, J. (1971): Histopatologie gynecologique. París.
- DIEPEN, R. (1962): Nervensystem. Der hipotalamus. Hand buch Der Mikroskopischen Anatomie Des Menschens. Berlín.
- DOLLANDER, A., et R. RENART (1973): «Elements de Embriology», pág. 298.
- ESCOLAR CASTELLÓN, A. (1975): Aportaciones al crecimiento somático en relación con el desarrollo del substrato neuroendocrino en el período intrauterino (inédito).
- FELIX, W. (1912): The development of the urogenital organs. Inkeibel and Mall. «Manual of Human Embriology», vol. 2, pág. 752.
- FISCHEL, A. (1943): Compendio de embriología humana. Instituto embriológico Univ. de Viena.
- FORSBERG, J. G., and A. ABRO (1971): Ultrastructural differences between the sinus and the Mullerian epithelium of the mouse vaginal anlage. Inst. Anat. Univ. Bergen. «Z. Anat. Entwickl. Gesch.», vol. 135, págs. 67-75.
- GAGNAIRE, C. G., J. L. LAURENT et Y. ROCHET (1975): L'embriologie du vagin. «Rev. Franc. Gynec.», vol. 70, núm. 4, pág. 253-259.
- GUSBERG, S. B., H. C. FRICK (1971): Corcadens Gynecologic Cancer. Baltimore.
- HAMILTON, BOYD and MOSSMAN (1966): Prof. Anat. Univ. London, Cambridge and Wisconsin. «Embriología humana».
- HARRISON, R. G. (1963): Prof. Anat. Univ. of Liverpool. «Human Embriology», pág. 172.
- HART, D. B. (1896): Preliminary note on the development of the clitoris, vagina and hymen. «Journal Anatomie», vol. 31, págs. 18-28.
- HUNTER, R. H. (1930): Observations on the development of the human female genital tract. «Contr. Embriol. Carneg. Inst.», vol. 22, págs. 91-108.
- JOST, A. (1961): The role of fetal hormones in prenatal development. Harvey Lect. «Academic Press», vol. 55, págs. 201-226.
- KASER, O., V. FRIEDBERG, K. G. OBER, K. THOMSEN, J. ZONDER (1974): «Gynecologie und Geburtshilfe».

- KENPERMEN, C. T. (1931): Beitrag zur Frage der Genese der menschlichen vagina. «Gebenbaurs, Jb.», vol. 66, págs. 485-531.
- KINSTNEREN ROBERT, W. (1973): Gynecology: Principles and practice.
- KLINE, S. (1966): Congenital vaginal atresia. S. Carson Med. Cent. Carson Cyti Nev. «Rocky MTN, Med. J.», vol. 63, núm. 8, págs. 37-39.
- KOFF, A. (1933): Development of the vagina in the human foetus. «Contr. Embriol. Carneg Inst.», vol. 24, págs. 59-91.
- LANGMAN, J. (1969): Prof. Ant. Univ. of Virginia. «Embriología médica», pág. 152.
- STEWART, L. MARCUS, CYRIL C. MARCUS (1970): Advances in obstetric and Gynecology, New York.
- MIJSBERG, W. A. (1924): Über die Entwicklung der vagina, des himen und des sinus urogenitalis beim Menschens. «Z. Anat. Entwgesch.», vol. 74, págs. 684-760.
- NEUMAN, F., W. ELGER, M. KRANER (1966): Development of a vagina in male rats by inhibiting androgen receptors with an antiandrogen during the critical phase of organogenesis. «Endocrinology», vol. 78, pág. 628-632.
- NOGOLES, F. (1959): Revue Francaise de obstetrice et gynecologie.
- NOVAK, R., J. WOODDRUFF (1970): Novaks Gynecological and Obstetric Pathology. Filadelfia.
- O'HANLON, R. H. (1966): Absence of vagina and its treatment. Mercers hospital. Dublin. «J. Irish Med. ASS», vol. 59, pág. 149-151.
- POIRIER, J., et I. COHEN (1974): Embriology Humaine. Dept. Histologie-Embriology Univ. Paris.
- QUATROCCHI, C. (1967): Vaginal aplasia and its surgical management. «Clin. Obstet. Gynec.» (Univ. di Roma), vol. 68, págs. 567-583.
- RATHKE, H. (1832): Abhandlungen zur Bildungs- und Entwicklungsgeschichte des Menschens und der Thiere. Leipzig.
- RAYNAUD, A. (1941): Etude de l'appareil genital des souris avec injections de propionate de testosterone dans la gestation. «Comptes rendus de la societe de Biologie», vol. 135, págs. 1582-86.
- ROBBINS STANLEY, L. (1967): «Pathology». Filadelfia.
- ROCHET, V., D. DARGENT, A. DRAPIER (1971): Surgical Treatment of congenital absence of vagina with functional uterus. Vol. 67, págs. 265-269.
- SOLERE, M., et P. HAEGEL (1969): Embriology. Travaux pratiques et enseignement dirige. Fascicule deux, premier anne. Fac Med. Paris.
- STERN, B. D., and L. KAPLAN (1969): Multicentric foci of carcinoma arising in structures of cloacal origin. «Amer. Journal Obst. and Gynec.», vol. 104, págs. 255-266.
- TOURNEUX, F. (1921): Memoire sur le developement de l'uterus et du vagin. «J. Anat.», vol. 20, págs. 330-386.
- VALENTIN, G. G. (1835): Handbuch der Entwicklungsgeschichte des menschens. Berlin.
- VILAS, E. (1932): Über die Entwicklung des menschlichen Scheide. «Z. Anat. Entwgesch.», vol. 98, págs. 263-292.

Dr. F. MARTÍNEZ-CASAMAYOR
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

ORGANIZACIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN COBAYOS SUPRARRENALECTOMIZADOS

POR

G. PALOMERO⁽¹⁾

Introducción

LA existencia de relaciones entre la corteza suprarrenal y la glándula tiroides es un problema evidenciado de manera clara desde el punto de vista clínico. No obstante, desde el punto de vista experimental son pocos los trabajos que se encuentran en los que se haya hecho un estudio morfológico de la glándula tiroides ante alteraciones suprarrenales. Aunque autores como SELYE (1946) y DUCOMMUN (1966) no encuentran relación entre ambas glándulas, hoy día se tiende a admitirlas, si bien los resultados de los diversos autores no concuerdan entre sí y se desconoce el mecanismo de interrelación.

Hay autores (GASTINEAU, 1963; HUNTER, 1965) que, apoyándose en la frecuencia de insuficiencias simultáneas abogan por la existencia de una acción sinérgica entre ambas glándulas. Sin embargo otros, observando animales suprarrenalectomizados (MARINE y BAUMAN, 1921; GRUNT, 1965; KASPERLIK, 1966) o bien administrando hormonas corticales (LABHART, 1958; MIKHAILOV, 1966), o considerando la enfermedad de Addison (FRAWLEY, 1970), admiten la existencia de un antagonismo entre ambas glándulas.

Dado que en un estudio de la citología adenohipofisaria de animales suprarrenalectomizados encontramos algunas modificaciones en las células productoras de TSH, nos decidimos a hacer una revisión de la glándula tiroides con este tipo de experiencia.

(1) Prof. agregado de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Bilbao.

Material y métodos

Hemos utilizado cobayos, preferentemente machos, en los que se ha llevado a cabo una suprarrenalectomía unilateral o bilateral por vía abdominal. La extirpación bilateral se ha realizado en dos tiempos, con un intervalo de recuperación entre una y otra de 15 días.

No se ha administrado ninguna terapia sustitutiva y los animales han sido sacrificados tras un período postoperatorio que oscila entre 1 a 45 días para la suprarrenalectomía unilateral y de 7 para los de suprarrenalectomía bilateral.

Las glándulas tiroides extraídas en el momento del sacrificio son pesadas al objeto de calcular su peso relativo (gramos de glándula por cada 100 gramos de peso corporal).

Tras su fijación en Bouin-Hollande sublimado, las glándulas tiroides han sido incluidas en parafina, cortadas a 6 micras de espesor y teñidas con hematoxilina-eosina y PAS.

En algunos animales de esta experiencia se ha llevado a cabo un control gammagráfico a las 2 y 24 horas de la inyección de 30 microcurios de I-131. Esta prueba la realizamos en un aparato de gammagrafía para pequeños animales DÜNNSCHICHT-SCANNER II de la casa BERTHOLD.

Resultados obtenidos

Suprarrenalectomía parcial

En los animales de *un día de suprarrenalectomía parcial*, la glándula tiroides presenta folículos grandes en todas las regiones, pero existiendo un mayor número en las porciones intermedia y periférica (fig. 1). El epitelio folicular es de tipo cúbico, con núcleos grandes y claros, limitando un coloide vacuolado en la periferia.

No obstante la presencia de folículos, la región central se caracteriza por su aspecto más compacto, por la presencia de nódulos celulares interfoliculares, los cuales aparecen bien delimitados y constituidos por células con núcleo más voluminoso que las foliculares.

Las glándulas de animales de los *dos días de suprarrenalectomía parcial* muestran también características semejantes en todas las regiones, pues por toda ella se encuentran repartidos folículos grandes, de epitelio cúbico bajo y núcleo que ocupa gran parte del citoplasma. El coloide es de moderada densidad y se encuentra en todos los folículos por igual.

Los folículos de la región central aparecen aislados por la presencia de gran cantidad de nódulos celulares (fig. 2). La delimitación celular en estos nódulos no es clara, pareciendo una masa ci-

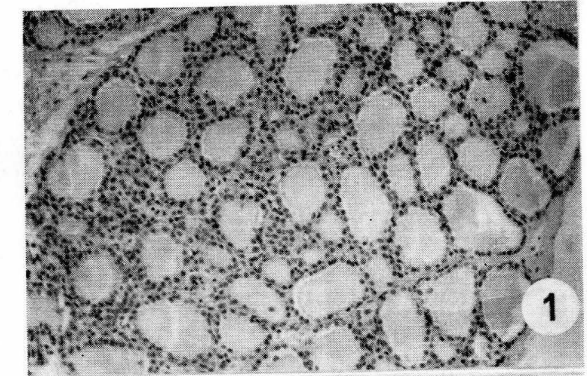


FIG. 1. — Cobaya macho de un día de suprarrenalectomía parcial. Folículos grandes y epitelio cúbico, separado por abundantes células interfoliculares. Tinción: Hematoxilina-eosina. Obj.: 12'5x. Ocular: 10x.

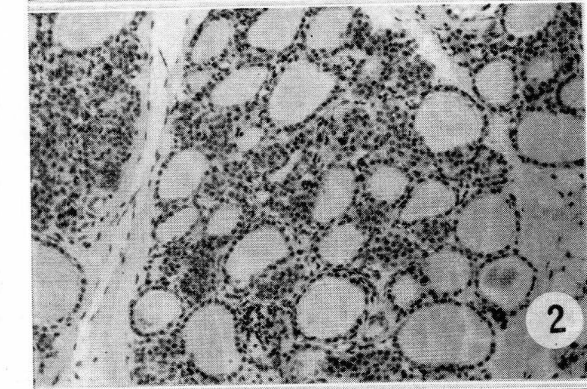


FIG. 2. — Cobaya macho de dos días de suprarrenalectomía parcial. Abundancia de nódulos celulares bien delimitados. Tinción: Hematoxilina-eosina. Obj.: 12'5x. Ocular: 10x.

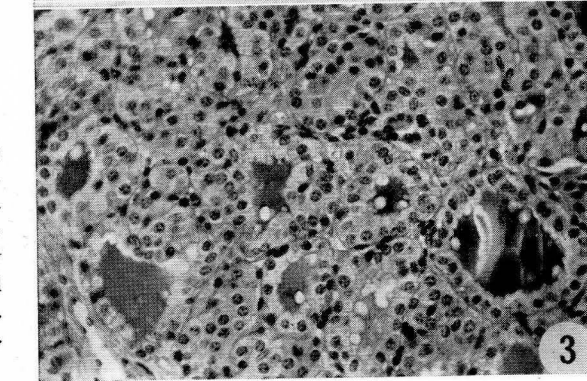


FIG. 3. — Cobaya macho de cinco días de suprarrenalectomía parcial. Región central con folículos de luz reducida y pluriestratificación del epitelio. Tinción: PAS. Obj.: 25x. Ocular: 10x.

toplasmática en la que se agrupan núcleos más grandes y más claros que los de las células foliculares. La glándula presenta una intensa vascularización.

En los animales de *cinco días de suprarrenalectomía parcial*, todas las glándulas se caracterizan por la semejanza de sus cuadros. Poseen folículos irregulares, de epitelio alto y aspecto pluriestratificado en muchos casos (fig. 3), mostrando núcleos grandes y claros dispuestos hacia la parte basal. La luz folicular está re-

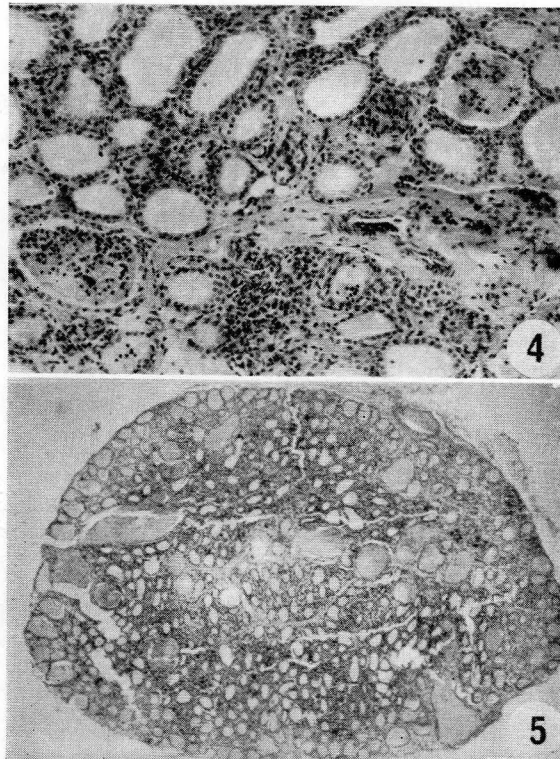


FIG. 4. — Cobaya macho de 15 días de suprarrenalectomía parcial. Región central con infiltrado linfoide. Tinción: Hematoxilina-eosina. Obj.: 12'5x. Ocular: 10x.

FIG. 5. — Cobaya macho de 3 días de suprarrenalectomía total. Aspecto panorámico de la glándula, que muestra la abundancia de lagos sanguíneos. Tinción: Hematoxilina-eosina. Obj.: 3'5x. Ocular: 10x.

ducida, aunque presenta coloide PAS positivo. Los nódulos interfolliculares son menos numerosos y poseen una tonalidad más clara por la menor concentración celular.

En los animales de *quince a cuarenta y cinco días de suprarrenalectomía parcial*, los folículos tiroideos mayores se encuentran preferentemente en la región central, donde tienden hacia formas

regulares y poseen un coloide denso. El epitelio es de tipo cúbico, algo más plano en la región periférica, y sus células poseen un núcleo basal y citoplasma claro, lo que hace claramente visible unas células PAS positivas en la propia pared folicular.

Los espacios interfolliculares están ocupados por una trama celular desorganizada, sin que se observe de una manera clara la presencia de nódulos, sino que estas células aparecen con mayor frecuencia unidas al propio epitelio, lo que da un aspecto de pluriestratificación. El citoplasma de estas células es ligeramente más oscuro que el de las células foliculares, su núcleo es más voluminoso y presentan un número variable de nucléolos bien diferenciados.

La vascularización es intensa, apareciendo en ocasiones en forma de lagos sanguíneos incluidos en el espesor del tejido conjuntivo, que también es abundante. Por otra parte, con alguna frecuencia se observan infiltrados linfoides, los cuales llegan a formar verdaderos nódulos limitados por un epitelio folicular (fig. 4).

Suprarrenalectomía total

Las características morfológicas que la glándula tiroides presenta en los tres primeros días de la suprarrenalectomía total se apartan de la normalidad. El primer día la glándula muestra una región central densa, con folículos de epitelio cúbico y aislados entre sí por la abundancia de masas celulares interfolliculares.

A los tres días el aspecto es diferente, con folículos grandes o pequeños de epitelio bajo y aislados entre sí en la región central (fig. 5), poniéndose de manifiesto una abundante infiltración linfóide, días de la existencia de una abundante vascularización, mucho más

La característica que más llama la atención en estos primeros exagerada a los tres días, donde se ve en forma de grandes lagos sanguíneos, o como células sanguíneas libres por todos los intersticios, lo que dificulta incluso la observación, ya que determina una gran desorganización epitelial.

A partir de los cuatro días se pone de manifiesto una mayor uniformidad en los cuadros tiroideos, evidenciándose folículos más grandes en la región central, con un epitelio cúbico bajo y coloide de moderada densidad.

Si las diferencias morfológicas de la glándula tiroides son evidentes en relación con el tiempo de evolución, también se dejan ver modificaciones relacionadas con el sexo, pues mientras que el peso relativo de la glándula es discretamente elevado en las hembras, en los machos se encuentra muy por debajo de los que poseemos como normales (PALOMERO, 1967).

Pruebas gammagráficas

Como prueba más objetiva para evaluar la situación funcional de la glándula tiroides realizamos gammagrafías de tiroides inyectando 30 microcurios de I-131 por vía intraperitoneal.

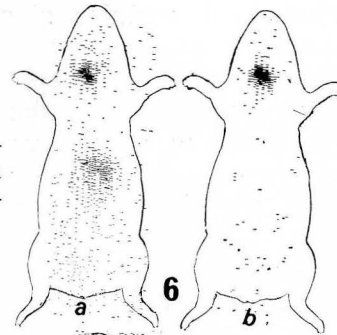


FIG. 6. — Cobaya macho de 15 días de suprarrenalectomía parcial. a) Gammagrafía a las 6 horas de la inyección. b) Gammagrafía a las 24 horas de la inyección.

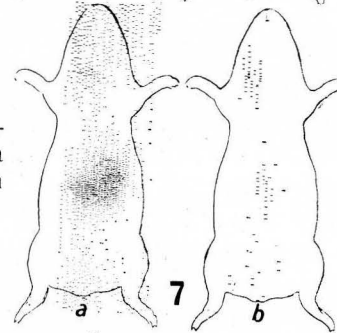


FIG. 7. — Cobaya macho de 7 días de suprarrenalectomía total. a) Gammagrafía a las 4 horas de la inyección. b) Gammagrafía a las 24 horas de la inyección.

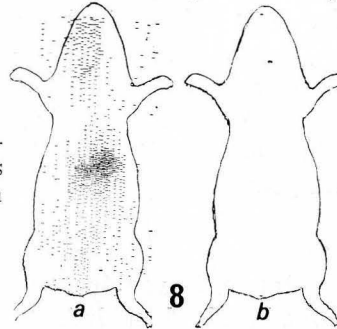


FIG. 8. — Cobaya macho de 3 días de suprarrenalectomía total. a) Gammagrafía a las 2 horas de la inyección. b) Gammagrafía a las 24 horas de la inyección.

En las pruebas así obtenidas nos fijamos en tres distintos parámetros: a) velocidad de absorción y aparición de I-131 en tiroides; b) velocidad de excreción del I-131 del tiroides y aparición en vejigas; c) desaparición del I-131 del lugar de la inyección.

Las modificaciones encontradas en los animales de suprarrenalectomía parcial son discretas y se reducen a la existencia de una

velocidad de captación de I-131 por parte del tiroides algo más rápida (fig. 6a) que en el animal normal (AMAT y col., 1973). No obstante, la velocidad de excreción no es exagerada, pues a las 24 horas aún existe I-131 en la glándula tiroides (fig. 6b).

En lo que se refiere a los animales de suprarrenalectomía total se pone de manifiesto la existencia de una captación más acelerada. Así, mientras que en el animal normal no existe imagen tiroidea hasta las cinco o seis horas de la inyección intraperitoneal, en éstos aparece ya a las dos o tres horas (figs. 7a y 8a). Por otra parte, la excreción también se hace mucho más rápida, pues mientras que en el animal normal hay mucho a las veinticuatro horas y persiste durante varios días, en el suprarrenalectomizado no existe nada o muy poco al cabo de esas veinticuatro horas (figs. 7b y 8b).

Discusión

De entre los datos morfológicos que presentan las glándulas tiroides de animales suprarrenalectomizados, uno que llama la atención es su intensa vascularización, que en situaciones normales se toma como índice de actividad de la glándula. No obstante, tal vascularización ofrece unas particularidades especiales en algunos de los casos estudiados, ya que, como es el caso del animal de tres días de suprarrenalectomía total (fig. 5), aparece en forma de verdaderos lagos sanguíneos, con su limitación endotelial, que ocupan gran parte de la glándula. Por otra parte, la intensa vascularización se pone de manifiesto por la gran concentración de elementos formes que ocupan todos los intersticios glandulares, llegando a disecar los espacios interfoliculares y la propia pared epitelial.

Esta gran concentración sanguínea, que catalogamos de hemorrágica, ha de ser consecuencia de la falta de hormonas corticales, y ella misma, como un acto simplemente mecánico, crea una desorganización estructural poco favorable para que se desarrolle una función normal.

Por otra parte, aunque SLODER (1955) considera como un dato normal, en individuos de edad, la infiltración linfóide y no la encuentra en animales suprarrenalectomizados, nuestra casuística permite observarlo de una manera clara a partir de los catorce días de suprarrenalectomía parcial (fig. 4) y en los tres y cuatro días de suprarrenalectomía total. Desde luego que no podemos justificar de una manera clara su aparición, pero nos inclinamos, al igual que SLODER (1955), a considerarla como un índice de involución, al menos con relación a los estadios precedentes, dato al que también alude FRAWLEY (1970) en el estudio de la enfermedad de Addison.

En cuanto al aspecto folicular, tan sólo el tiroides de los animales sacrificados a los cinco días de la suprarrenalectomía parcial podríamos catalogarlos de progresivos, ya que la glándula presenta un aspecto compacto, con folículos de luz reducida, epitelio alto y coloide en parte reabsorbido (fig. 3) o de densidad moderada. Estos cuadros de cinco días parecen coincidir con la hipertrofia tiroidea descrita por MARINE y BRAUMAN (1921) y por GRUNT (1965) en animales suprarrenalectomizados, aunque, al contrario que estos autores, encontramos que el peso relativo de la glándula tiroides de estos animales es inferior al normal.

En cuanto a los demás animales, las imágenes tiroideas muestran fases alternantes de mayor o menor actividad y aunque parece alcanzarse una estabilidad glandular, siempre se observa una desorganización epitelial, sobre todo en los animales de suprarrenalectomía total.

Estas fases alternantes de los primeros días, caracterizadas por la presencia de verdaderos nódulos celulares bien delimitados (figura 2), nos hacen pensar en una situación reactiva en la que, tras el vaciamiento de algunos folículos aislados, acontece la agrupación de las células epiteliales que constituían la pared, sin que en ellas podamos apreciar el inicio de formación de folículos, como admite YOSHIMURA (1962).

Con estos resultados es difícil aclarar si existe o no una relación directa entre ambas glándulas. Si acaso, haciendo referencia a la infiltración linfoide, es más posible la existencia de una involución tiroidea, como admite GASTINEAU (1963), sobre todo en la suprarrenalectomía total, a pesar de que las gammagrafías realizadas en estos animales muestran una captación acelerada y una eliminación rápida. Estos datos gammagráficos, que concuerdan con los de KASPERLIK (1966) y MIKHALOV (1966) en cuanto mayor captación, y están en desacuerdo con los de GRUNT (1965) en cuanto a la excreción, los atribuimos a la situación vascular en que se encuentra la glándula.

Resumen

Se hace un estudio de la glándula tiroides de animales sometidos a suprarrenalectomía parcial y total.

Los cuadros morfológicos de la glándula tiroides dejan ver modificaciones en relación con el tiempo de evolución. No obstante, el dato más interesante está en relación con la situación vascular, pues existe una gran hemorragia, con grandes lagos sanguíneos y elementos formes que ocupan los intersticios y disecan el propio epitelio.

Las imágenes gammagráficas tiroideas obtenidas en estos animales indican la existencia de pocas modificaciones en el caso de suprarrenalectomía parcial y una aceleración de la captación y eliminación en el caso de

suprarrenalectomía total. Nos inclinamos a pensar en la existencia de una hipofunción tiroidea, achacando los cuadros morfológicos y gammagráficos a la propia situación vascular.

Summary

A study was made of the thyroid gland of animals previously adrenalectomized partially as well as radically.

The thyroid gland exhibits morphological modifications in relation to the time of evolution. Nevertheless the most important data is related to the vascular condition of the gland, since there is great hemorrhaging with large pools of blood and blood cells occupying the interstitium as well as desecating the epithelium itself.

The thyroid scans obtained in these animals indicate the existence of few modifications in the case of partial adrenalectomy and an acceleration in absorption and elimination in the radical adrenalectomy. We are inclined to believe in the presence of a thyroid hypofunction basing the scanning and morphological results on the vascular condition itself.

Zusammenfassung

Es wird ein Studium der Schilddrüse von Versuchstiere gemacht, bei denen die Nebennieren partial oder total entfernt wurden.

Das morphologische Bild der Schilddrüse zeigt Veränderungen im Zusammenhang mit der Entwicklungszeit nach der Operation. Trotzdem, der interessanteste Punkt liegt in der vaskuläre Lage, weil eine grosse Blutung zum Vorschein kommt, mit grossen Blutseen und Blutzellen die in den Zwischenräume liegen und selbst das Epithel austrocknen.

Die erhaltene gammagraphische Bilder der Schilddrüse in diesen Versuchstieren zeigen wenige Veränderungen bei einer Teilentfernung der Nebenniere, und eine Beschleunigung der Einnahme und Ausscheidung bei einer Totalentfernung. Wir meinen dass eine Hypofunktion der Thyreoidea existiert, und die morphologische und gammagraphische Bilder durch die vaskuläre Lage verursacht werden.

Résumé

On fait l'étude de la glande thyroïde chez les animaux soumis à surrenalectomie partielle et totale.

Les aspects morphologiques de la glande montrent des modifications en rapport avec le temp d'évolution. Cependant, le donné le plus interessante est en rapport avec le situation vasculaire, car il y a une grande hemorragie, avec des grands lacs de sang et des éléments formés qui occupent les interstices et font le dissection du épithelium.

Les images gammagraphiques thyroïdiennes chez les animaux montrent l'existence de peu de modifications dans le cas de surrenalectomie partielle et une acélération de la captation et d'élimination dans le cas de surrenalectomie totale. Nous pensons dans l'existence d'une hypofunktion thyroïdienne et nous croyons que les aspects morphologiques et gammagrafiques son dûs à la propre situation vasculaire.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P., R. VÁZQUEZ y G. PALOMERO (1973): La gammagrafía de pequeños animales: Su interés en investigación experimental de la glándula tiroidea. «An. Anat.», **22**, 221-228.
- DUCOMMUN, P., E. SAKIZ y R. GUILLEMIN (1966): Dissociation of the acute secretion of thyrotropin and adrenocorticotropin. «Amer. J. Physiol.», **210/6**, 1257-1259.
- FRAWLEY, T. H. (1970): Insuficiencia de la corteza suprarrenal. En: «La corteza suprarrenal», de A. B. EISENSTEIN. Ed. Toray, S. A. Barcelona.
- GASTINEAU, C. F., y J. W. ARNOLD (1963): Thyroid disorders in Addison's disease. I. Myxedema and goiter. «Proc. Mayo Clin.», **38/16**, 323-338.
- GRUNT, J. A., y R. D. CUNNINGHAM (1965): Long-term effects of adrenalectomy and gonadectomy on thyroid function in the rat. «Acta Endocrinology», **48**, 556-560.
- HUNTER BLACK, J., y W. W. WINTERNITZ (1965): Primary thyroid and adrenal cortical failure. A hazard of diagnostic procedure. «J. Ky Med. Ass.», **63/11**, 875-876.
- KASPERLIK-ZALUSKA, A. (1966): Thyroid function in Cushing's disease. II. Studies after bilateral total adrenalectomy. «Pol. Arch. Med. Wewnet.», **37**, 531-536.
- LABHART, A. (1958): Clínica de las secreciones internas. «Ed. Científico Médicas. Barcelona.
- MARINE y BAUMAN (1921): En: Tratado de Endocrinología Clínica. De A. W. SPENCE y J. M. CAÑADEL. Ed. Pro-Médica. Barcelona, 1921.
- MIKHAILOV YU, M. (1966): The effect of certain corticosteroid and ACTH on the functional activity of the thyroid gland under experimental and clinical conditions. «Gormonoter. Endokr.», **15/5**, 5-8.
- PALOMERO, G. (1967): Morfología del tiroides e histotopoquimia corticosuprarrenal en cobayas jóvenes. «An. Anat.», **16**, 525-575.
- SELYE, H. (1946): The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. «J. Clin. Endocrinol.», **6**, 117-230.
- SLOPER, J. C. (1955): The pathology of the adrenals, thymus and certain other endocrine glands in Addison's disease: An analysis of 37 necropsies. «Proc. of the Royar Soc. of Med.», **48**, 17-20.
- YOSHIMURA, F., Y. YONETSU y M. NAKAMURA (1962): Hormonal regulation of parafollicular cell in thyroid gland. «Endocrinol. Jap.», **9**, 284-301.

G. PALOMERO
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Bilbao (España)

LA ENCRUCIJADA VENTRICULAR CEREBRAL
ALTERADA EXPERIMENTALMENTE Y VÍAS DE
DEGENERACIÓN WALLERIANA CONSECUENTE
(Referencias a las conexiones del hipocampo)⁽¹⁾

POR

C. REBLET⁽²⁾

La ordenación más fiel de la bibliografía consultada debe ajustarse a la historia de actividades personales sobre el tema. A estos efectos empezó a llamarnos la atención el hipocampo por su especial situación de encrucijada anatómica, por su complejísima estructura, por su antigua referencia a la patogenia de la rabia, por su característica electroencefalográfica que le señala una capacidad amortiguadora antiepileptógena, por su capacidad receptora de informes aperitivos de nivel hidrocarbonado y, en fin, por el aspecto actual de vías y conexiones que ofrece la aplicación del método de Nauta y estereotaxis experimental. A este último propósito procede considerar también el asta de Ammon como encrucijada ventricular clínica donde tumores, hemorragias y traumatismos cerebrales ofrecen un trastorno confluyente en ella: Motivos todos ellos para enfocar este trabajo con arreglo al título que figura en el comienzo del mismo.

1. Situación de encrucijada

Dejando aparte la impresión que produce la característica situación del hipocampo al estudiar el hemisferio, bueno es referirse

(1) Tesis doctoral realizada y dirigida en el Departamento de Anatomía de la Universidad de Zaragoza en coordinación con el C.S.I.C. Calificada con Sobresaliente "cum laude" el día 8 de enero de 1976. Tribunal calificador: Presidente, J. Escolar; Vocales, G. Guillén, J. Sanz-Esponera, S. Rodríguez; Secretario, A. Vera.

(2) Prof. ayudante en el Departamento de Anatomía de la Universidad de Zaragoza.

a las bibliografías comparativas encabezadas por ARIENS KAPPERS (1936), CROSBY (1939), ROSE (1927, 1940), KUHLENBECK (1920) y HERRICK (1910, 1925, 1933), así como HERTWIG (1906) principalmente, que tratan el allocortex en transporte comparativo: los primeros autores en todas las especies, el segundo en los mamíferos, el tercero en las aves y los últimos en los peces y anfibios.

El hipocampo comparativamente ofrece a lo largo de todos estos autores una unidad de estudio morfológico situado en la encrucijada ventricular.

2. Estructura

La unidad morfológica referida preferentemente se vigoriza ante la estructura aparentemente complejísima del hipocampo, comprendiendo el subículo al asta de Ammon y a la fascia dentada principalmente, como demuestran RAMÓN Y CAJAL (1904), así como LORENTE DE NÓ (1933-1949) como principales trabajos. De esta manera, los estudios morfológicos indicados van fundamentando sus matices, sobre todo en lo que se refiere al estudio arquitectónico del allocortex amónico de ROSE (1927, 1940).

3. Sobre patogenia de la rabia

Al relacionarse este proceso patológico clásicamente con las alteraciones de neurofibrillas y cuerpos de Negri, se dio un mayor interés y comprensión a la organización de esta zona de nuestro estudio. Igualmente, bueno es referirse aquí también a la falsa rabia desencadenada por lesiones del hipotálamo y complejo amigdalino (BARD, 1948), que resulta un tanto diferente y que obligan a distinguir diferenciaciones patogénicas.

4. Capacidad antiepileptógena amortiguadora

Procede ahora mencionar las abundantes referencias clínicas de hace algunos años sobre epilepsias esenciales que tenían asiento en lesiones del hipocampo y en el área límbica, encontrándose en ellas, en terreno electroencefalográfico, ritmos del asta de Ammon diferentes del resto de la corteza, ritmos que se mantienen después de haberse alterado mucho más que los neocorticales por cuyas circunstancias se le asigna un papel moderador a las estructuras amónicas (PENFIELD, 1941; FERRER TORRES, 1962).

5. Informes aperitivos

Estos informes aumentan hoy todavía más el interés concedido al asta de Ammon desde los tiempos de BRODAL (1947). A estos

propósitos podemos referirnos a los trabajos de SARRAT (1968) y de VERA (1974, 1975) sobre metabolismo hidrocarbonado en dicha asta y así volver a las alteraciones de estos niveles en el embarazo y en enfermedades que alteran el hipocampo, como la misma rabia indicada anteriormente.

6. Vías y conexiones

Las orientaciones bibliográficas precedentes, la aplicación de estereotaxis experimentales y degeneración walleriana (CAJAL, 1913) consiguiente que los modernos métodos de Nauta ponen en manifiesto, nos ofrecen hoy en día un amplio panorama centrando el interés en este mismo autor (NAUTA y col., 1950, 1951, 1952, 1954, 1957, 1958, 1970, etc.) o en muchos otros que han usado este método (EAGER and BARNETT, 1966; DAITZ and POWELL, 1954; ADEY y col., 1952), planteando estudios de vías aferentes (BLACKSTAD, 1956; REINOSO y col., 1974), así como vías eferentes (GUILLERY, 1956; NAUTA, 1956, 1958; POWELL, 1957; SIMSON, 1962; RAISMAN, 1966, etc.).

La mayor parte de estas vías son orientadas en sentido descendente, interesando entonces el problema a los que trabajan en áreas de más bajos niveles, como BUENO (1974) a propósito de la zona mamilar, ESCOLAR y col (1973, 1975) a propósito del rafe, sustancia perforada y locus ceruleus, así como a otros que se refieren a la actividad colinérgica en estas zonas (MATTHEWES y col., 1974).

7. Estereotaxis experimental

Esta estereotaxis en el asta de Ammon empieza a ser efectiva desde los tiempos de NAUTA (1950) y actualmente es la base de nuestros trabajos, aplicando el procedimiento de unidades relativas de ESCOLAR (1954, 1955, 1962) y VALDIZÁN (1973), fundamentado en los trabajos de HORSLEY y CLARKE (1909). Nuestra experiencia personal en estas técnicas nos hizo ver pronto que la lesión del asta de Ammon era difícil conseguir pura, pues se lesionaban también elementos integrantes de la encrucijada de ventrículo lateral que se encuentra allí incrustado, acabando inclusive por afectarse las mismas vías piramidales de apariencia tan alejadas patológicamente (TRUEX y col., 1969) de los trastornos de esta encrucijada y cuya degeneración walleriana (ESCOLAR y col., 1950) también nos sirve de referencia en este trabajo.

8. Encrucijada clínica

Ya vemos, pues, cómo el hipocampo nos lleva a la encrucijada ventricular lateral como referencia experimental, y ello nos hace acudir en paralelo a referencias clínicas comparativas, puesto que

aquí confluyen diversas alteraciones del hemisferio: tumores (SCHEID y col., 1968; BODECHTEL, 1967; PEDRO-PONS y col., 1969; ROBINS, 1967, etc.), hemorragias y traumatismos (JHANNSSON, 1960; PETERS, 1974; ROBBINS, 1967; BÖHNE, 1932; SCHEID y col., 1968; CHUSID, 1972; BERNSMEIER, A., 1967, etc.).

Planteo del problema

Los antecedentes bibliográficos del capítulo precedente nos llevan a la encrucijada ventricular, con referencia especial al hipocampo, cuya función, vías y conexiones ofrecen amplia laguna de conocimientos.

Sobre ello creemos poder aportar efectuando estereotaxis sucesivas parangonadas con bibliografías de alteraciones clínicas paralelas de dicha encrucijada.

Interesa ante todo precisar vías de degeneración walleriana a lo largo del neuroeje, detectadas con el Nauta a los 7 ó 10 días de la estereotaxis.

Necesitamos igualmente reconstruir las lesiones estereotáxicas realizadas en dicha encrucijada, intentando entonces su parangón con bibliografía de procesos clínicos. Es preciso relacionar las lesiones con las vías para deducir las conexiones de los centros afectados y sobre todo sus relaciones funcionales con centros vitales de la formación reticular troncoencefálica.

Las lesiones experimentales las hacemos en un sólo lado, por lo tanto las manifestaciones clínicas y electroencefalográficas generales ofrecen para nosotros mucho menos valor que las proyecciones wallerianas.

Material y métodos

A) Estereotaxis

El método empleado ha sido el de «Unidades Relativas (ESCOLAR, 1954; VALDIZÁN, 1973), ampliamente utilizado en este Departamento. Así mismo, se ha utilizado el aparato estereotáxico de Escolar. Los electrodos fueron de cobre con revestimiento plástico, quedando aquéllos descubiertos 1 mm en el extremo a introducir y en varios milímetros en el extremo externo.

Las coagulaciones fueron todas izquierdas y el electrodo fue retirado inmediatamente después de la intervención, suturando la incisión por planos.

B) Obtención del material post-mortem

Habiendo esperado unos días para que se produjera la degeneración axonal se procedió a la perfusión intracardíaca de los animales anestesiados con Nembutal, con formol neutro al 10 % a presión continua de 160 mm Hg, previo lavado con suero fisiológico.

Perfundimos los animales y recogimos en todos el encéfalo, extraído 24 horas más tarde de la perfusión y guardado para su conservación y fijación en formol neutro al 10 %.

C) Microtomía

Una vez separado diencéfalo y telencéfalo del tronco encefálico, a nivel de los pedúnculos cerebrales, se procedió a hacer tres bloques del hemisferio izquierdo que fueron cortados transversalmente en microtomos de congelación, con un espesor de 25 a 30 micras para cada corte, siendo el primer corte de la serie a nivel de la encrucijada y siguiendo hacia adelante para acabar a nivel del complejo amigdalino. Así mismo se cortaron series de troncoencefalo, con cortes de 25 a 30 micras.

D) Método de Nauta

1. Perfusión con formol neutro y permanencia posterior en este fijador un mínimo de 15 a 20 días.
2. Cortes en congelación de 25 a 30 micras.
3. Agua destilada.
4. Ácido fosfomolibdico, 45'.
5. Permanganato potásico, 5 a 10'.
6. Ácido oxálico-hidroquinona, al 1 %, 2'.
7. Dos lavados en agua destilada.
8. Nitrato de plata al 1'5 %, 15 a 20'.
9. Dos lavados de agua destilada.
10. Solución de Nauta-Laidlow, 45''.
11. Solución de reducción, en tres cápsulas, total 2'.
12. Agua destilada.
13. Tiosulfato sódico al 1 %, 45''.
14. Tres lavados en agua destilada.
15. Deshidratación de los cortes en alcohol (70, 96 y 100°).
16. Carboxilol y xilol.
17. Montar en Eukitt.

Solución de Nauta-Laidlow: En probeta de 250 cc, con tapón esmèril, se pesan 122 gr de nitrato de plata y se completa con agua destilada hasta 20 cc, se disuelve y se completa hasta los 250 con carbonato de litio. Cerrar hermèticamente con el tapón y agitar con energìa. Se deja reposar la probeta, en ambiente de poca luz, hasta que el sedimento haya alcanzado una altura de 70 cc. Se aspira el líquido sobrenadante, se rellena de nuevo con agua destilada hasta los 250 cc y se agita energèticamente. Dejar nuevamente que el precipitado alcance los 70 cc y volver a eliminar el líquido sobrenadante. La operación de añadir agua destilada, agitar y eliminar el líquido sobrenadante se repite tres veces. Al sedimento resultante de la última vez se le añaden unas gotas de amoníaco concentrado, con lo que toma color negro. Se agita hasta que el precipitado haya desaparecido casi totalmente. Completar con agua destilada hasta 120 cc, tapar y dejar en reposo.

Antes de usar la solución de Nauta-Laidlow, se añaden a cada 25 cc de la solución una gota de formal al 10 %, se deja en reposo 10', se filtra y se añaden 30 gotas de alcohol absoluto.

Solución de reducción:

Agua destilada	800 cc
Alcohol 96° puro	90 cc
Formol al 4 %	27 cc
Ácido cítrico al 1 %	27 cc

En el método de Nauta-Laidlow podemos distinguir dos fases: en una primera, ácido fosfomolibdico y permanganato potásico impregnan y preparan los tejidos para que se reduzcan las fibras normales y se pongan de manifiesto las degeneradas. Posteriormente tiene lugar una preimpregnación argéntica con el nitrato de plata al 1'5 %.

En una segunda fase se impregnan, definitivamente, mediante la solución de Nauta-Laidlow las fibras degeneradas y se reducen de color as restantes estructuras gracias a la solución de reducción.

E) Ordenación del material

En total recogimos 9 casos. Todos los animales fueron gatos adultos de ambos sexos, sin malformaciones ni alteraciones aparentes. Numeramos los casos del 1 al 9 inclusive y todos fueron intervenidos estereotáxicamente en el hipocampo hacia la encrucijada ventricular. Los 9 casos fueron analizados por el método de Nauta.

CASO 1. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: sin anormalidad. Lesión: asta de Ammon.

CASO 2. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: hemorragia subaracnoidea en base. Lesión: lóbulo temporal.

CASO 3. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: hemorragia en ventrículo lateral. Lesión: asta de Ammon, fimbria, tapetum, cuerpo geniculado.

CASO 4. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: hemorragia intraparenquimatosa. Lesión: asta de Ammon y estriatum.

CASO 5. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: sin anormalidad. Lesión: encrucijada ventricular, hendidura de la base.

CASO 6. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: sin anormalidad. Lesión: fimbria, asta de Ammon, cuerpo geniculado lateral.

CASO 7. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: hemorragia subaracnoidea en base. Lesión: encrucijada ventricular, fórnix.

CASO 8. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: sin anormalidades. Lesión: asta de Ammon, fimbria, cuerpo geniculado lateral.

CASO 9. Estereotaxis: asta de Ammon izquierda. Autopsia: muerte tres días antes de la perfusión. Lesión: asta de Ammon.

Hallazgos

Debeso, en primer lugar, analizar las lesiones obtenidas. En segundo término, los niveles del neuroeje donde estas lesiones pueden repercutir en vías de degeneración walleriana. Estudiando estos niveles podemos referir a ellos, en el apartado siguiente, la dege-

neración walleriana resultante en cada caso. Es muy práctico empezar por el nivel de la decusación, pues cualquier vía, por escasa longitud que tenga, debe llegar a este nivel y ello nos da una buena referencia. Entonces podremos analizar otros niveles en orden creciente de dificultades y, por lo tanto, desde los pedúnculos cerebrales, tubérculos mamilares, márgenes de la encrucijada ventricular y, por último, el bloque de estriatum que está circunscrito en la concavidad de la encrucijada ventricular. En resumen, los apartados de este capítulo son los siguientes:

- A) Lesiones.
- B) Niveles patrón.
- C) Degeneración walleriana referida a la decusación.
- D) Degeneración walleriana referida a pedúnculos cerebrales.
- E) Degeneración walleriana referida a cuerpos mamilares.
- F) Degeneración walleriana referida a márgenes de la encrucijada ventricular.
- G) Bloque de striatum incluido en la concavidad de la encrucijada ventricular.

A) Lesiones

Nuestra primera idea fue lesionar el hipocampo y las estereotaxis obtenidas de nuestros casos alcanzaban esta zona mayor o menor extensión. La parte del hipocampo más susceptible de estereotaxis era la zona refleja a nivel de la encrucijada, esto es, la porción del hipocampo que tomaba prácticamente la dirección de la aguja de estereotaxis. El hipocampo a nivel de la encrucijada resulta lesionado con más éxito por ello, pero como en esta zona existen adyacentes muchos otros elementos, no se pudo evitar herirlos en la mayor parte de los casos obtenidos. Por este motivo nuestro trabajo se refiere a más extensión que al hipocampo, se refiere también a alteraciones de los diferentes estamentos de la encrucijada. A este propósito, en la luz de la encrucijada ventricular lateral hay una ranura limitada no sólo por el hipocampo (como su asta de Ammon, fascia dentada, fimbria y fórnix que forma la pared interna), sino por el tapetum, que forma la pared externa, y las prolongaciones de los plexos coroideos que lo rellenan.

Por otra parte, en la zona circunscrita de encrucijada está el striatum con el caudatum en superficie y el estrio pallido en profundidad con la cápsula interna formando un bloque. Muy cerca de esta zona, pero ya fuera del ventrículo, tenemos la hendidura cerebral, donde se aprecian los cuerpos geniculados sobre todo.

Vemos, pues, muchos elementos relacionables con la encrucijada ventricular y adyacentes al hipocampo que fueron lesionados en nuestras estereotaxis, como podemos advertir.

B) Niveles patrón

Son aquellas alturas del neuroeje cuya sección demuestra zonas muy wallerianizables por ser tránsito de conexión de vías cuyos centros fueron lesionados experimentalmente. En este caso la lesión de la encrucijada del ventrículo lateral destruye vías adya-

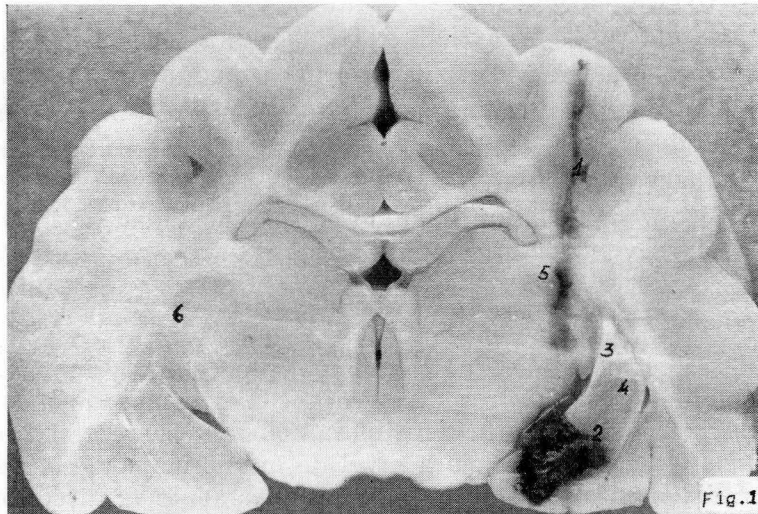


FIG. 1. — Explica la dirección de la estereotaxis por coagulación (1), hasta hipocampo (2), cuya base queda destruida, quedando parcialmente libre fimbria (3) y asta de Ammon (4). Nótese, en cambio, que el cuerpo geniculado lateral (5) queda afectado por el trayecto de la aguja, siendo comparable al del opuesto (6), que queda indemne (caso 8).

centes que descienden, tanto de tipo extrapiramidal (como serían las que procediesen del hipocampo o del cuerpo geniculado, etc.), o bien de vías piramidales que, aunque algo más alejadas de la encrucijada, puedan también ser lesionadas. Lo mismo podríamos decir de vías de tipo metapiramidal de carácter instintivo tan íntimamente relacionadas con el estriopálido y el allocortex diagonal. Los niveles que hemos elegido son aquellos que nos resultan prácticos para denunciar la degeneración walleriana. Su descripción consta en el original. En la publicación, en cambio, la limitación de espacio editorial nos determina a excluirlo.

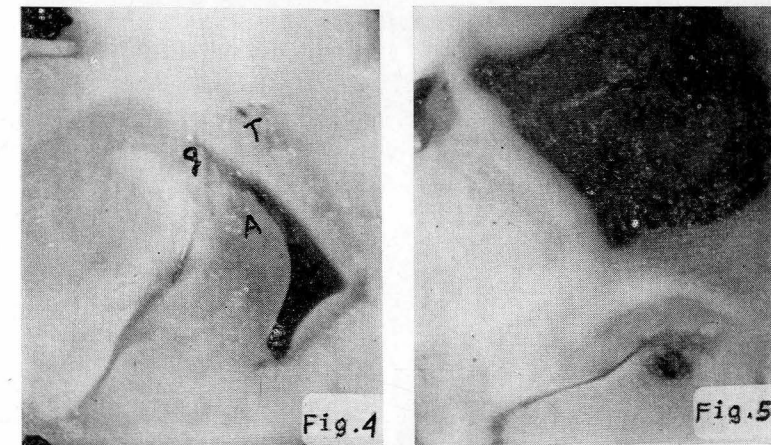
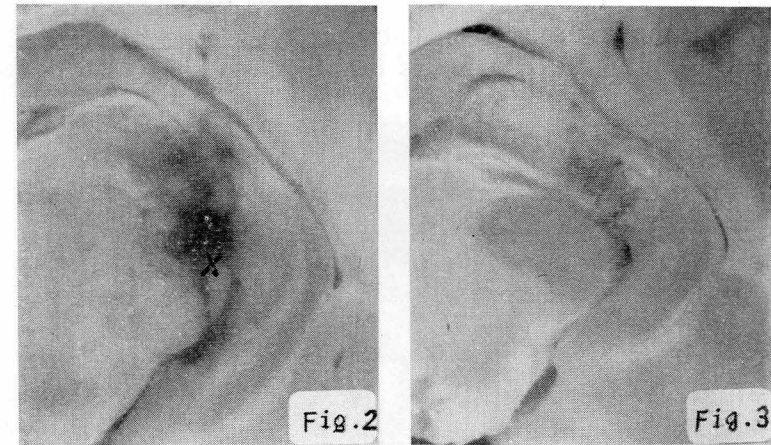


FIG. 2. — Ofreciendo amplia zona de coagulación en plena encrucijada (X) ventricular afectando más que a esta encrucijada a la hendidura cerebral de la base (caso 6).

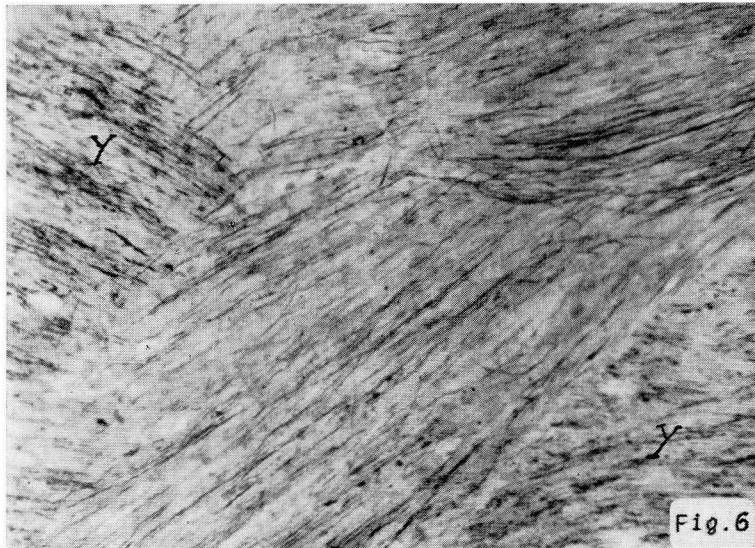
FIG. 3. — Se trata de una lesión muy parecida al caso anterior, pero menos expresiva en la figura. Correspondiente al caso 5.

FIG. 4. — Se trata del caso 3, notando que la lesión afecta ampliamente la asta de Ammon (A), así como el cuerpo geniculado (g) y el tapetum (T).

FIG. 5. — En el caso 4 la lesión estereotáxica está bien colocada en el asta de Ammon (A), pero en el trayecto se ha producido una hemorragia de la arteria capsular que ha destruido todo el estriatum (X) hasta la corteza.

C) Degeneración walleriana en la decusación

Este primer nivel es el más sencillo para detectar la degeneración walleriana, pues nos encontramos con el entrecruzamiento de todas las vías, sobre todo las descendentes que, más o menos



cercanas a las paredes de la encrucijada ventricular, pueden ser lesionadas experimentalmente. Tomamos como referencia, pues, la decusación en la que encontramos las vías piramidales derecha e

izquierda entrecruzadas en parte ante el apéndice; las áreas reticulares mediales y áreas reticulares laterales. A este campo podemos referir los hallazgos wallerianos en la zona de la decusación con abundante degeneración en el lado izquierdo; sin embargo, en el lado derecho no encontramos degeneración.

En la figura 6, que corresponde a mayores aumentos de la decusación, se ven las fibras que se cruzan del lado izquierdo (Y) muy degeneradas; no ocurre lo mismo con las que vienen del otro lado, en las cuales encontramos sólo algunos grumos de degeneración.

Por encima de la decusación observamos, naturalmente, degeneración walleriana en el lado izquierdo, mientras que las fibras del otro lado apenas han degenerado. Este nivel nos muestra un aspecto de la formación reticular bulbar lateral en las proximidades de las vías piramidales en el cual la degeneración es más manifiesta en el lado izquierdo.

Por debajo de la decusación, a nivel del segundo metámero cervical, el haz piramidal lateral derecho ofrece todavía algún axón degenerado. En este nivel cervical y a grandes aumentos se encuentran fibras cercanas a la sustancia gris con una manifiesta impregnación argéntica donde se pueden ver abundantes grumos de degeneración. A mayores aumentos se aprecian una neurona con algún axón preterminal y algunos axones con aspecto degenerado, todo ello en el asta anterior de la médula.

En un nivel más alto, en el bulbo (fig. 7), observando las vías piramidales de ambos lados a diversos aumentos, podemos apreciar que en el lado izquierdo la degeneración es muy manifiesta, así como la formación reticular izquierda, que también aparece con abundantes granos de degeneración. En el lado derecho se observa el paso de algunas fibras aberrantes (X) desde el lado izquierdo.

En resumen: Al nivel de la decusación y zonas adyacentes encontramos degeneración walleriana así distribuida: toda la vía piramidal izquierda intensamente degenerada, en general, por encima de la decusación. Por debajo de la misma, la parte que se cruza hacia el lado derecho, haciéndose lateral, lleva abundantísima degeneración. En cuanto a áreas reticulares adyacentes a las vías piramidales tanto por encima de la decusación como por debajo de la misma, la degeneración walleriana se encuentra distribuida de la siguiente forma: a nivel bulbar encontramos zonas reticulares en ambos lados con abundantes granos fuertemente teñidos que en buena parte pueden considerarse degeneración, todo ello más intenso en el lado izquierdo, ya que se refiere al nivel por encima de la decusación; por debajo de la decusación la proyección walleriana reticular se hace exclusivamente homolateral.

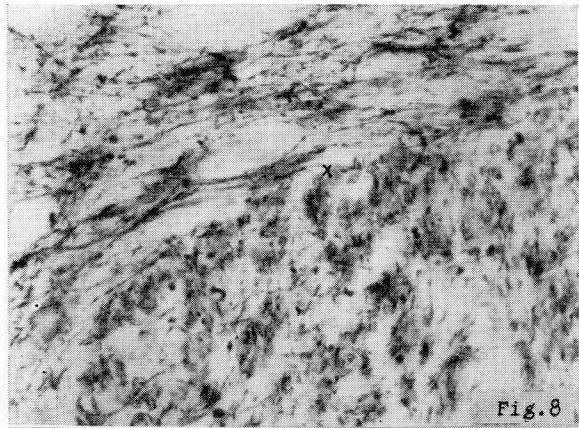


Fig. 8

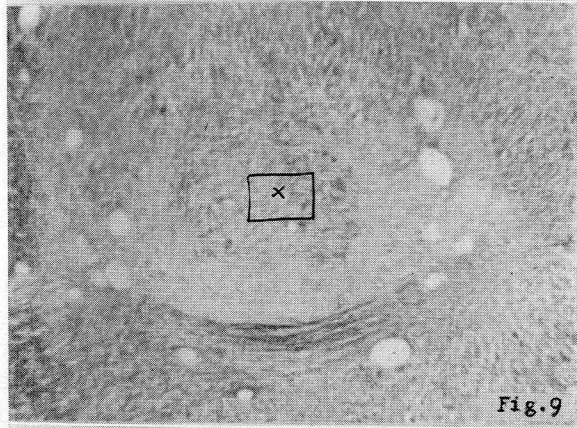


Fig. 9

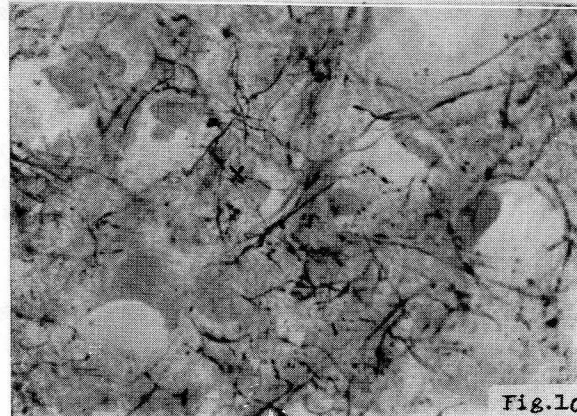


Fig. 10

D) Degeneración walleriana referida a los pedúnculos cerebrales

Este crítico nivel donde se entrecruzan tantas vías y centros y donde la patología ofrece tantas circunstancias clínicas de descerebración, podemos detectar la degeneración con relativa sencillez.

En estos cortes los campos fundamentales son también las vías piramidales y zonas adyacentes, así mismo referiremos también el locus ceruleus y los tubérculos cuadrigéminos. Con esto vamos a estudiar diversos detalles de estas zonas concretas de los pedúnculos.

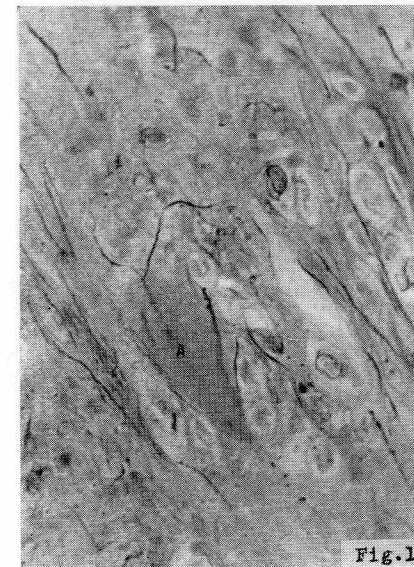


Fig. 11

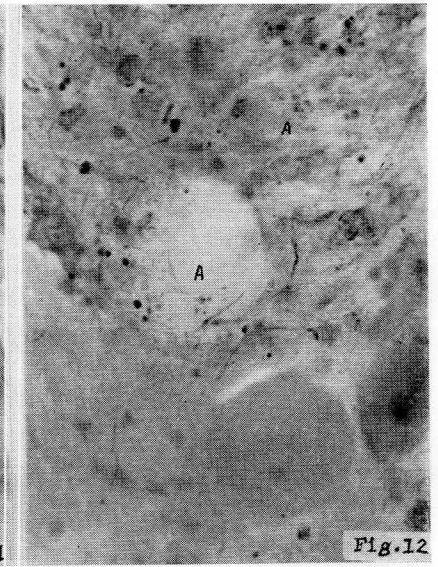
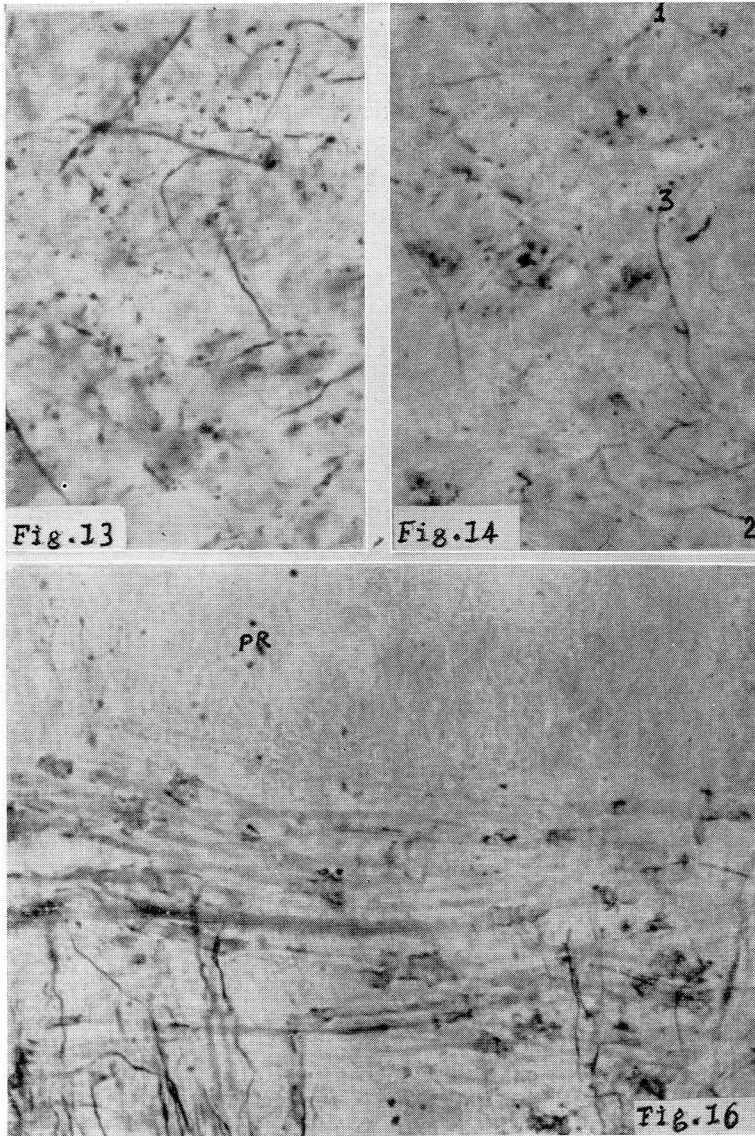


Fig. 12

La figura 8 nos ofrece un detalle de las vías piramidales del lado izquierdo. También podemos ver parte de zona interpeduncular y puente con abundante degeneración. Sin embargo, la vía piramidal derecho aparecía con algo de degeneración, si bien no muy manifiesta en proporción con los aumentos (700x). En cambio la degeneración en el puente y reticular adyacente no ofrece lugar a dudas. La figura 9, también referida al nivel peduncular, ofrece el núcleo interpeduncular en pequeños aumentos. Esta zona (X) se hallaba degenerada, como lo demuestra la figura 10 a mayores aumentos, en la que la degeneración es abundantísima. Mostramos en las figuras 11 y 12 detalles junto al locus ceruleus (Lc) de ambos lados, en los que apreciamos claramente neuronas con sus terminaciones axonales (A), y en el lado izquierdo (fig. 12) se puede ver

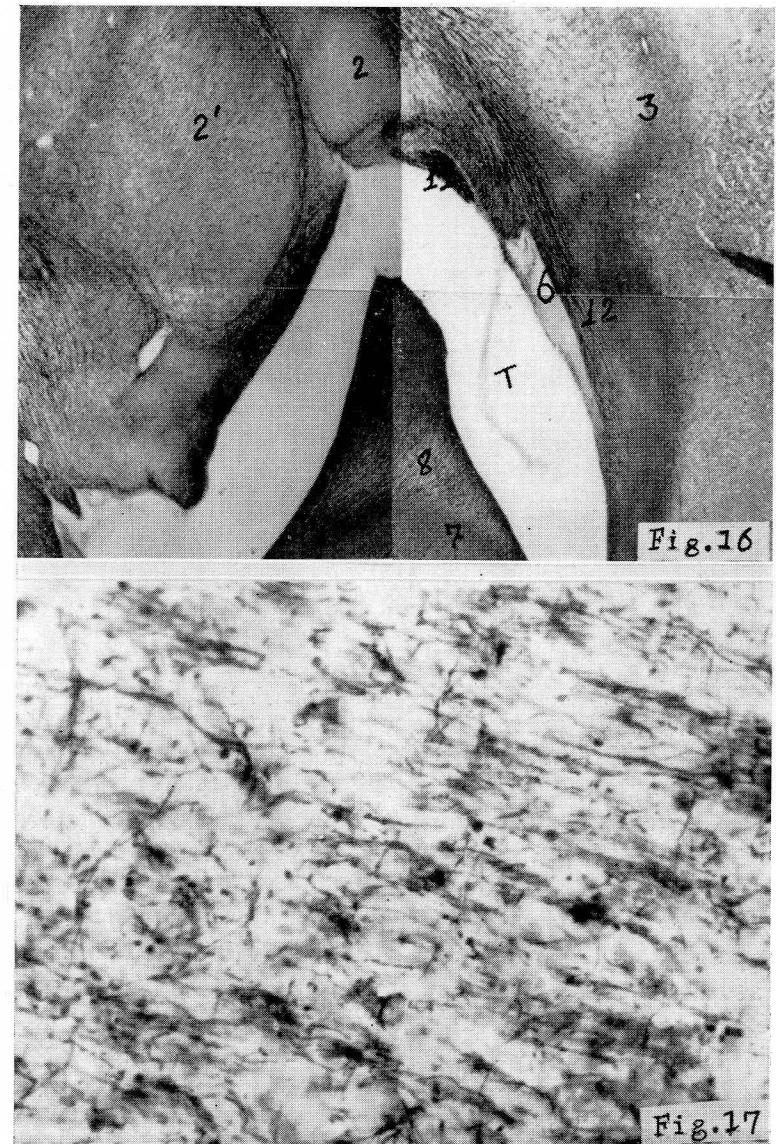
algún axón terminal algo dudosamente degenerado. En el rafe hay degeneración en su parte gelatinosa.



Las figuras 13 y 14 nos muestran los tubérculos cuadrigéminos izquierdo y derecho respectivamente; el izquierdo está muy degenerado y el derecho, en cambio, sólo ofrece algún axón degenerado, a la vez que varias terminaciones axonales. En el cuerpo geniculado

lateral izquierdo ocurre lo mismo, ofrece degeneración walleriana, y no el derecho.

El centro interpeduncular (fig. 15) ofrece degeneración, aumentando ésta, en la zona cercana a la cintilla fundamentalmente posterior.

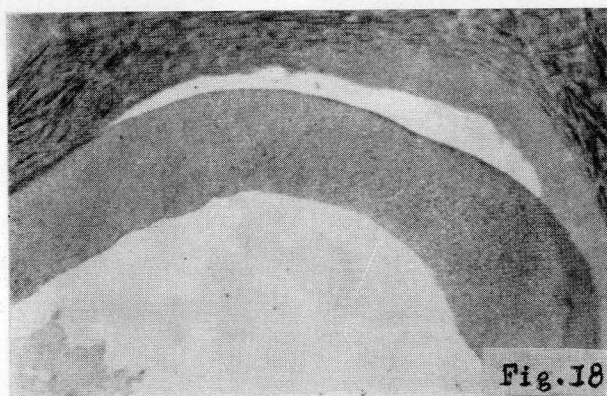


E) Degeneración walleriana referida a los cuerpos mamilares

Observamos la degeneración en la base mamilar, en el haz mamilotalámico y la degeneración hacia el haz mamilotegmental.

F) Degeneración walleriana referida a los márgenes de la encrucijada ventricular

Precisando en la encrucijada la luz del ventrículo lateral (figura 16), podemos repasar todo lo que indica este panorama: el hipocampo —con la fimbria (8) y el asta de Ammon (7)—, así como la luz temporal del ventrículo lateral, el geniculado lateral (2), el geniculado medial (2'), la cola del núcleo caudal (6), el haz calcarin-

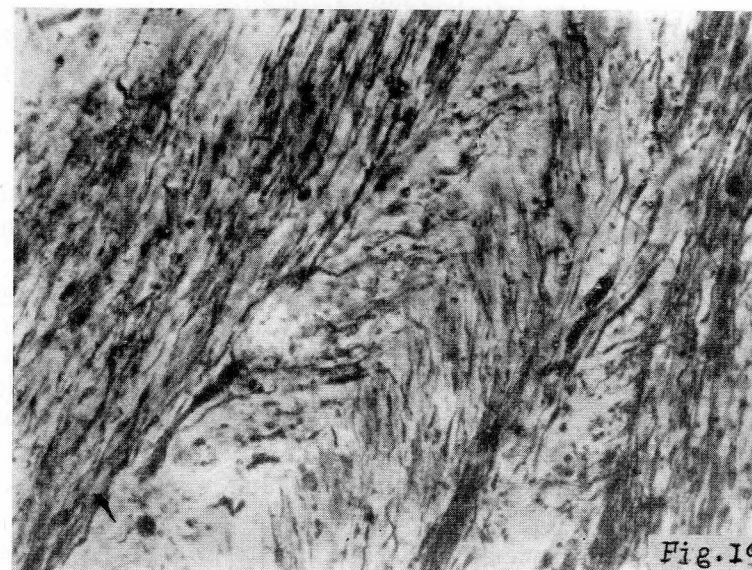


cuadrigeminal (9), la estriaterminalis (11) y, por último, fibras del tapetum (12) que llevan radiaciones temporopónticas de la cápsula interna —todo ello inmediatamente debajo del striopallido (2)—. En los detalles de estas zonas podemos ver un aspecto de la parte que rodea a la estría terminalis, es decir, el geniculado lateral, en el que apreciamos la degeneración walleriana. Cerca del núcleo caudado, también muestra varios axones degenerados. El haz calcarinocuatrigeminal lo encontramos degenerado en la figura 17. Por último, la estría terminalis también presenta degeneración.

Si acudimos a la prolongación frontal del ventrículo lateral (figura 18) podemos analizar algunos panoramas del fórnix. Hay un primer panorama correspondiente a la parte medial del fórnix en el que si hay varios axones degenerados, los dos siguientes panoramas corresponden a la parte lateral de la fimbria, que también aparece degenerada.

G) Bloque de striatum

Si consideramos un panorama desde tálamo a corteza temporal podemos encontrar las siguientes zonas: tálamo, lámina reticular del tálamo, cápsula interna, striatum, capsula externa, antemuro, cápsula extrema y corteza. Viendo cada una de estas partes, en



un detalle junto a la lámina reticular del tálamo encontramos degeneración walleriana; a continuación examinemos la cápsula interna (fig. 19), en la que también existe degeneración. Por fuera de la cápsula interna parecíamos así mismo abundante degeneración, en el striatum sin embargo sólo encontramos terminaciones axonales. Por último la cápsula externa está también claramente degenerada, así como la cápsula extrema.

Resumen

Lo esencial en estos hallazgos del capítulo anterior es la degeneración walleriana consecuente a la estereotaxis a nivel de la encrucijada ventricular.

Hemos encontrado rastros de degeneración walleriana abundante en el encéfalo y a todo lo largo del neuroeje, pero la referencia principal son los niveles donde esta degeneración se aprecia con facilidad, siendo el nivel preferente el de la decusación bulbar y

después los pedúnculos cerebrales, pues en ambos niveles pueden detectarse las vías de proyección. Más altos niveles, como son: la encrucijada mamilar, la misma encrucijada ventricular, en fin, la zona estriopallidal incluida la concavidad de esta encrucijada, ventricular, nos denuncian conexiones allocorticales y alguna vía eferente referida al hipocampo como hemos visto en el capítulo anterior.

De la revisión del capítulo indicado deducimos la existencia de vías de degeneración walleriana largas y cortas, de la siguiente manera:

1. *Degeneración walleriana en vías piramidales*

Esta degeneración se aprecia fundamentalmente a nivel de la decusación bulbar y fundamentalmente en las vías izquierdas antes de entrecruzarse. Recordemos a este propósito la decusación bulbar, donde la vía piramidal izquierda está fuertemente degenerada y en cambio no lo está la derecha. Para ratificar este hallazgo refirámonos a la misma zona de la decusación del nivel que estamos estudiando, pero suficientemente aumentado en la figura 6, donde notamos las fibras degeneradas (Y) que se entrecruzan con las no degeneradas. Todos los datos que indicamos a este nivel nos ofrecen ya la formación de la vía piramidal heterolateral muy degenerada en el lado derecho.

Antes del entrecruzamiento, y por lo tanto a nivel superior, observamos la vía piramidal izquierda fuertemente degenerada en contraste con la derecha. A un nivel más bajo de la decusación, como puede ser el primer metámero cervical, encontramos áreas de las vías piramidales laterales derechas, piramidales laterales izquierdas y a mayores aumentos, cerca de la sustancia gris, una manifiesta impregnación argéntica de las fibras, donde se pueden ver abundantes grumos de degeneración. Ya en la misma asta anterior, algunas neuronas recibiendo fibras, unas íntegras, otras con aspecto degenerado.

Si insistimos en un nivel algo más alto de la decusación (fig. 7) distinguiremos abundante degeneración del lado izquierdo y el aspecto del lado derecho un tanto dudoso. Todo esto será repasado a mayores aumentos, comparando el aspecto de ambos lados de la línea media e incluso el paso de algunos tractos del lado izquierdo al derecho (X) un tanto aberrantes, aportando inclusive algo de degeneración a ese lado.

Las vías piramidales al nivel de los pedúnculos cerebrales (figura 8) acusan degeneración a mayores aumentos: justamente en la parte más interna del pie peduncular izquierdo, donde la vía está

en contacto con la zona interpeduncular. La comparación entre ambos lados ofrece una diferencia evidente de degeneración walleriana un tanto confusa en el lado derecho, pudiendo añadir que las vías pónicas, ya cerca de estos pies piramidales, ofrecen grumos degenerativos más en el lado izquierdo (fig. 8) y poco en el lado derecho.

A niveles más altos, las abundantísimas fibras degeneradas existentes podrían ser referidas más bien a niveles reticulares que piramidales. Por eso seleccionamos, a estos altos niveles, zonas del bloque striatum incluidas en la concavidad de la encrucijada ventricular (fig. 19), apreciando la cápsula interna y que llevan abundantes fibras piramidales de proyección descendente a causa de una lesión en la encrucijada un tanto propagada al striatum.

Con esto resumimos que las vías ofrecen una ostensible degeneración walleriana clásica a causa de una lesión en la encrucijada ventricular fácilmente propagable en el parénquima inscrito en la concavidad de la luz ventricular. Como particularidad estas vías piramidales ofrecen situación exclusiva en el lado izquierdo, que es el de la lesión, y que pasan masivamente al derecho, al nivel de la decusación, ofreciendo visiblemente sus terminaciones en el asta anterior de la médula. Sobre esta vía puede aportarse algunas particularidades, como el de pasos al lado opuesto en pequeñas emisiones antes de llegar a la decusación y en difusiones adyacentes confundibles con áreas y vías reticulares de las que debemos dar razón en el siguiente apartado.

2. *Degeneración walleriana en áreas reticulares a distancia*

Se trata de granos degenerativos muy adyacentes a las vías piramidales, pero situados en zonas reticulares. Todo ello debe de repasarse siguiendo el orden establecido anteriormente. Así, a nivel bulbar y cerca de las vías piramidales encontramos zonas reticulares con abundantes granos fuertemente teñidos, que en buena parte pueden considerarse degenerativos, si bien los más finos podrían representar terminaciones axónicas circunscribiendo nidos cuyo contenido debería ser celular. Todo esto corresponde a una vía reticular lateral del lado derecho e izquierdo. Siempre en la decusación, pero en un nivel algo más alto, junto a la zona lateral donde la vía piramidal izquierda se disemina, apreciamos zonas reticulares con indudables granos degenerativos.

Ya a nivel de los pedúnculos, donde la parte interna del pie se difumina por áreas reticulares y fibras del puente, insistimos en la existencia de granos degenerativos difuminados y poco precisos en el lado derecho y muy claramente en el lado izquierdo (fi-

gura 8). A nivel del núcleo interpeduncular (fig. 9) existen, a mayores aumentos (fig. 10), abundantes granos de degeneración. Esta zona reticular del núcleo interpeduncular contrasta con la zona reticular posterior que está entre la cintilla fundamental posterior y el acueducto del mesencéfalo, confundiendo un tanto con la sustancia periependimaria. Pues bien, en esta zona, a mayores aumentos, apreciamos algunos grumos de degeneración a nivel de la sustancia periependimaria, aumentando aún más los grumos degenerativos al acercarnos a la cintilla fundamental posterior. Junto a esta zona, refiriéndonos casi al 4.º ventrículo, notamos el locus ceruleus, en el lado izquierdo y derecho respectivamente, que a mayores aumentos (figs. 11 y 12) ofrece las grandes células ganglionares de referencia, así como zonas degenerativas, sobre todo en el lado izquierdo (fig. 12). A este mismo nivel, y continuando el núcleo interpeduncular hacia atrás, observamos los núcleos del rafe y grupos degenerativos junto a él, en su parte gelatinosa, procedentes de áreas piramidales.

En algunos casos las zonas periependimarias, entre las cintillas fundamentales posteriores (fig. 15), ofrecen abundante degeneración hasta el mismo locus ceruleus en ambos lados. Y siguiendo la zona periependimaria hacia atrás apreciamos abundante degeneración, más en el tubérculo cuadrigémimo homolateral (fig. 13) que en el heterolateral (fig. 14), ampliándose la degeneración hacia el cuerpo geniculado del lado izquierdo.

Debemos de resumir estas proyecciones wallerianas de áreas reticulares así: por debajo de la decusación corresponde al área reticular heterolateral; por encima de la decusación corresponde a ambos lados, si bien más al homolateral, que es el izquierdo, existiendo terminaciones al nivel del núcleo interpeduncular del rafe, de la sustancia periependimaria (sobre todo a nivel del locus ceruleus), de los tubérculos cuadrigéminos (sobre todo el izquierdo).

3. Degeneración en áreas próximas a la encrucijada ventricular

Aquí debemos de distinguir la encrucijada mamilar, la encrucijada geniculada, la encrucijada ventricular propiamente dicha y el bloque striatum incluido.

3.1. Encrucijada mamilar

Encontramos fibras que llegan al cuerpo mamilar por el fórnix y fibras que salen por el haz mamilotalámico y haz tegmental descendente. Las fibras eferentes ofrecen degeneración, tanto las mamilotalámicas como el haz tegmento-descendente. Claro que dicha degeneración no puede admitirse como eferente de neuronas ma-

milares, sino como fibras de paso del mismo fórnix degenerado sin hacer sinapsis en los cuerpos mamilares.

3.2. Encrucijada geniculada

Las observaciones correspondientes al cuerpo geniculado correspondieron al cuerpo geniculado izquierdo, un tanto pediculizado junto al tálamo. Por dentro del cuerpo geniculado y por fuera de este panorama podemos hacer alguna observación aumentándolo respectivamente; por dentro del cuerpo geniculado existe amplia degeneración del haz calcarin-cuadrigeminal; por fuera del cuerpo geniculado apreciamos abundante degeneración, refiriéndose al arranque de las radiaciones ópticas geniculocalcarinas.

3.3. La encrucijada ventricular propiamente dicha

Podemos anotar algunas zonas en el nivel correspondientes de la figura 16, donde se aprecian rasgos degenerativos. Así, el geniculado lateral (2) ofrece rastros degenerativos; fibras de tapetum junto a núcleo caudado (6) ofrecen rastros degenerativos; la zona del haz calcarin-cuadrigeminal (9) ofrece también rastros degenerativos (fig. 17). Pero degeneración masiva, en chorro, puede apreciarse en la estría terminalis (11). Todas estas zonas degeneradas suponen haber sido heridas a nivel de la encrucijada ventricular, por donde precisamente pasan. En cuanto a la fimbria (8), debemos referirnos al fórnix que la continúa (fig. 18), cuyo aspecto degenerativo es menor en su parte media y mucho mayor en su parte lateral.

3.4. Bloque striatum

El bloque striatum, aunque incluido en la encrucijada, puede ser herido fácilmente, ya que el caudatum está en la misma superficie ventricular y, desde allí, puede haber propagación de la lesión interiormente. Tal fue nuestro caso 1, el cual ofrece una lesión a nivel del striatum que ofrece extraordinaria degeneración propagada hacia dentro, no sólo a la cápsula interna (fig. 19), sino más adentro aún, hasta la lámina reticular del tálamo. También se propaga hacia afuera: hacia la cápsula externa y hacia la cápsula extremo, con abundante degeneración.

Queda aquí pendiente, para el capítulo de discusión, las degeneraciones en la cápsula interna y externa, ya que las de la fimbria y el fórnix obedecen a una lesión hipocámpica. También queda pendiente de discusión la procedencia de las fibras que van al locus ceruleus, al rafe y al núcleo interpeduncular.

Consideraciones y discusión

Las lesiones estereotáxicas producidas en la encrucijada ventricular hemos visto que afectan en su mayor parte al hipocampo reflejo, y dentro de él sobre todo a la fimbria, que está muy accesible. Lo mismo ocurre al geniculado lateral, que está incrustado en la concavidad refleja del hipocampo (y es muy difícil esquivar en la estereotaxis, pues su separación del hipocampo es por una fina ranura correspondiente ala hendidura de la base). La cápsula interna y el estriopallidum no deben ser lesionados y si se afectan es por propagación de lesiones en el caudato reflejo que está en la superficie de esa zona de la encrucijada ventricular, y desde este caudatum progresa el trastorno a lo largo de espacios pseudo-linfáticos cefalorraquídeos en la profundidad del estriopallido a través de fibras de la cápsula interna.

Haciendo parangón con las lesiones en procesos clínicos, tendríamos ante todo las *hemorragias cerebrales*. (Pero no las capsulares, pues no son primitivas en la encrucijada, prefieren irrumpir en el ventrículo perforado la pred de su prolongación frontal.)

Los traumatismos que producen lesiones en la encrucijada suelen producir lesiones más importantes frontalmente a no ser que se tratase de heridas directas en los plexos coroideos y en el tentorio.

En cuanto a los tumores tentoriales, éstos se propagan secundariamente hacia la encrucijada, pues afectan antes al cerebelo y pedúnculos llevando a la descerebración (como se desprende del capítulo de antecedentes bibliográficos sobre encrucijada clínica en su apartado 8).

Todas nuestras observaciones de degeneración walleriana las hemos podido hacer en un período relativamente temprano a partir de la estereotaxis: unos a los siete días, otros a los ocho y otros a los diez, pudiendo advertir que a los siete días el aspecto es ya muy expresivo.

Después de los diez, al acontecer claras alteraciones mielínicas, se disgregan las degeneraciones axónicas, por cuyo motivo las impregnaciones denuncian peor la degeneración que con el clásico ácido ósmico. Esto no hace más que ratificar las observaciones de RAMÓN Y CAJAL (1913) sobre el mecanismo de degeneración y regeneración de las vías nerviosas y por lo tanto ratificar también el alcance de los procederes de MARCHI (1856), RASDOLSKY (1925), ESCOLAR (1948) y sobre todo con los de NAUTA (1950), que fueron nuestra base de trabajo.

Denunciamos degeneración walleriana en las vías piramidales homolaterales siguiendo un trazo en el gato, como experimentalmente habían obtenido ya otros autores (ESCOLAR y col., 1950, 1970). Dichos autores sistematizan la topografía del pie peduncular así como la capacidad, especificidad y especialidad de las fibras: esto es, si son exclusivamente heterolaterales, y por lo tanto de gran capacidad inteligente, como las que se refieren a los movimientos de la mano, pie y vocalización, o bien si son bilaterales y se refieren a movimientos menos inteligentes, como pueden ser los del equilibrio del tronco o los de postura de la raíz de las extremidades. Pues bien, a este propósito, la máxima degeneración walleriana en nuestro material es en la parte más medial del pie peduncular que corresponde a una cierta distribución de la cabeza y del cuello, pero no precisamente en lo más inteligente, sobre lo cual no hay ningún dato en contra en nuestro material (aun reconociendo que las observaciones clínicas del mismo no pudieron ser completas).

En nuestro material también hemos visto áreas reticulares troncoencefálicas, sobre todo con terminaciones degenerativas, y, a este propósito, hemos tenido en cuenta las observaciones de DOÑATE (1974), así como las de ESCOLAR (1972), a propósito de áreas reticulares troncoencefálicas en el gato.

En cuanto a la proyección walleriana desde el hipocampo hacia la formación reticular troncoencefálica, aunque sin especificarlo, encontramos ya referidos en algunos trabajos (NAUTA, 1956, 1958; POWELL, 1957; SIMSON, 1962; RAISMAN, 1966; etc.). Sobre esto, naturalmente, debe de tener el máximo valor para nosotros los hallazgos de nuestro material demostrando degeneración en las áreas reticulares, tras lesiones de la fimbria, que ofrecen además degeneración de paso a lo largo del tegmento y junto a los cuerpos mamilares; zonas de paso a las que aludió también BUENO (1974) en sus lesiones en la zona mamilar que le permitieron evocar el haz mamilotegmental de CAJAL.

En cuanto a la degeneración en los colículos superiores, así como a lo largo del haz calcarin-cuadrigeminal, pasando por el cuerpo geniculado lateral, es un fenómeno ya denunciado frecuentemente y sobre todo en aquellos autores que estudian desplazamientos encefálicos que producen descerebraciones como los tumores tegmentales que hieren esta zona geniculada (PIA, 1957) o bien por los autores que producen descerebraciones experimentales (ESCOLAR-CASTELLÓN, 1967).

Las lesiones estereotáxicas que se realizan en la encrucijada ventricular, y que afectan directamente a la estría terminalis y al tapetum, ambos adosados al caudatum reflejo, producen chorros

degenerativos dirigiéndose en buena parte al fórnix, a la zona yuxtamamilar y al tegmento. Aparte de ello, ratifica algunos conceptos de conexiones caudo-areocorticales ya sugeridos por otros autores (ESCOLAR, 1963).

Los centros vitales troncoencefálicos referidos a la respiración (PITTS, 1942; NGAI y col., 1957; MAGOUN, 1952), que tienen su significación en el mecanismo del sueño, así como la reacción de la fluorescencia (CAPERSSON y col., 1966; DAHLSTRÖM y col., 1964, 1966; etcétera), son aquellos de los que ESCOLAR y col. (1972, 1973) han descrito a nivel de mesencéfalo, su influencia en mecanismos circulatorios locales interalveolares, en el septum cardíaco, en el riego de la base cerebral, etc. Estos centros vitales, en el seno de la formación reticular, que adoptan aspecto plasmático-gelatinoso junto al epéndimo (RAMÓN Y CAJAL, 1904) son objeto de depósitos wallerianos en nuestro material; todo ello constituye un punto de partida para sucesivas investigaciones que estimamos muy importantes.

Conclusiones

1.º Las estereotaxis a nivel de la encrucijada ventricular siguen la dirección vertical de sus coordenadas clásicas afectan al hipocampo reflejo en su mayor parte, sobre todo a la fimbria, que es más accesible. El cuerpo geniculado lateral es lo más difícil de esquivar en la estereotaxis. Los procesos clínicos cerebrales que se transmiten a la encrucijada ventricular ofrecen la misma preferencia perturbadora que la estereotaxis a lo largo de los plexos coroideos. La cápsula interna y el estriopallidum, en cambio, reciben raramente propagación del trastorno ventricular y, cuando ocurre, es desde el caudatum reflejo por espacios pseudolinfáticos cefalorraquídeos hacia la profundidd.

2.º A partir de los 7 días, hasta los 10, de la estereotaxis se puede denunciar clara degeneración walleriana por el método de Nauta en vías descendentes largas, en áreas reticulares y en fascículos adyacentes a la encrucijada.

3.º Las vías piramidales resultan degeneradas si la lesión de la encrucijada se propaga en profundidad. Se nota, en un principio, degeneración unilateralizada con muchos gránulos a nivel de la decusación, y más abajo, a lo largo de la vía piramidal heterolateral. Por encima de la decusación se denuncian también zonas de paso heterolaterales degeneradas aberrantes no descritas. Se comprueban terminaciones degeneradas en el asta anterior de la médula. A nivel de los pedúnculos cerebrales es más densa la degeneración en la parte más medial del pie.

4.º La degeneración en áreas reticulares es abundante junto a las vías piramidales, sobre todo al entrar en el área de fibras pónicas. También existe en el área reticular lateral. Pueden obedecer a lesiones en la fimbria, que ofrece degeneración de paso a lo largo del tegmento y junto a los cuerpos mamilares.

5.º La degeneración en los colículos superiores, así como en las vías calcarín-cuadrigeminales, obedece a que dichas vías, a nivel de la encrucijada ventricular, son interrumpidas sobre todo cuando se lesiona casi inevitablemente el cuerpo geniculado externo por la estereotaxis.

6.º Existe preferentemente degeneración walleriana en: rafe mesencefálico, sustancia perforada interpeduncular y locus ceruleus, propaganda a través del tegmento y zona yuxtamamilar por lesiones en la fimbria.

7.º Las lesiones estereotáxicas directas en estría terminalis, tapetum, así como junto a caudatum reflejo, producen chorros degenerativos dirigiéndose en buena parte al fórnix, zona yuxtamamilar y tegmento.

8.º Es de notar, pues, en este trabajo, la relación del hipocampo con vías eferentes hacia zonas que influyen en funciones vitales de la formación reticular troncoencefálica que según algunas bibliografías tienen significado catecolamínico y serotoninico a la fluorescencia.

Resumen

Las principales conexiones desde el hipocampo caminan por la fimbria hacia el núcleo interpeduncular, rafe y locus ceruleus. Todo ello demostrado por degeneración walleriana con el método de Nauta.

Las degeneraciones a lo largo de la vía piramidal y zonas adyacentes puede relacionarse con una propagación de la estereotaxis en la encrucijada ventricular que por infiltración y contigüidad llega a la cápsula interna.

Summary

Using the method of Nauta were demonstrated the main connections from the hippocampus. These connections followed the fimbria to the nucleus interpeduncularis, n. rarii and locus coeruleus.

The observed degeneration along the pyramidal pathway and neighbouring ones can be related with one extension of the stereotaxic lesions in the ventricular crossway, that by means of infiltration and continuity reaches the capsulae interna.

Zusammenfassung

Mit der Silber impregnation nach Nauta wurden die Efferenzen des Hippocampus studiert. Die wichtigsten dieser Efferenzen gehen der Fimbria entlang bis zum N. Interpeduncularis, N. Rarii und locus coeruleus.

Die beobachtete Degeneration entlang der Piramidalbahnen und Nebengebieten kann man erklären durch die Infiltration der Capsula interna von der stereotaktischen Läsion der Kreuzung der Ventrikeln.

Résumé

Les conecions principales dès l'hyppocampe marchent par la fimbria vers les n. interpeduncularie, rafe et locus coeruleus. Tout ca nous l'avons démontré par la degeneration wallérienne avec la méthode de Nauta.

On peut relationer les dégénérationes par la vie pyramidal (et zones adjacentes) avec une propagation du lésion estereotaxique du carrefour du ventricule latéral, laquelle, par infiltration et continuité, arrive a la capsule interne.

BIBLIOGRAFÍA

- ADEY, W. R., and M. MEYER (1952): Hippocampal and hypothalamic connections of the temporal lobe in the monkey. «Brain», 75: 358-385.
- ARIENS KAPPERS, C. U. A., G. C. HUBERT y E. G. CROSBY (1936): The comparative Anatomy of the Nervous System of vertebrates including man. Macmillan, New York, vol. II, pp. 1100-1205.
- BARD, P., y V. B. MONNCASTLE (1948): Some forebrain mechanism involved in expression of Rage With Special Reference to supression of Angry Behaviour. «Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Disease», V, 27: 362.
- BERNSMEIER, A. (1967): Cuadros patológicos cerebrales de origen circulatorio (En: «Diagnóstico diferencial de las enfermedades neurológicas»). Ed. Paz Montalvo, cap. II, 244-255.
- BLACKSTAD, T. W. (1956): Commissural connections of the hippocampal region in the rat, with special reference to their mode of termination. «Comp. Neurol.», 105: 417-538.
- BODECHTEL, G. (1967): Diagnóstico diferencial de las enfermedades neurológicas. Ed. Paz Montalvo, Madrid, pp. 627-636.
- BÖHNE, C. (1932): Zur Pathogenese der kompakten apoplektischen kernblutung. «Dtsch. Med. Wschr.», 58, cap. 30: 1.201.
- BRODAL, A. (1947): The hippocampus and the sense of smell. «Brain», 70: 179-222.
- BUENO, J. L. (1974): Aportaciones al conocimiento del área mamilar (Con referencia especial al significado de los haces mamilofeferentes). «An. Anat.», 23, 60: 315-339.
- CAPERSSON, T., N. A. HILLARO, M. RITZE (1966): Fluorescency microspectro photometry of cellular catecholamines and 5-hydroxytryptamine. «Exp. Cell. Res.», 42: 415-428.
- CHUSID, J. G., y J. J. McDONALD (1972): Neuroanatomía correlativa y neurología funcional. «El manual moderno», 25: 330-333.
- CROSBY, E. C., y T. HUMPHREY (1939): Studies of the Vertebrate Telencephalon. «J. C. Neur.», vol. 71.
- DAHALSTROM, A., O. LARSSON, U. UNGERSTEDT (1964): Ascending catecholamine system from the lower brain stem. «Acta Physiol. Scand.», 62, 485-486.
- K. FUXE, N. A. HILLARP (1966b): Demonstration and mapping out of central DA, NA, and 5-HT neuron systems and their reaction to psychopharmacology. «Pharmacol. Rev.», 18, 727-741.

- DAITZ, H. M., and T. P. S. POWELL (1954): Studies of the connections of the fornix system. «J. Neurol. Neurosurg. & Psychiat.», 17: 75-82.
- DOÑATE, F. (1974): Aportaciones a la experimentación en el braquio-conjuntivo (Orientado a la fisiopatología del haz dentoespinal). «An. Anat.», 23, 60: 341-370.
- EAGER, R. P., and R. J. BARNETT (1966): Morphological and chemical studies of Nauta-Stained degenerating cerebellar and hypothalamic fibers. «J. Comp. Neurol.», 126: 487-510.
- ESCOLAR, J. (1948): The afferent connections of the first 2nd. and 3rd cervical nerves in the cat. «An Analysis by Marchi and Rasdolsky methods. «J. comp. Neurol.», 89; 79-87.
- (1950): Aportaciones al estudio de las vías piramidales y extrapiramidales, campos corticales de la proyección centrífuga en el gato por el método de Marchi y Rasdolsky. (Actualidad Médica). Granada.
- (1954): Aportaciones a la topometría cefálica comparada. «An. Anat.», 3: 171-187.
- (1955): Aportación a la estereotaxis hipotálamo-hipofisaria experimental. «An. Anat.», 4, 7: 171-182.
- (1962): Topografía encefálica considerada ontogénica y filogénicamente (Una aproximación de las bases topográficas en la estereotaxis encefálica y experimental). «An. Anat.», núm. 23: 213.
- (1963): Die Rekonstruktionsverfahren in der Biologie. «First International Congress for Stereology». Vien, 1.
- (1970): Die experimentelle Ataxia als ein anatomisches Hintergrund in der Bewegungsphysiopathologie. «Vers. Homburg. Verhand. Anat. Ges.», 213-222.
- , J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN, L. MARTÍNEZ-MILLÁN, J. R. VALDIZÁN, A. LOBO y J. L. LANCHO-ALONSO (1972): La formación reticular de la base cerebral relacionada con el mecanismo de excitación y repolarización cardíaca. «An. Anat.», 21, 53: 233-244.
- , — y J. R. VALDIZÁN (1973): Sobre la interrelación del substrato diencefalo-mesencefálico y la dinámica circulatoria. «An. Anat.», 22, 56: 229-245.
- , J. R. VALDIZÁN, J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN y L. SERÉS (1975): Niveles troncoencefálicos y terminaciones centrales del vago, relacionables con funciones respiratorias. «An. Anat.», 24, 61; 39-51.
- (1975): Die Zentrale Verbindung des Vagus Nerves in Beziehung zu Verschiedens Areal Niveaus. «Abst. Anat. Gell.». Düsseldorf.
- (1975): The Areas in N. C. related to respiratory and circulatory functions. «Abst. Int. Cong.». Tokyo.
- ESCOLAR-CASTELLÓN, J. L. (1967): Enclavamientos experimentales parcelarios del mesencefalo (Aportaciones al síndrome clínico humano de descerebración). «An. Anat.», 16, 39: 445-523.
- FERRES-TORRES, E. (1962): Aportaciones al conocimiento del allocortex amigdalino como substrato de función amortiguadora dentro de la dinámica cerebral (Estudio experimental en el gato). «An. Anat.», 24, 473-529.
- GUILLEY, R. W. (1956): Degeneration in the posterior commissural fornix and the mammillary peduncle of the rat. «J. Anat.», 90: 350-370.
- HERRICK, C. J. (1910): The morphology of the forebrain in Amphibia and Reptilia. «J. Comp. Neurol.», 20, 413.
- (1925): The optic tectum. «J. Comp. Neurol.», vol. 39, p. 433.
- (1933): The amphibian forebrain. «J. Comp. Neurol.», vol. 58, p. 481.

- HERTWIG, O. (1906): Handbuch der vergleichende experimentelle. «Entwicklungslehre der Wirbeltiere».
- HORSLEY, V., y R. H. CLARKE (1909): The Structure and Function of the Cerebellum by a new Method. «Brain», 31, 45-124.
- JHANNSSON, G. H., H. G. MELIN (1960): Spontaneous cerebral haemorrhage and encephalomalacia. «Acta Psychiat. scand.», 35, 457.
- KUHLENBECK, H. (1920): Die Grundbestandteile des Endhirns im Lichte des Banplaulehre. «An. Anz.», V, 67.
- LORENTE DE NÓ, R. (1933): Studies on the structure of cerebral cortex in the area entorhinalis. «J. Psychol. Neur.», 45, 221-283.
- (1949): Corteza cerebral, arquitectura. En «Fisiología del sistema nervioso», de J. Fulton.
- MAGOUN, H. W., y R. RHAINES (1952): An ascending activating system in brainstem. «Arch. Neurol.», 67.
- MARCHI I ALGHIERI (1856): Sulle degenerazioni discendenti-consecutive a lesioni dell'alt corteccia cerebrale. «Revista sperimentale di frenatria», XI.
- MATTHEWES, D. A., J. V. NADLER, G. S. LYNCH and C. W. COTMAN (1974): Development of cholinergic innervation in the hippocampal formation of the rat. I. Histochemical demonstration of acetylcholinesterase activity. «Dept. Psychobiol., Univ California, Irvin, California 92664 Develop», 36/1: 130-141.
- NAUTA, W. J. H. (1950): Über die sogenannte Degeneration in Zentralnervensystem und ihre Darstellung Silberimprägnation. «Arch. Neurol. Psychiat.», 66, 353-376.
- , P. A. GYGAX (1951): Silver impregnation of degenerating axons terminals in the Central Nervous System. (1) Technic. (2) Chemical notes. «Stain Technol.», 26, 5-11.
- , L. F. RYAN (1952): Silver impregnation of degenerating axons in the Central Nervous System. «Stain Technol.», 27, 175-179.
- , P. A. GYGAX (1954): Silver impregnation of degenerating axons in the Central Nervous System: A modified Technique. «Stain Technol.», 27, 91-93.
- (1966): An experimental Study the fornix in the rat. «J. comp. Neurol.», 104: 247-272.
- (1957): Silver impregnation of degenerating axons. «In: New Research Techniques of Neuroanatomy (W. F. WIGGLE, ed.), p. 17-26. Springfield, Illinois.
- (1958): Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. «Brain», 81: 319-340.
- , S. O. E. EBESSON (1970): Contemporary Research Methods in Neuroanatomy. Springer-Verlag, New York.
- NGAI, S. H., S. C. WANG (1957): Organization of Central Respiratory Mechanisms in the Brainstem of the Localisation by Stimulation and Destruction. «Amer. J. Physiol.», v. 190.
- PENFIELD, W., y T. C. ERIKSON (1941): Epilepsy and Cerebral Localization. Springfield. Thomas.
- PEDRO-PONS, A., y col. (1969): Tratado de patología y clínica médicas. Ed. Salvat. Tomo IV, 711-713, 3.ª edición.
- PETERS, G. (1974): Neuropatología clínica. «Ed. Toray. 19: 179-184.
- PIA, H. W. (1957): Die Schädigung des Hirnstammes bei den raumfordernenden Prozessen des Gehirns. «Acta Neurochirurgica», Suppl. IV. Wien/Springer.

- PITTS, R. F. (1942): The function of Component of the Respiratory Complex. «J. Neurophysiol.», 5, 403-413.
- POWELL, T. P. S., y col. (1957): A quantitative study of the fornix-mammillothalamic system. «J. Anat.», 91: 419-432.
- RAISMAN, G., W. M. COWAN y T. P. S. POWELL (1966): An experimental analysis of the hippocampus. «Brain», 88: 963-996.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1904): Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. N. Moya. Madrid.
- (1913): Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. N. Moya. Madrid.
- RASDOLSKY, I. W. (1925): Die Benutzung einer neue Methode der Färbung der Nervenfasern Kollateralen. «Virchows. Arch.».
- REINOSO-SUÁREZ, F., E. MARTÍNEZ MORENO y B. E. NAVA (1974): Conexiones ascendentes desde el tronco del encéfalo a formaciones del hipocampo. «An. Anat.», 23: 95-117.
- ROBBINS, S. L. (1967): Tratado de patología. «Interamericana», 3.ª ed., 1276-1281.
- ROSE, S. (1927): Der allocortex bei Fiere und Mensch. «Jour. J. Psychol. u. Neurol.», vol. 56.
- ROSE, S. (1927): Vergleichende Messungen im Allocortex bei Tier und Mensch. «Jour. J. Psych. u. Neur.», vol. 34.
- (1940): Zur Normales und Pathologischen Architektur der Ammonsformation. «Jour. J. Psychol. u. Neurol.», vol. 49.
- SARRAT, R. (1968): Veränderungen der Allocortex nach experimentellen Stoffwechselstörungen. «Anat. Anz.», 121, 883.
- SCHIED, W., y col. (1968): Tratado de Neurología. Ed. «Alhambra», 378.
- SIMSON, D. A. (1962): The afferent fibers of the hippocampus in the monkey. «J. Neur. Neurosurg. Psychiat.», 15: 79-92.
- TRUEX, R. C., M. B. CARPENTER, A. MOOVICH (1969): Neuroanatomía humana. Ed. «El Ateneo», 3: 50-51, 467.
- VALDIZÁN, J. R. (1973): Topografía diencefálica y mesencefálica en el gato por métodos estereotáxicos referidos a la calota. «An. Anat.», 22, 56: 405-415.
- VERA GIL, A. (1974): La autorradiografía con Zn⁶⁵ como complemento de la técnica de Timm para el estudio del Zn en el substrato neuroendocrino. «An. Anat.», 23, 141-147.

C. REBLET
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Zaragoza (España)

DOES ATHEROSCLEROSIS BEGIN IN FETAL LIFE?⁽¹⁾

By

H. SINZINGER⁽²⁾, Ch. DADAK, W. FEIGL⁽³⁾, Ch. LEITHNER⁽⁴⁾
and E. CEMPER

A) Introduction

VARIOUS lipids as well as kinds of lipid deposits (LD) in arteries can be regarded as premanifestations of atherosclerosis. Several intensive studies had been carried out to investigate the first occurrence of these lesions in human life. ANITSCHKOW (1933) observed and described deposits of fatty material in the great arteries in 10 year old children. Later investigations demonstrated LD in one year old infants, the percentage being rather high (SCHWARTZ et al., 1967). Fatty streaks were shown in three year old children (HOLMAN et al., 1958; MCGILL, 1968). Extensive investigations concerning these lesions in human fetal material have, however, never been done before our endeavours.

B) Material and Methods

Within 24 hours post delivery the aorta and its great branches in 50 fetuses (29 ♂, 21 ♀) aged 25-39 weeks were subjected to a combined superficial staining for the demonstrations of lipids (Sudan III) and calcareous substances (Kossa). We used our own modification (DADAK et al., 1976) of the method of HOLMAN et al. (1958), which was supported by WHO. According to extensive exa-

(1) To Prof. Dr. Johann H. Holzner in kind gratitude dedicated.

(2) 1st Department of Anatomy (Head: Prof. Dr. H. Ferner), Faculty of Medicine, University of Vienna, Austria.

(3) Department of Pathology (Head: Prof. Dr. J. H. Holzner), Faculty of Medicine, University of Vienna, Austria.

(4) 2nd Department of Internal Medicine (Head: Prof. Dr. G. Grabner), Faculty of Medicine, University of Vienna, Austria.

minations by MARTINAZZI et al. (1968) this staining is representative for the extent and intensity of LD. The causes of death and the ages of the fetuses are summarized in table 1 and 2. The vessels were examined under the dissecting magnifier. Following the results of the macroscopic examination, histochemical preparations were made. We used a computerized program for the evaluation of the morphological data, which were fixed by means of a grid system, and for the correlation of these data with 75 clinical and anamnestic variables (SINZINGER et al., in prep.).

C) Results

1. We found the smallest, point-like LD at the distal lips of the arterial origins, chiefly in the intercostal arteries and the celiac trunk. They occurred more frequently on the dorsal than on the

TABLE I
Different causes of death in the 50 examined fetuses

<i>Cause of death</i>	<i>NR.</i>
Non-cardiovascular malformations	19
Cardiovascular malformations	15
Hyaline membrane disease	9
Maternal trauma	4
Placental insufficiency	2
Unknown	1

ventral side, did not have a distinct border, but tended to merge together. These lesions were not visible without a lipid staining and could only be seen under dissecting magnifier. Each of the fetuses showed these kinds of LD in more than 75 % of the arterial origins. We could not find any significant differences dependent on site, age or sex.

2. Diffuse LD, also called fatty dots and fatty spots, were observed preponderantly in the aorta (table 3). We found them more dorsal than ventral in position. Much less frequently diffuse LD were present in the carotid, iliac and femoral arteries. Their border to the surrounding tissue was not distinct. At least one of these lesions occurred in each fetus. Point-like and diffuse LD consisted histologically of lipids within the endothelial cells and of extracellular lipids in the intima along the internal elastic membrane. Sometimes these changes extended into the media. In all

samples there was a close relationship between the results of the superficial staining and the histochemical results. The latter examination showed that LD were mainly composed of free and esterified cholesterol and to a less content of phospholipids.

3. Fatty streaks were found particularly in the aorta, namely in the thoracic parts in 9 cases (18 %) and in the abdominal parts in 10 cases (20 %) — see table 3. The frequency of fatty streaks was dorsal higher than ventral, similar to that of the LD.

The results of the examination of calcareous deposits will be reported elsewhere (SINZINGER et al., in prep.), because these lesions are not related to atherosclerosis (MEYER, 1968). Excepting age and cardiovascular malformations we did not find an significant

TABLE II
Figures indicating the numbers of fetuses in the different age groups

<i>Age (Weeks)</i>	<i>NR.</i>
37-39	24
33-36	21
29-32	3
25-28	2

correlation between the arterial lesions and the anamnestic data material. A difference between the fetuses of smoking and non-smoking mothers could not be observed in our material, though ASMUSSEN et al. (1975) reported on that difference in children.

D) Discussion

Our results show, that the occurrence of LD is a regular finding in fetuses. They are mainly localized in those areas, which are known as sites of predilection to rather early and marked atherosclerotic lesions (DUGUID, 1954). It is obvious, that LD are early potential atherosclerotic lesions, because they can progress to fatty streaks and finally to atherosclerotic plaques (STRONG and MCGILL, 1962). Any lesion is reversible up to the stage of the fatty streak (MCGILL et al., 1963). The irreversible, "critical step" (STRONG and MCGILL, 1969) is the change of a fatty streak to an atherosclerotic plaque (VELICAN, 1971). We can not agree with the opinion of DOERR (1972), who terms the changes as "banal lipoidosis" and presumes, that they are physiological impregnations rich in lipo-

proteins and esterified triglycerides. This is, however, rather unlikely, because the LD consist much more of cholesterol and cholesterol esters than of Phospholipids (ADAMS, 1967). Regarding the often discussed prevention of premanifestations of atherosclerosis it should be taken into account that these changes have not been

TABLE III

Final results of our examinations concerning the different lesions in 50 examined fetuses. Note that in each of the fetuses lipid deposits, which must be regarded as premanifestations of atherosclerosis, were found

Ventral				Dorsal		
LD	FD	FS		FS	FD	LD
			Aortic arch and Thoracic aorta			
27	46	3	+	47	6	50
23	4	47	—	3	44	—
—	—	—	o	—	—	—
			Abdominal aorta			
50	43	6	+	4	46	18
—	7	44	—	46	4	—
—	—	—	o	—	—	32
			Carotid arteries			
2	27	1	+	1	27	3
48	10	36	—	36	10	47
—	13	13	o	13	13	—
			Plevic arteries			
4	26	—	+	1	28	4
46	12	38	—	37	12	46
—	12	12	o	12	10	—
Number of cases				Number of cases		

LD=Lipid deposits

FD=Fatty dot (Diffuse LD)

FS=Fatty streak

+=Positive

—=Negative

o=Not evaluated

caused by various influences in the first months of life, but are true fetal lesions, capable of further development post partum. Despite the possible retrogression of the described premanifestations, we can assume that the seeds of atherosclerosis are sown in fetal life.

Resumen

Hemos examinado la aorta y sus grandes ramificaciones de 50 fetos por medio de una modificada y combinada coloración de la superficie empleando un programa analítico tanto para los datos morfológicos como para las 75 variables clínicas y anamnésticas. En todos los fetos se han podido demostrar depósitos de grasa en forma de puntos o difusos. Éstos han aparecido sobre todo en aquellas localizaciones en las cuales usualmente se hallan modificaciones arterioescleróticas durante la vida posterior. Los depósitos de grasa son potenciales lesiones tempranas arteroscleróticas, porque quizás continúan desarrollando en rayas de grasa y finalmente en placas arteroscleróticas. No se ha podido demostrar una diferencia de la frecuencia en fetos de madres fumadoras y en fetos de no fumadoras.

Summary

We examined the aorta and its great branches in 50 fetuses by a modified combined superficial staining using a computerized program for the evaluation of the morphological data as well as for the correlations with 75 clinical and anamnestic variables. In each case point-like or diffuse lipid deposits could be demonstrated. They occurred mainly in those localizations, where marked atherosclerotic changes are found in later life. These lipid deposits are potential early atherosclerotic lesions, because they can change into fatty streaks and finally into atherosclerotic plaques. A difference of the incidence in fetuses of smoking mothers as compared with non smoking ones, could not be observed.

Zusammenfassung

Wir untersuchten die Aorta und ihre großen Äste von 50 Feten mittels einer modifizierten Kombinations-Oberflächenfärbung unter Verwendung eines Auswertungsprogrammes sowohl für die morphologischen Daten als auch für die 75 klinischen und anamnestischen Variablen. Bei allen Feten konnten punktförmige oder diffuse Lipideinlagerungen nachgewiesen werden. Sie traten vorwiegend an jenen Lokalisationen auf, an denen im späteren Leben atherosklerotische Veränderungen üblicherweise gefunden werden. Die Lipideinlagerungen sind potentielle frühe atherosklerotische Läsionen, weil sie sich in Fettstreifen und zuletzt in atherosklerotische Plaques weiterentwickeln können. Ein Unterschied der Häufigkeit bei Feten rauchender und nicht rauchender Mütter ließ sich nicht nachweisen.

Résumé

Nous avons examiné l'aorte et ses grandes braches de 50 foetes par une combination modifiée de coloration du surfase en employant un programme d'exploitation non seulement pour les dates morphologiques mais aussi pour les 75 variables cliniques et anamnestiques. Auprès de tous les foetes on pouvait prouver des insérés lipides en forme de point on diffuses. Ils se manifestent surtout aux localisations on dans la vie future des changements atherosclerotiques se trouvent habituellement. Les insérés lipides

sont des lésions atherosclerotiques potentielles prématurées, car elles de graisse et finalement en plaques atherosclerotiques. Une difference de fréquence des foetes de mère fumeur ou non fumeur ne pouvait pas être prouvée.

REFERENCES

- ANITSCHKOW, N. N. (1933): In E. V. Cowdry: Arteriosclerosis. New York. McMillan.
- ADAMS, C. W. M. (1967): Vascular Histochemistry. London. Lloyd Luke.
- ASMUSSEN, I., K. KJELDSSEN (1975): Intimal ultrastructure of human umbilical arteries. Observations on arteries from newborn children of smoking and nonsmoking mothers. «Circulation Res.», 36, 579-589.
- DADAK, Ch., H. SINZINGER, W. FEIGL: Eine kombinierte Kalk-Fettfärbung mit Darstellung der Gefäßwandpermeabilität. «Acta anat.» (in press).
- DOERR, W. (1974): Organe des Kreislaufes. In: Handbuch der Pathologischen Anatomie. Berlin-Heidelberg-New York. Springer.
- DUGUID, J. B. (1954): Diet and coronary disease. «Lancet», i, 891-895.
- HOLMAN, R. L., H. C. MCGILL, J. P. STRONG, J. C. GEER (1958): The natural history of atherosclerosis. The early aortic lesions as seen in New Orleans in the middle of the 20th century. «Amer. J. Path.», 65, 66-81.
- , —, —, — (1958): Techniques for studying atherosclerotic lesions. «Lab. Invest.», 7, 42-45.
- MARTINAZZI, M., C. CAPELLA, L. CARNEVALI (1968): Early sudanophilic lesions in femoropopliteal and coronary arteries. A comparative macroscopic and histochemical study. «J. Atheroscler. Res.», 8, 657-666.
- MCGILL, H. C., J. C. GEER, J. P. STRONG (1963): Natural history of human atherosclerotic lesions. In: M.andler, G. Bourne: Atherosclerosis and its origin. New York-London. Academic Press.
- (1968): The geographic pathology of atherosclerosis. Baltimore. Williams and Wilkins.
- MEYER, W. W. (1968): Calcínose der «foetalen Strecke» der Beckenarterien im Kindesalter. «Beitr. path. Anat.», 138, 149-162.
- SCHWARTZ, C. J., N. G. ARDLIE, R. F. CARTER, J. C. PATERSON (1967): Gross aortic sudanophilia and hemosiderin deposition. A study on infants, children and young adults. «Arch. Path.», 83, 325-333.
- SINZINGER, H., P. POLTERAUER, W. FEIGL, Ch. DADAK, K. KRISCH: Localisation der Kalkeinlagerungen im kindlichen Gefäßsystem. In preparation.
- , H. REISINGER, L. REISINGER, W. FEIGL' Ch. DADAK: A quantitative method for comparing size and structure of arterial lesions. In preparation.
- STRONG, J. P., H. C. MCGILL (1962): The natural history of coronary atherosclerosis. «Amer. J. Path.», 40, 37-49.
- , — (1969): The pediatric aspects of atherosclerosis. «J. Atherosclerosis Res.», 9, 251-265.
- VELICAN, C. (1971): Preliminary data on some intimal changes preceding the onset of atherosclerotic lesions. «Rev. Roum. Med. Int.», 8, 103-109.

Dr. HELMUT SINZINGER
1st Department of Anatomy
University of Vienna
Währingerstraße 13
A-1090 Vienna, Austria

IMÁGENES ULTRAESTRUCTURALES DE UNA TELOFASE TARDÍA EN UNA CÉLULA TIROIDEA DE RATA ADULTA⁽¹⁾

POR

R. VÁZQUEZ⁽²⁾, P. AMAT⁽³⁾, L. MUÑOZ BARRAGÁN⁽⁴⁾
y J. L. LANCHO ALONSO⁽⁵⁾

Introducción

EL hallazgo de figuras mitóticas en las células foliculares tiroideas es un hecho frecuente durante el desarrollo embrionario, aunque su número decae paulatinamente en las etapas finales de la gestación (PALOMERO, 1970). De otra parte, las mitosis son un hecho casi esporádico en las células epiteliales foliculares de ratas adultas normales, mientras que la frecuencia aumenta en estados de hiperactivación experimental de la glándula tiroidea tal y como han demostrado KAISLINE y BUCHER (1973) en animales sometidos a bajas temperaturas. La acción estimulante del frío sobre la función tiroidea ha sido comprobada por STEVENS y col. (1955), KNIGGE (1960), VÁZQUEZ (1973) y VÁZQUEZ y LANCHO (1976), entre otros autores.

El objeto de este trabajo es la descripción ultraestructural de una figura mitótica, en período de telofase, observada en una célula folicular tiroidea pertenecientes a una rata adulta, sometida a frío moderado durante veinticuatro horas consecutivas.

Material y técnicas

Las imágenes estudiadas corresponden a una rata blanca adulta expuesta a frío moderado (4-6° C) durante veinticuatro horas. Bajo

(1) Trabajo realizado en el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca (Jefe: Prof. P. Amat).

(2) Prof. agregado de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(3) Catedrático de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(4) Prof. adjunto interino de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(5) Prof. adjunto interino de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

anestesia con pentobarbital sódico (35 mg/Kg) el animal fue perfundido con una solución de glutaraldehído al 5 % en tampón fosfato a pH 7.4. La glándula tiroidea fue extraída y seccionada en finos bloques de 2-3 mm de espesor, los cuales fueron tratados con una solución de tetraóxido de osmio al 1 % y contrastados en acetato de uranilo al 2 % disuelto en acetona al 70 %. Después de deshidratación en acetonas de graduación ascendente, los bloques se incluyeron en araldita.

Los cortes ultrafinos fueron obtenidos con un ultramicrotomo LKB, tratados con el método de Reynolds y estudiados en un microscopio electrónico Philips EM-201.

Descripción de las figuras y discusión

Observamos en la visión panorámica (fig. 1), varias células foliculares, que limitan la cavidad folicular (C).

Este folículo, y en conjunto, la glándula, se caracteriza por poseer células altas, con un núcleo basal (tipo 1 de la figura), propias de una fase de actividad celular.

Una de las células (2) de este folículo posee, próxima con la luz folicular, una zona densa (señalada con una flecha), que parece separar dos porciones citoplasmáticas (X y XX), las cuales, aparentemente, presentan características semejantes; se sitúa en esta zona una parte de la célula en la que ésta está estrechada.

Entre estas dos porciones celulares ya modo de cuña, se introduce otra célula (3), la cual presenta uniones desmosómicas con la célula anterior (flechas pequeñas).

Las características que apreciamos en la célula 2 son las siguientes:

1. *Banda de microtúbulos* (figs. 2 y 3). Situados hacia el polo apical debajo de la membrana celular y en su parte celular estrecha. En la figura 2 se observa cómo estos microtúbulos se disponen a modo de puente, uniendo dos porciones citoplasmáticas, que contienen numerosas vesículas.

En su trayecto se observa claramente la existencia de varias zonas: una central (a) que parece separar las dos porciones citoplasmáticas y que se caracteriza por ser muy densa.

A uno y otro lado de esta zona central, se encuentra una zona intermedia (b), de menor densidad que la anterior; es más amplia que la primera y contiene, junto a los microtúbulos, cuerpos densos pequeños y otras formaciones que semejan restos vesiculares.

En ambas porciones citoplasmáticas y lateralmente a la zona (b), se encuentra otra zona (c) mucho menos densa que las anteriores

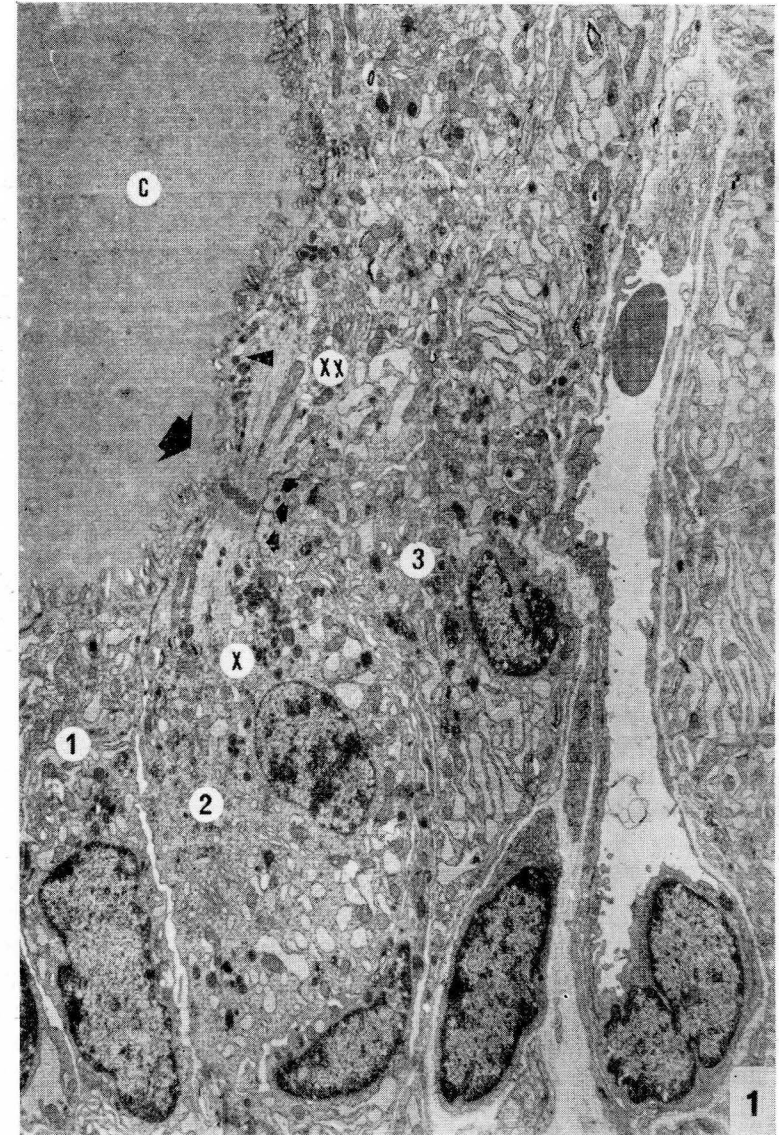


FIG. 1. — Pared de un folículo tiroideo donde se observa una célula folicular en mitosis. La flecha indica la situación de una zona densa constituido por microtúbulos que parece separar dos porciones citoplasmáticas. C=luz folicular. Aumentos del negativo: 975x.

y más amplia; en ella los microtúbulos son paralelos o discretamente divergentes y entre ellos se observan cuerpos densos y mitocondrias, las cuales están orientadas hacia la zona central (a), siguiendo el eje mayor de la banda de microtúbulos.

Los microtúbulos tienen un diámetro de 120 a 140 Å. Si en sus extremos parecen tener una disposición radiada, en las zonas (b) y (a) son prácticamente paralelos; la mayor densidad de estas zonas, sobre todo de la central, creemos que no es debida a que los microtúbulos estén más juntos debido al estrechamiento celular, y sí a que a esos niveles existe un espesamiento de sus paredes (figura 3).

Dos zonas con numerosas vesículas se observan, equidistantes de la zona densa, en los extremos de los microtúbulos (fig. 2). Se trata de formaciones vesiculares de pequeño tamaño con un contenido poco denso a los electrones; mezclándose con ellas hay mitocondrias redondas con crestas paralelas, algunas dilataciones de retículo endoplásmico rugoso, restos de formaciones tubulares y cuerpos densos no muy numerosos; en su vecindad se encuentra también el aparato de Golgi.

2. *Mitocondrias*. Son bastante numerosas, son alargadas y dirigidas hacia la zona densa a nivel de la zona de microtúbulos y redondas en el resto de la célula; su matriz no es densa y la orientación de sus crestas no es uniforme.

Algunas de las mitocondrias muestran signos de degeneración (fig. 2) y una de ellas presenta dos cuerpos unidos que puede tratarse bien de una mitocondria muy irregular o bien de una ramificación de la propia mitocondria.

3. *Los cuerpos densos* de aspecto lisosomal (figs. 4 y 6) se encuentran por todo el citoplasma, pero son muy abundantes a nivel supranuclear donde están concentrados (fig. 6), observándose en todos ellos su membrana de forma neta. Existen también en la región subapical y uno de ellos (figs. 1 y 4, señalado con una flecha) se está abriendo hacia una formación vesicular; otros, en esta misma región, son alargados y están dirigidos hacia la zona microtubular densa e incluso los hay más difusos y con membrana discontinua.

4. El núcleo se observa en una de las dos porciones citoplasmáticas, está en situación basal y su membrana está bien constituida. La cromatina muestra concentraciones en el interior del núcleo (fig 5) y su distribución es diferente a la del núcleo en interfase (compárense los núcleos en la fig. 1). En este último, la cromatina se distribuye por el centro del núcleo y presenta condensaciones junto a la membrana interna.

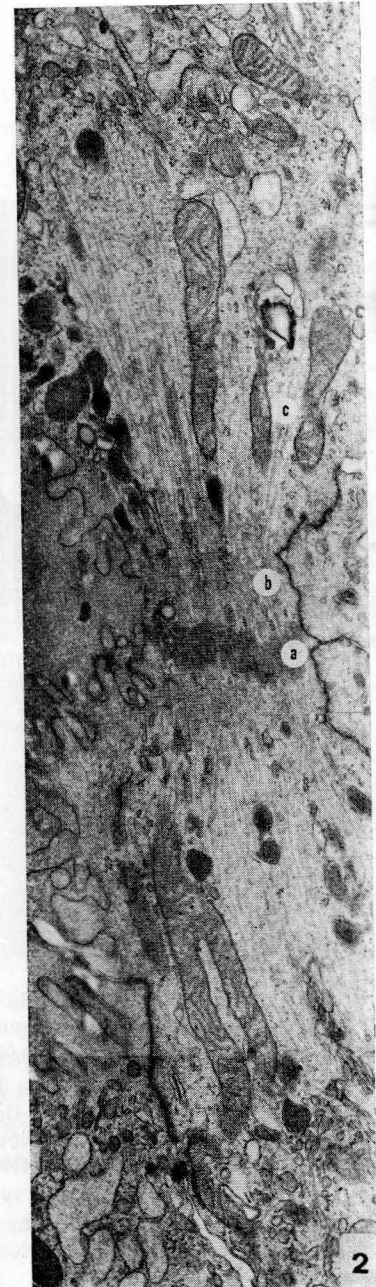


FIG. 2. — Banda de microtúbulos situados hacia la zona apical y que están uniendo, a modo de puente, dos porciones citoplasmáticas. Aumentos del negativo: 9.100×.

5. Lateralmente al núcleo aparece el *complejo de Golgi*; se observan varios apilamientos golgianos formados por cisternas dilatadas, estando muy próximos a la zona de vesículas relacionadas con los microtúbulos (figs. 1 y 5). Entre ellos existen numerosas microvesículas, cuerpos densos (uno en continuidad con una microvesícula, señalado con una flecha) y formaciones semejantes al

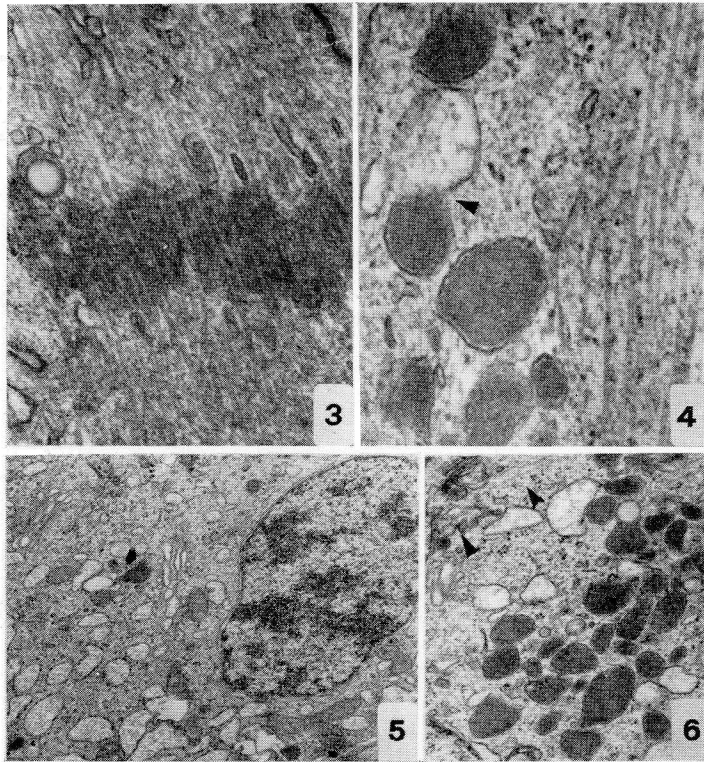


FIG. 3. — Zona más densa de la banda de microtúbulos. Ocupa el centro de dicha banda y se observa una mayor densidad de las paredes de los túbulos. Aumentos del negativo: 20.600×.

FIG. 4. — Cuerpos densos de aspecto lisosomal y microtúbulos. Los cuerpos densos son subapicales y uno de ellos (indicado con una flecha) está abriéndose en una formación vesicular. Los microtúbulos corresponden a la zona C. Aumentos del negativo: 20.600×.

FIG. 5. — Núcleo, aparato de Golgi y formaciones saculares del retículo endoplásmico rugoso de una de las porciones citoplasmáticas. La flecha indica la unión de una microvesícula con un cuerpo denso. Aumentos del negativo: 4.380×.

FIG. 6. — Acúmulo de cuerpos densos supranucleares. En la parte superior izquierda de la figura (señalado con flechas) se ve la zona vesicular donde terminan los microtúbulos. Aumentos del negativo: 9.100×.

retículo, algunas sin ribosomas y otras con un número escaso de ellos.

6. Por último, el *retículo endoplásmico rugoso* se dispone en forma sacular sobre todo localizado hacia el polo basal. Los ribosomas son escasos, siendo, por el contrario, más abundantes los ribosomas libres.

El proceso final de la mitosis es la separación de las dos células hijas, la cual se efectúa al producirse un surco de segmentación, perpendicular al eje mayor del huso, que se hace cada vez más pronunciado hasta la total escisión.

La causa de este surco, que determina a su vez un estrechamiento progresivo del citoplasma adyacente, no es totalmente conocida. En 1954, MARSLAND y LANDAU emitieron la teoría que lleva su nombre, según la cual la porción de citoplasma situada en el estrechamiento, tendría un estado de gel con poder contráctil y sería la causa del surco de segmentación; para otros autores sería la presencia de fuerzas de tensión superficial, debidas a cambios del citoplasma celular a nivel del surco, o bien, la formación de proteínas contráctiles, las causas del estrechamiento.

Durante la telofase y en la zona de estrechamiento, BUCK y TISDALE (1962) observan con el microscopio electrónico, en los eritroblastos de diversos mamíferos, que existe una placa densa de material fibrilar que constituye el llamado cuerpo intermedio.

HUMPHREYS (1964), en los huevos de *Mytilus edulis*, comprueba la presencia de vesículas, y SCHROEDER (1968), en huevos de *medusas*, y ARNOLD (1969) en huevos *telolecitos* observan filamentos, a veces asociados a vesículas, durante la división.

Un estudio ultraestructural del ciclo mitótico es realizado por ROBBINS y GONATAS (1964) en células HeLa y ven al final de la anafase cómo aparecen formaciones tubulares que darán lugar ya en la telofase, al cuerpo intermedio, apareciendo éste como una zona densa en la porción del estrechamiento celular.

BYERS y ABRAMSON (1968) demuestran también en células HeLa, que la separación celular se atrasa en relación con la propia telofase y durante este tiempo de retraso se observa, al microscopio electrónico, una banda de microtúbulos que a modo de puente unen las dos porciones celulares.

SZOLLOSI (1970), en huevos de *medusas*, describe una banda de filamentos (de 50 a 70 Å de diámetro), presentes en la zona estrecha; relaciona estos filamentos con cambios citoplasmáticos oca-

sionados en esta zona y que podrían estar en relación con la teoría de Marsland y Landau; TUCKER (1971) comprueba, en el ciliado *Nassula*, una banda de microfilamentos (de 40 a 100 Å), siendo para ellos la posible causante del estrechamiento. También GULYAS (1973) los describe en el huevo de conejo, durante la telofase.

La imagen expuesta presenta la zona de estrechamiento celular y en ella existe una banda de microtúbulos; a nivel de la zona más estrecha se observan modificaciones en la pared de los mismos, lo cual puede estar en relación con la formación del surco.

Por sus características, esta imagen corresponde al cuerpo intermedio de Flemming y es muy semejante a la descrita por ROBBINS y GONATAS (1964), la cual consideran como una telofase tardía. Se trata de una imagen en telofase tardía de una célula folicular de tiroides de rata adulta.

Resumen

Se describen las características ultraestructurales de una telofase tardía en una célula tiroidea de rata adulta expuesta a frío. Dentro de ellas cabe destacar la presencia de una banda de microtúbulos de 120 a 140 Å de diámetro en la que se pueden diferenciar tres zonas distintas según la mayor o menor densidad de los túbulos.

Summary

We have studied the ultrastructural characteristics of late period telophase, in one follicular thyroid cell of a rat exposed to low temperature (4° C during 24 hours). The most remarkable finding is the presence of one microtubule band, in which we can separate three different areas in relation with the greater or lesser density of the microtubules. The microtubule diameter is about 120 to 140 Å.

Zusammenfassung

Man beschreibt die ultrastrukturelle Charakteristiken einer verspäteten Telophase in einer Zelle der Schilddrüse einer erwachsenen Ratte, die mit Kälte behandelt wurde. In diesen Zellen, kann man die Anwesenheit eines Mikrotubulistreifens mit einem Durchmesser von 120 bis 140 Å hervorheben, in dem man drei verschiedene Zonen nach der grösseren oder geringeren Dichte der Tubuli unterscheiden kann.

Résumé

Dans le présent travail nous étudions les caractéristiques ultrastructurales d'une télophase retardée d'une cellule thyroïdienne de rat adulte exposé à froid modéré. Entre toutes les caractéristiques nous voulons signaler l'existence d'un ruban de microtuyaux de 120 a 140 Å de diamètre dans laquelle on peut distinguer trois zones différentes d'accord la plus o moins densité aux électrons des microtuyaux.

BIBLIOGRAFÍA

- ARNOLD, J. M. (1969): Cleavage furrow formation in a telocithal egg (*Loligo pealii*). I. Filaments in early furrow formation. «J. Cell. Biol.», **41**, 894-904.
- BUCK, R. C., y J. M. TISDALE (1962): An electron microscopic study of the development of the cleavage furrow in mammalian cells. «J. Cell. Biol.», **13**, 117-125.
- BYERS, B., y D. H. ABRAMSON (1968): Cytokinesis in HeLa: post telophase delay and microtubule associated motility. «Protoplasma» (Wien), **66**, 413-435.
- GULYAS, B. I. (1973): Cytokinesis in the rabbit zygote: fine structural study of the contrastile ring and the mid body. «Anat. Rec.», **177/2**, 195-208.
- HUMPHREYS, W. J. (1964): Electron microscope studies of the fertilized egg and the 2-cell stage of *Mytilus edulis*. «J. Ultrastruc. Res.», **10**, 224-262.
- KAISLING, B., y O. BUCHER (1973): Alterations of the mitotic index of C cells and follicular cells of the rat thyroid during the circadian rhythm and after exposure to cold. «Z. Zellforsch.», **146**, 417-423.
- KNIGGE, K. M. (1960): Neuroendocrine mechanisms influencing ACTH and TSH secretion and their role in cold acclimation. «Fed. Proc.», **19**, 45-51.
- MARSLAND, D., y J. V. LANDAU (1954): The mechanisms of cytokinesis: Temperature-pressure studies on the cortical gel system in various marine eggs. «J. Exp. Zool.», **125**, 507.
- PALOMERO, G. (1970): Efectos del frío y de la tiroidectomía parcial sobre la adenohipófisis. «An. Anat.», **20**, 519-525.
- ROBBINS, E., y N. K. GONATAS (1964): The ultrastructure of a mammalian cell during the mitotic cycle. «J. Cell. Biol.», **21**, 429-463.
- SCHROEDER, T. E. (1968): Cytokinesis: filaments in the cleavage furrow. «Ex. Cell. Res.», **53**, 272-276.
- STEVENS, C. E., S. D. D'ANGELO, K. E. PASCHKIS, A. CANTAROW y F. M. DERMAN (1955): The response of the pituitary thyroid system in the guinea pig to low environmental temperature. «Endocrinology», **56**, 143-156.
- SZOLLOSI, D. (1970): Cortical cytoplasmic filaments of cleaving eggs: a structural elements corresponding to the contrastile ring. «J. Cell. Biol.», **44**, 192-209.
- TUCKER, J. B. (1971): Microtubules and a contrastile ring of microfilaments associated with a cleavage furrow. «J. Cell. Sci.», **8**, 557-571.
- VÁZQUEZ, R. (1975): Estudio de las características morfológicas de la glándula tiroides producidas por el frío moderado. «Med. Astur.», **43**, 273-288.
- y J. L. LANCHO-ALONSO (1976): Cronología de los cambios ultraestructurales de la glándula tiroides después de una exposición a frío moderado. (En prensa).

R. VÁZQUEZ
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Salamanca (España)

NOTICIAS

72 REUNION DE LA SOCIEDAD ANATOMICA DE HABLA ALEMANA

Al final de la 71 Reunión de esta Sociedad, que tuvo lugar del 5 al 9 de abril de 1976 en Rostock-Warnemünde (DDR), se acordó celebrar la próxima reunión en Aquisgran en abril de 1977. Los temas a discutir en dicha reunión y demás características generales se ofrecerán en los próximos números de esta revista, cuando dispongamos de las circulares del Comité organizador.

NOTAS BIBLIOGRÁFICAS

CHROMOSOMES. H. G. SCHWARZACHER. Springer-Verlar. 1976.

Este tratado constituye un estudio de los cromosomas humanos, tanto en microscopía de luz como en microscopía electrónica. Sus capítulos más importantes se refieren a la nomenclatura y a la morfología general de los cromosomas, a la morfología de los cromosomas durante las fases mitóticas, cariotipo humano, diferencias estructurales dentro de los cromosomas, fina estructura de los mismos, estructura cromosómica durante la interfase del núcleo y heterocromatina. Finaliza considerando la posición de los cromosomas dentro de las células.

La impecable presentación y la actualidad de los temas que considera hacen que este libro tenga especial interés para aquellos que se dedican a las disciplinas biológicas básicas.

L. M. M.

INDEX

	<i>Page</i>
Modifications of the sleep-wakefulness cycle after lesions at the level of oral pontine tegmentum and cerebellum, by <i>Isabel de Andrés</i> ...	237
Ultrastructural study of the adenohypophysis in thyroidectomized cats, by <i>Bernal G. and Palomero</i>	267
Optic projections of the ventral lateral geniculate nucleus. An autoradiographic study, by <i>M. Boucherlier and L. Martínez-Millán</i>	277
Mesencephalic regions objetivated by wallerianism in relation with descerebration processes, by <i>J. L. Bueno and C. Reblet</i>	285
Participation of the hypophysary contact surface in metabolic mechanisms, by <i>J. Escolar, D. Gardeñes and M.^a A. Escolar-Castellón</i> .	293
Structural modifications of the squeletic system in experimental conditions, by <i>C. Gascón</i>	309
Morphologic modifications and cromosomic alterations due to the action of the adriamicin in fibroblasts of the shick embryo «in vitro» cultured, by <i>J. L. Lancho Alonso</i>	347
Contribution to the study of the development of the vagina and portio vaginalis of the uterus in relation to he development of regions of possible inducing function, by <i>M.^a F. Martínez-Casamayor</i> .	359
Organization of the thyroid gland in suprarrenalectomized guinea pigs, by <i>G. Palomero</i>	397
The cerebral ventricular cross-way experimentally altered and consequent wallerian degeneration pathways, by <i>C. Reblet</i>	407
Does atherosclerosis begin in fetal life?, by <i>H. Sinzinger, Ch. Dadak, W. Feigl, Ch. Leitliner and Eva Cemper</i>	437
Ultrastructural characteristics of late telophase in a thyroïd cell of and adult rat, by <i>R. Vázquez, P. Amat, L. Muñoz Barragán and J. L. Lancho Alonso</i>	443

ANALES DE ANATOMÍA es una revista trimestral que publica trabajos originales sobre morfología macro-, micro- y ultramicroscópica, abordados con diversas técnicas.

Se enviará original y copia, a doble espacio, a la Redacción: Cátedra de Anatomía "A", Departamento Anatómico, Facultad de Medicina, Plaza de Paraíso, 1, Zaragoza (España).

La primera hoja, con los nombres de los autores, cargo e Institución donde se ha realizado el trabajo. Se recomienda adaptarse al esquema: introducción, material y métodos, resultados y discusión. Debe adjuntarse un resumen en castellano, inglés, alemán y francés, con el título correspondiente en cada uno de los idiomas.

Tanto fotos como esquemas deben numerarse correlativamente según el orden de cita en el texto. Los pies de figuras irán en hoja aparte. Si el número de figuras se considerara excesivo, así como la reproducción de fotos a color, la Redacción comunicará al primer autor, con la debida antelación, el importe que debe abonar.

Las citas bibliográficas dentro del texto se harán nominales y con fecha: v.gr., ...demostrada por la experimentación eléctrica (Duchenne, 1967). La bibliografía al final en orden alfabético; v.gr., Nauta, W. J. H. (1958): Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. *Brain*, 81: 319-340; Ramón y Cajal, S. (1904): *Textura del Sistema Nervioso del hombre y los vertebrados*. Vol. 2, N. Moya. Madrid. Se hará constar la cantidad de separatas que se desea, si ésta fuera mayor de 25, que son enviadas gratis.

ANALES DE ANATOMÍA, *incluida en los Current Contents*, debe ser citada "An. Anat." El Consejo de Redacción se reserva el derecho de admitir los trabajos recibidos.

